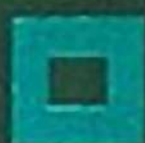


ВЫСШЕЕ ОБРАЗОВАНИЕ
СОВРЕМЕННЫЙ УЧЕБНИК



В.П. Комов
В.Н. Шведова



БИОХИМИЯ

ДРОФА

ВЫСШЕЕ ОБРАЗОВАНИЕ

СОВРЕМЕННЫЙ УЧЕБНИК



В. П. Комов
В. Н. Шведова



БИОХИМИЯ

Допущено Министерством образования
Российской Федерации
в качестве учебника для студентов
высших учебных заведений,
обучающихся по направлению
655500 Биотехнология

3-е издание, стереотипное



МОСКВА · 2008

<http://chemistry-chemists.com>

УДК 577.1(075.8)
ББК 28.072я73
К63

*Серия «Высшее образование: Современный учебник»
основана в 2001 году*

Рецензенты:

д-р биол. наук, проф. *В. Г. Винтер*
(Казанский государственный университет);
д-р мед. наук, проф. *С. С. Михайлов*
(Санкт-Петербургская академия физической культуры им. П. Ф. Лесгафта);
д-р техн. наук, проф. *И. М. Василинец*
(Санкт-Петербургский университет низкотемпературных и пищевых технологий)

Комов, В. П.

К63 Биохимия : учеб. для вузов / В. П. Комов, В. Н. Шведова. — 3-е изд., стереотип. — М. : Дрофа, 2008. — 638, [2] с. : ил. — (Высшее образование : Современный учебник).

ISBN 978-5-358-04872-0

В учебнике на современном научно-теоретическом уровне изложен материал по структурной и метаболической биохимии. Особое внимание уделено полифункциональности белков и их роли в обеспечении специфических биохимических процессов и физиологических функций организма, а также динамическим аспектам ферментативного катализа. Приведены новые данные о регуляции метаболизма и экспрессии генов, биохимии иммунитета, а также клеточной и генной инженерии.

Для проверки усвоения материала и самоконтроля представлены тесты.

Для студентов вузов, обучающихся по направлению 655500 Биотехнология. Может быть использован студентами, обучающимися по специальности «Фармация», а также по специальностям химического и биологического профиля.

УДК 577.1(075.8)
ББК 28.072я73

ISBN 978-5-358-04872-0

© ООО «Дрофа», 2004

Биологическая химия в последние годы развивалась очень быстрыми темпами, чему способствовало совершенствование идеологии познания живой материи, а также применение новых весьма эффективных приемов и методов. За этот период биохимия достигла больших успехов прежде всего в таких ее разделах, как молекулярная биология, биохимическая генетика, биоинженерия и др. Возникла необходимая в новом учебнике, отражающем достижения своего времени. Именно эту задачу призван решить настоящий учебник.

Многолетний опыт преподавания биологической химии для студентов биотехнологического и фармацевтического факультетов в Санкт-Петербургской государственной химико-фармацевтической академии дал авторам возможность в учебнике, предназначенном для биотехнологов, представить информацию, весьма полезную также для провизоров. Учитывая тот факт, что аминокислоты, белки, ферменты, витамины и гормоны являются целевыми продуктами биотехнологии, разделы, посвященные этим структурам, представлены достаточно подробно и по возможности профилированы по каждой из этих специальностей (главы 2—13). Авторы считали важным ознакомить студентов с такими прикладными аспектами молекулярной биологии, как биохимия иммунитета, клеточная и генетическая инженерия (главы 30—31). В ряд разделов введен материал, который подчеркивает практическое значение биохимии для будущей профессиональной деятельности.

Вместе с тем в учебнике отражена роль биологической химии и как фундаментальной науки. В связи с этим представлен значительный объем формульного материала по химизму метаболических процессов (главы 18—26), механизм регуляции метаболизма, основным принципам молекулярной биологии (главы 27—29).

Большое внимание уделено сбалансированности химического и медико-биологического материала.

Авторы отказались от экспериментов, связанных с различными вариантами последовательности изложения материала. Накопленный опыт преподавания биохимии в Санкт-Петербургской государственной химико-фармацевтической академии убеждает в том, что традиционный порядок изложения является оптимальным.

По материалам почти всех глав (кроме 1-й и 27-й) представлены тесты для проверки биохимических знаний. Они могут быть полезны для скрининговой оценки, а также для самоподготовки.

Главы 1—14, 28—32 написаны В. П. Комовым, главы 15—27 — В. Н. Шведовой.

Авторы будут благодарны за все критические замечания.

Авторы

Биологическая химия — наука о химическом строении и функциях веществ, входящих в состав живой материи, и их превращениях в процессах жизнедеятельности. Совокупность этих превращений в постоянной взаимосвязи с окружающей средой обеспечивает функционирование живых организмов в условиях сбалансированности процессов синтеза и распада веществ в клетках и тканях. Главной задачей биохимии является идентификация основных закономерностей биохимических процессов, выяснение взаимосвязи между структурой и функциями биомолекул, участвующих в реакциях клеточного метаболизма.

Биохимия изучает химию живой природы в широком диапазоне: от человека и позвоночных до бактерий и вирусов. В зависимости от объекта исследования можно условно выделить биохимию животных и человека, биохимию растений и биохимию микроорганизмов. Однако, несмотря на определенные, порой принципиальные различия в химическом составе и обмене веществ тех или иных видов живых организмов, существует *биохимическое единство* всех форм жизни, которое авторы стремились отразить в настоящем учебнике.

Выделяют ряд разделов биохимии и по объектам исследования, например, медицинская биохимия, фармацевтическая биохимия, биохимическая экология, биохимическая фармакология и др. Традиционно разделение биохимии на *структурную*, изучающую химическое строение биомолекул, *метаболическую*, изучающую обмен веществ и энергии, и *функциональную* биохимию, связанную с изучением взаимосвязи между химическими превращениями веществ в организме и их биологическими функциями. Это деление в значительной степени условно, однако при изложении материала в учебно-методической литературе весьма полезно и оправдано.

Фундаментальная биохимия является основой для многих наук биологического профиля, таких, как генетика, физиология, иммунология, микробиология. Успехи клеточной и генной инженерии в последние годы в значительной мере сблизили биохимию с зоологией и ботаникой. Велико значение биохимии для таких наук, как фармакология и фармация.

Краткий исторический очерк. Как самостоятельная наука биохимия сформировалась на рубеже XIX—XX вв. До середины XIX в. биохимия существовала как раздел физиологии и называлась *физиологическая химия*. Однако накопление фактического материала в области строения биологических структур, а также идентификация простейших метаболических процессов сыграли значительную роль в становлении биохимии как самостоятельной науки.

Бурное развитие органической химии в первой трети XIX в. оказало огромное влияние на формирование структурной биохимии. Точкой отсчета можно считать 1828 г., когда Ф. Вёлер сообщил о первом синтезе органического вещества — мочевины из аммиака и циановой кислоты. Спустя семьдесят

лет Э. Бухнер показал, что экстракты дрожжевых клеток переваривают крахмал так же эффективно, как и живые дрожжевые клетки. Обе эти работы нанесли существенный удар по витализму — учению, согласно которому химические вещества живой природы синтезируются только с помощью особой жизненной силы, и дали мощный импульс дальнейшему развитию биохимии. Так, в 50-х гг. XIX в. М. Бертло удалось синтезировать целый ряд органических соединений, свойственных живой природе. М. Шеврель заложил основы химии липидов, а Ф. Мишер открыл нуклеиновые кислоты, положив начало изучению этого класса веществ. Однако наибольший вклад в развитие структурной биохимии внес Э. Фишер своими блестящими работами по анализу аминокислот, углеводов и липидов.

Исследование процессов метаболизма также началось на рубеже XIX в. На основе открытого М. В. Ломоносовым закона сохранения материи и накопившихся к концу XVIII в. экспериментальных данных французский ученый А. Лавуазье количественно исследовал и объяснил сущность дыхания, отметив роль кислорода в этом процессе. Работы Лавуазье стимулировали исследования по энергетике метаболизма и уже в начале XIX в. были определены количества теплоты при сгорании 1 г жиров, белков и углеводов. Примерно в это же время работами Дж. Пристли и Я. Ингенхуза был открыт процесс фотосинтеза. Из живых объектов К. Шееле выделил ряд органических кислот, Д. Руэлль — мочевину, Ф. Конради — холестерин.

В XX в. большое число открытий привело к подлинному расцвету биохимии. Фундаментальные исследования в области энзимологии, химии белков, липидов, углеводов, идентификация молекулярных механизмов основных обменных процессов, а также структуры и функций генома вывели биохимию на уровень основной количественной биологической науки. Велика роль российских ученых в становлении и развитии биохимии. Приоритетные исследования — белков и аминокислот (А. Я. Данилевский, С. С. Салазкин, М. В. Ненцкий и др.); витаминов (Н. И. Лунин, К. А. Сосин, В. В. Пашутин); тканевого дыхания (А. Н. Бах, В. И. Палладин); трансаминирования аминокислот (А. Е. Браунштейн); механизмов механохимического сопряжения (В. А. Энгельгардт); химии нуклеиновых кислот и механизмов биосинтеза белка (А. Н. Белозерский, А. С. Спирин); биоэнергетики (В. П. Скулачев); структуры и функций генома (Г. П. Георгиев) и работы других российских ученых внесли огромный вклад в современную биохимию.

Успехи современной биохимии. Биологическая химия изучает различные структуры, свойственные живым организмам, и химические реакции, протекающие на клеточном и организменном уровнях. Основой жизни является совокупность химических реакций, обеспечивающих обмен веществ. Таким образом, биохимию можно считать основным языком всех биологических наук. В настоящее время как биологические структуры, так и обменные процессы, благодаря применению эффективных методов, изучены достаточно хорошо. Многие разделы биохимии в последние годы развивались столь интенсивно, что выросли в самостоятельные научные направления и дисциплины. Прежде всего можно отметить биотехнологию, генную инженерию, биохимическую генетику, экологическую биохимию, квантовую и космическую биохимию и т. д. Велика роль биохимии в понимании сути патологических процессов и молекулярных механизмов действия лекарственных веществ.

Глава 1

УРОВНИ ОРГАНИЗАЦИИ ЖИВОЙ МАТЕРИИ. КЛЕТОЧНЫЙ СИНТЕЗ

1.1. Молекулярные аспекты

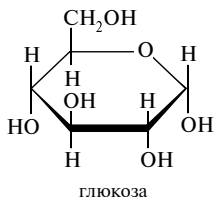
Каждая клетка состоит из огромного числа атомов и молекул. Попробуем разобраться, насколько они универсальны и какие функции выполняют в клетках? Оказалось, что из периодической системы элементов всего лишь шесть биоэлементов используются для построения подавляющего числа биологически значимых молекул: углерод С, кислород О, водород Н, сера S, азот N и фосфор Р. Еще 16 микроэлементов присутствуют в клетках в различных количествах и соотношениях. К ним относятся: железо Fe, медь Cu, цинк Zn, марганец Mn, кобальт Co, иод I, молибден Mo, ванадий V, никель Ni, хром Cr, фтор F, селен Se, кремний Si, олово Sn, бор B, мышьяк As и пять ионов: натрий Na^+ , калий K^+ , магний Mg^{2+} , кальций Ca^{2+} , хлор Cl^- . Каков бы ни был принцип отбора атомов для процессов жизнедеятельности, он не связан с их распространенностью в природе. Например, из галогенов только хлор и иод выбраны природой, хотя фтор и бром обладают не меньшей доступностью. По-видимому, в основу отбора положен *принцип пригодности и целесообразности*. Например, шесть основных биоэлементов имеют набор свойств, достаточный для построения почти всех необходимых для клетки молекул.

Из шести основных биоэлементов наибольшее значение имеет углерод. Основные структуры живой материи состоят из углеродных каркасов. Характерной особенностью атома углерода является способность образовывать углеродные цепи любого размера и конфигурации. Три из четырех валентностей углерода могут участвовать в образовании трехмерного скелета, а четвертая — связывать ту или иную функциональную группу. Вещества, образованные на основе углерода, называют *органическими* соединениями. У них есть ряд общих свойств, имеющих большое значение для живой материи. Органические соединения могут иметь огромное число углеродных цепей и функциональных групп, причем отдельные части молекулы способны вращаться вокруг одинарных углеродных связей. Они способны также образовывать трехмерную структуру, играющую первостепенную роль в процессах жизнедеятельности. Число молекул определенного типа в клетке может варьировать в широких пределах. Так, например, информационные макромолекулы представлены в клетках в небольших количествах, в то время как структурообразующие, а также участвую-

щие в энергетическом обмене молекулы исчисляются многими миллиардами. Молекулы в клетках условно можно разделить на две группы: малые органические молекулы с молекулярной массой до 1 kDa (килодальтон) и макромолекулы, молекулярная масса которых варьирует от 1 до 10^3 и более kDa.

Малые органические молекулы. Их условно можно разделить на четыре группы: сахара, жирные кислоты, аминокислоты и нуклеотиды.

Сахара имеют общую формулу $C(H_2O)_n$, где n — целое число (от 3 до 7), например глюкоза



Все сахара содержат гидроксильные, а также либо альдегидные, либо кетонные группировки. Взаимодействуя друг с другом, моносахара могут образовывать ди-, три- или олигосахариды. Сахара являются главным энергетическим субстратом клеток. Кроме того, они образуют связи с белками и липидами, а также являются строительными блоками при образовании более сложных биологических структур. Основными реакционноспособными группировками сахаров являются гидроксильные группы, участвующие, в частности, в образовании связей между мономерами.

Жирные кислоты содержат в своем составе углеродную цепь и гидрофильные карбоксильные группы, образующие амиды и эфиры. Как и углеводы, жирные кислоты являются источником энергии для организма. Но главное их значение связано с участием в образовании клеточных мембран. Свободные жирные кислоты обнаружены на границе раздела фаз липид—вода. Однако в организме чаще всего они этерифицированы или соединены с другими липидными структурами. В организме животных в наибольших количествах находятся пальмитиновая, олеиновая и стеариновая жирные кислоты. В растениях, кроме перечисленных, в больших количествах обнаружена также линолевая кислота.

Аминокислоты, находящиеся в биологических тканях, в основном используются для построения белковых макромолекул. Несмотря на различия в химическом строении, они содержат аминную и карбоксильную группы, соединенные с асимметричным атомом углерода. При помощи пептидных связей (гл. 2) они образуют длинные полипептидные цепи.

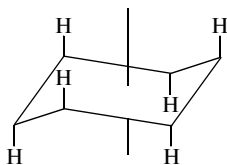
Нуклеотиды — трехкомпонентные структуры, состоящие из азотистых оснований, углевода и остатка фосфорной кислоты. Азотистые основания, в свою очередь, делятся на пуриновые и пиримидиновые, а сахар (пентоза) — на рибозу и дезоксирибозу. Нуклеотиды являются составными частями высокополимерных нуклеиновых кислот — носителей генетической информации в клетках.

Для определения роли той или иной молекулы в процессах жизнедеятельности необходимо знать все особенности ее строения. Устойчивость молекул обусловлена ковалентными связями между атомами, ее образующими. Биоло-

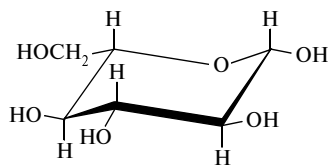
гическая значимость молекул определяется, в частности, их оптической активностью; это относится к молекулам, имеющим хиральные центры. Например, у аминокислот, образующих белки, к одному из атомов углерода присоединены четыре различные группы. В результате у аминокислот появляется такое свойство, как оптическая активность, выполняющая важную функциональную роль. Помимо оптической активности, весьма существенным является способность молекул принимать термодинамически наиболее выгодную конформацию. Химические свойства молекул зависят от того, является ли она плоской или имеет иную, например изогнутую, форму.

Из огромного числа органических соединений природа выбрала лишь некоторые молекулы для участия в процессах жизнедеятельности. Случаен ли этот выбор или он продиктован необходимостью, целесообразностью? Рассмотрим этот вопрос на конкретных примерах, на которые Д. Грин обратил внимание еще в 1968 г.

В качестве основного энергетического субстрата клетка использует D-глюкозу. Почему именно ее, а не другое вещество? По-видимому, существенное значение имеет тот факт, что в глюкозе заключено большое количество энергии, она легко окисляется и хорошо растворяется в воде. Далее, шестиуглеродный моносахарид более стабилен, чем подобные молекулы с меньшим числом углеродных атомов и более реакционноспособен по сравнению с моносахаридами с большим числом углеродных атомов. Сравним D-глюкозу с близким по строению органическим веществом циклогексаном, также содержащим шестичленное углеродное кольцо.



трехмерная структура циклогексана



трехмерная структура D-глюкозы

Для циклогексана характерны как аксиальные, так и экваториальные атомы водорода, причем последние более выгодны. В глюкозе все атомы занимают экваториальное положение, что делает ее уникальной структурой, гораздо более стабильной по сравнению с родственными молекулами. По содержанию энергии жирные кислоты превосходят глюкозу в несколько раз, однако глюкоза, в отличие от жирных кислот, хорошо растворима в воде, легко доступна, и в этом ее неоценимое преимущество.

❗ Таким образом, выбор глюкозы в качестве основного энергетического субстрата однозначно целесообразен.

При синтезе жирных кислот используется активированная уксусная кислота. Почему природа в качестве предшественника выбрала не одно- и не трех-, а именно двухуглеродную молекулу? Муравьиная кислота — одноуглеродное соединение — не годится из-за отсутствия концевой метильной группы, крайне необходимой для метаболизма жирных кислот. Трехуглеродные кислоты не обладают достаточной химической активностью для процессов конденсации. Двухуглеродные соединения — уксусная кислота CH_3COOH , этиловый спирт $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ и уксусный альдегид CH_3CHO — могут претендо-

вать на роль исходных веществ при синтезе жирных кислот. Однако спирт не обладает необходимой химической активностью, а альдегид хотя и активен, но не стабилен.

❗ Таким образом, выбор уксусной кислоты был целесообразным именно по критерию химических свойств.

Ни одно вещество не может конкурировать с ней для построения крупных молекул путем конденсации. Выбор единственного, из многих подобных, вещества по критерию химических свойств для использования в биологических системах мы называем *молекулярной целесообразностью* живой материи.

Макромолекулы. Они имеют различную форму и строение, являясь неотъемлемой частью клеток, синтезируются из атомов и небольших молекул и играют основополагающую роль в процессах жизнедеятельности. Рассмотрим некоторые макромолекулы, которые определяют функции и метаболизм всех живых систем.

Нуклеиновые кислоты — информационные макромолекулы, состоящие из моноклеотидов. В клетках содержится дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) и рибонуклеиновые кислоты (РНК). ДНК — самая большая макромолекула в живых системах. Она состоит из многих тысяч пар нуклеотидов, соединенных друг с другом в определенной последовательности. Молекулы РНК по размеру много меньше, чем ДНК, однако их общее количество превышает ДНК. Для нуклеиновых кислот несвойственно многообразие функций, зато хранение и передача генетической информации является основой размножения и функционирования клеток.

Белки, напротив, обладают множеством функций. Они состоят из аминокислот, соединенных в генетически детерминированной последовательности, которая и определяет как структуру, так и функции данных макромолекул. Таким образом, белки являются тем инструментом, при помощи которого геном управляет всеми реакциями клеточного метаболизма.

Полисахариды — высокомолекулярные вещества, состоящие из повторяющихся структурных единиц. Отличаются друг от друга структурой моносакхаридных звеньев, молекулярной массой, а также числом гликозидных связей. Благодаря наличию большого числа полярных групп, полисахариды после набухания растворяются в воде и образуют коллоидные растворы. Они присутствуют почти во всех клетках и выполняют многообразные функции. Велика их роль в образовании биологических структур. Так, хитин образует панцири членистоногих, целлюлоза является основной структурой зеленых растений, мукополисахариды — важнейшие компоненты соединительной ткани. Гликоген в животных, а крахмал в растительных организмах являются важнейшими резервными полисахаридами. Их делят на гомо- и гетерополисахариды. Примером гомополисахаридов может служить крахмал, состоящий из остатков только одного типа (глюкозы), а примером гетерополисахаридов — гиалуроновая кислота, которая состоит из остатков глюконовой кислоты, чередующихся с *N*-ацетилглюкозамином.

Липиды — сложные эфиры высших жирных кислот и глицерина. В состав некоторых из них входят фосфорная кислота, азотистые основания или углеводы. Они играют существенную роль в качестве структурных компонентов клетки, а также как энергетические субстраты. Физико-химические свойства липидов за-

висят от их полярности. Различают полярные и нейтральные липиды. Последние состоят из триацилглицеридов и входят в класс простых липидов. Полярные липиды — многокомпонентные вещества и относятся к сложным липидам.

Можно без преувеличения говорить о центральной роли воды в процессах эволюции и жизнедеятельности. Свыше 90% всей массы клеток приходится на долю воды. Однако ее значимость не только в количественных характеристиках. В воде растворены многие биологические вещества, и, будучи растворителем, вода определяет их свойства, например реакционную способность. В условиях Земли нет такого вещества, физические свойства которого были бы так идеально приспособлены для нужд живых систем, как вода. Для молекул воды характерно сильное взаимное притяжение, обусловленное особенностями их строения (рис. 1.1).

Если молекулы или макромолекулы содержат заряженные группировки, то диполи воды образуют вокруг них гидратные оболочки. Такая вода называется связанной. Слой воды вокруг белка может достигать 1,5—2,0 нм, что существенно влияет на строение и свойства последнего. Таким образом, вода в организме присутствует в свободной и связанной формах. Большой интерес представляет структура воды при переходе в твердое состояние. В кристалле льда молекулы воды образуют гексагональную структуру. Предполагается, что именно льдообразная вода (рис. 1.2) поддерживает третичную структуру ряда макромолекул. Часть связанной воды локализована внутри надмолекулярных структур и также участвует в стабилизации конформации макромолекул.

Вода является идеальным растворителем для биологических структур по сравнению с другими жидкостями. Такие вещества, как моно- и полисахариды, спирты, альдегиды и кетоны, прекрасно растворяются в воде, но практически нерастворимы в органических растворителях. Это обусловлено высокой диэлектрической проницаемостью воды, состоящей из ассоциированных друг с другом диполей. Диэлектрическая постоянная для воды равна 80, а для органических растворителей — в 3—4 раза меньше. Это означает, что силы взаимодействия в веществах, растворенных в воде, во столько же раз меньше, чем в органических растворителях.

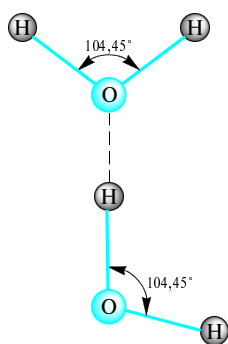


Рис. 1.1. Пространственная структура молекул воды: две молекулы воды соединены друг с другом при помощи водородной связи

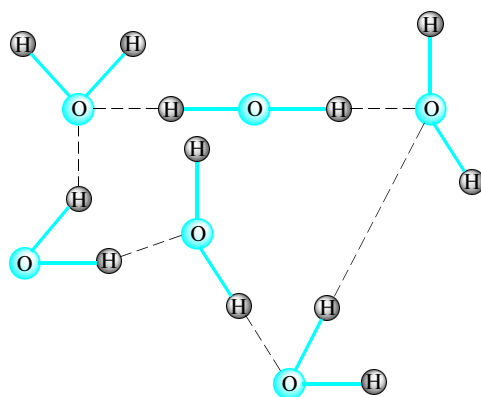


Рис. 1.2. Молекулы воды в кристалле льда: шесть молекул воды образуют гексагональную структуру

Биологическая роль воды не ограничивается растворением тех или иных структур. Вода в клетках и тканях выполняет также транспортную функцию, участвует в образовании высших структур биологических макромолекул, является донором электронов и протонов в энергетическом обмене. Клеточный метаболизм зависит от баланса свободной и связанной воды. Нарушение этого соотношения приводит к тяжелым последствиям, вплоть до гибели клетки.

1.2. Клетка — мельчайшая структурная единица живой материи

Все известные живые организмы состоят из клеток и продуктов их метаболизма. Это в 1838 г. впервые доказали М. Шлейден и Т. Шванн, которые постулировали, что растительные и животные организмы построены из клеток, расположенных в определенном порядке. Спустя 20 лет Р. Вирхов буквально в нескольких словах сформулировал основы клеточной теории, указав, что все живые клетки возникают из предшествующих живых клеток. В дальнейшем клеточная теория развивалась и дополнялась по мере совершенствования методов познания. Каждая клетка является обособленной функциональной единицей, имеющей ряд специфических особенностей, в зависимости от ее природы. Микроорганизмы представлены отдельными клетками или их колониями, а многоклеточные организмы, например животные или высшие растения, состоят из миллиардов клеток, соединенных друг с другом. Клетка представляет собой своеобразную фабрику, на которой осуществляются многообразные и согласованные химические процессы. Как и на реальной фабрике, в клетке имеется центр управления, участки контроля за теми или иными реакциями, регуляторные механизмы. В клетку также поступает сырье, которое перерабатывается в готовую продукцию, и отходы, которые выбрасываются из клетки.

1.2.1. Классы клеток

Существует два больших класса клеток, отличающихся по строению и функциям. Наиболее древними и простыми по строению являются прокариотические клетки. Основные свойства, характерные для прокариот, можно рассмотреть на примере бактерий. Это одни из наиболее простых по строению клеток, отличающиеся малыми размерами и примитивным строением. Они не имеют ядра, и их генетический материал не защищен дополнительной внутриклеточной мембраной. Как правило, бактерии получают необходимую энергию из окружающей среды, причем глюкоза является основным ее источником. Разновидностью бактерий являются синезеленые водоросли, или цианобактерии, имеющие фотосистему, подобную растительным клеткам. Цианобактерии способны фиксировать азот, углекислый газ и выделять кислород. Таким образом, их нормальная жизнедеятельность может протекать при наличии только воды и воздуха.

Одной из наиболее изученных прокариотических клеток является кишечная палочка *Escherichia coli* (*E. coli*), обитающая в желудочно-кишечном тракте многих животных и человека (рис. 1.3).

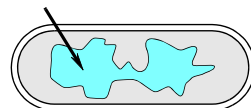


Рис. 1.3. Электронная микрофотография клетки *E. coli*: стрелкой показано расположение нуклеоида, в котором заключена хромосома

Как и все прокариоты, *E. coli* имеет клеточную стенку, к которой с внутренней стороны примыкает клеточная мембрана. Кроме большой двухцепочечной ДНК, локализованной в нуклеоиде, *E. coli*, подобно другим прокариотам, содержит несколько мелких кольцевых ДНК, которые называются плазмидами. Бактерии способны передвигаться в водной среде при помощи мембранных структур, называемых жгутиками. Важнейшая роль цитоплазматической мембраны заключается в избирательном транспорте питательных веществ в клетку и продуктов метаболизма из клетки. В цитоплазме *E. coli* локализованы рибосомы, секреторные гранулы, а также запасники питательных веществ — жиров или углеводов. Для прокариотических клеток характерно образование нитевидных ассоциатов, которые в определенных условиях могут диссоциировать на отдельные клетки.

Эукариотические клетки содержат ядро, цитоплазму, внутриклеточные органеллы, а также цитоскелет. По размеру они во много раз превышают клетки прокариот. В частности, диаметр средней эукариотической клетки превышает таковой у прокариот в 10—15 раз. Еще в большей степени отличается объем клеток. У эукариот он может быть на три-четыре порядка больше, чем у прокариот. Отличительной особенностью эукариотических клеток является также наличие различных по строению и выполняемым функциям внутриклеточных органелл (рис. 1.4).

Ядро является самой большой внутриклеточной органеллой и, несомненно, самой значимой, так как в ней локализован генетический материал клетки. Ядро ограничено двухслойной мембраной, пронизанной большим числом ядерных пор, которые совместно с ядерными рецепторами являются основным инструментом ядерно-цитоплазматических взаимоотношений. В ядре имеется сферическое образование, так называемое ядрышко. Форма его лабильна и может изменяться в процессе функционирования клетки. В некоторых клетках локализовано два и более ядрышек. Этот локус ядра является хранилищем РНК, которая затем транспортируется в цитоплазму. Остальную часть ядра занимает хроматин, состоящий из ДНК, белка и небольшого количества РНК. В ядре локализовано более 90% всей клеточной ДНК, образующей комплекс с ядерными белками.

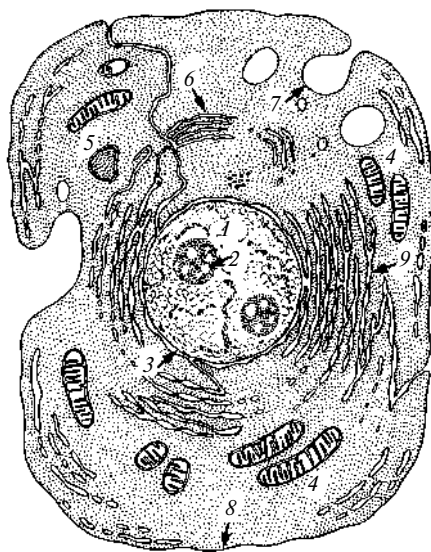


Рис. 1.4. Эукариотическая клетка:
1 — ядро; 2 — ядрышко; 3 — ядерная мембрана; 4 — митохондрии; 5 — лизосомы;
6 — аппарат Гольджи; 7 — пиноцитозный пузырек; 8 — клеточная мембрана;
9 — эндоплазматический ретикулум

Митохондрии входят в состав всех эукариотических клеток. Число митохондрий, их форма и размеры зависят от типа и метаболического статуса клеток. Как правило, эти органеллы по размерам сопоставимы с прокариотическими клетками, что наряду с другими фактами послужило основанием для следующего предположения: митохондрии являются

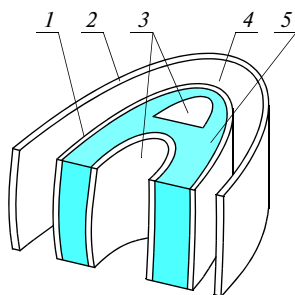


Рис. 1.5. Строение митохондрий:
1 — внутренняя мембрана; 2 — внешняя мембрана; 3 — кристы; 4 — содержимое межмембранного пространства; 5 — матрикс

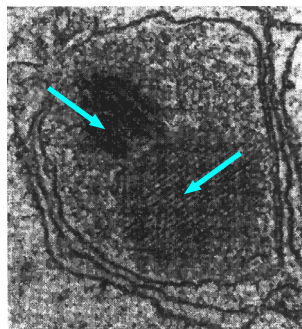


Рис. 1.6. Пероксисомы из почки лошади: стрелками показаны два кристаллоида

прокариотическими клетками, вступившими в симбиоз с клетками эукариот (рис. 1.5). Митохондрии ограничены двойной мембраной, причем внутренняя имеет множество складок, которые называются кристами. Внутреннее пространство заполнено гелеобразной жидкостью — матриксом. И внешняя, и особенно внутренняя мембраны митохондрий оснащены ферментами, большинство из которых связано с основной функцией митохондрий — выработкой энергии, необходимой для процессов жизнедеятельности. В митохондриях содержится небольшое количество ДНК, РНК и рибосом. Набор этих структур обеспечивает возможность автономного синтеза белка митохондриями.

Пероксисомы — внутриклеточные органеллы с однослойной мембраной. Для них характерен тонкозернистый матрикс и отчетливо идентифицируемое уплотнение в центре органеллы — так называемый кристаллоид. В пероксисомах локализованы ферменты, окисляющие органические кислоты, а также такие ферменты антиоксидантной системы, как каталаза и пероксидаза (рис. 1.6).

Лизосомы также ограничены однослойной мембраной. Матрикс их оптически неоднороден и содержит ряд уплотнений. В лизосомах локализован набор гидролитических ферментов, участвующих в разрушении продуктов клеточного метаболизма, причем при помощи специального протонного насоса поддерживается низкое значение pH (не более 4,5), способствующее эффективному гидролизу. Внутриклеточные структуры, подлежащие разрушению, поступают в лизосомы, где и подвергаются гидролизу. Процесс селекции и поступления в лизосомы только отработанного материала обусловлен его специфическим мечением. Так, нативные белки в лизосомы не поступают. По истечении же времени функционирования происходит их инактивация цитоплазматическими протеиназами или присоединение убиквитина, что является сигналом для транспорта в лизосомы модифицированного белка. Кроме молекул, лизосомы могут разрушать органеллы или целые клетки (митохондрии, эритроциты). Процесс транспорта веществ в лизосомы является энергозависимым и требует затраты энергии. В растительных клетках гидролитические ферменты обычно локализованы в вакуолях — прообразе лизосом.

Аппарат Гольджи расположен вблизи ядра и состоит из ряда вытянутых в виде дисков одинарных мембран (рис. 1.7). Играет существенную роль в соз-

ревании и секреции белков. С аппаратом Гольджи ассоциированы так называемые секреторные гранулы, которые после заполнения их секретироваемым материалом перемещаются к клеточной мембране, сливаются с ней и выбрасывают содержимое во внеклеточное пространство. Пересекая мембраны аппарата Гольджи, белки подвергаются химической модификации, которая определяет их дальнейший транспорт. Секреторные и мембранные белки перемещаются в секреторные гранулы, а дефектные поступают в лизосомы.

Цитоскелет состоит из микротрубочек, микрофиламентов и микротрабекулярной сети. В свою очередь, микротрубочки состоят из упакованных белковых нитей, построенных из α - и β -тубулина и расположенных вокруг полой сердцевины. Они участвуют в транспорте веществ и делении клеток. Микрофиламенты также состоят из нитей, представляющих собой ожерелья соединенных друг с другом белковых молекул. Эти нити способствуют различным клеточным перемещениям. Микротрабекулярная сеть также состоит из тонких белковых нитей, способствующих стабилизации формы клеток.

Цитозоль — жидкая среда клетки, в которой находятся многие клеточные компоненты, например рибосомы, и различные макромолекулы, участвующие в процессах клеточного метаболизма.

Цитоплазматическая мембрана ограничивает размеры клеток. У животных во внешней ее части (так называемой клеточной оболочке) локализованы рецепторы — гликопротеины, принимающие и передающие сигналы вовнутрь клетки. Кроме того, в клеточной оболочке находятся сайты узнавания родственных клеток; благодаря им клетки находят и соединяются друг с другом. Оболочка ассоциирована с двухслойной полупроницаемой мембраной, которая селективно отбирает те вещества, которые необходимо пропускать в цитоплазму и элиминировать во внеклеточное пространство. У растений, кроме мембраны, имеется клеточная стенка, пронизанная большим числом отверстий, необходимых для контакта клеток между собой и для обмена веществ.

Другим существенным отличием растительных клеток является наличие уникальных органелл — хлоропластов, преобразующих солнечную энергию в химическую.

Совокупность биохимических процессов, протекающих в клетках и обеспечивающих их жизнедеятельность, называется **обменом веществ** или **метаболизмом**. В клетку постоянно поступают метаболиты, которые подвергаются определенным превращениям, вовлекаясь в обменные процессы. Эти процессы можно разделить на два типа: анаболические, связанные с синтезом новых структур, и катаболические — реакции деградации, распада сложных веществ до более простых. Процессы анаболизма и катаболизма связаны друг с другом и в физиологических условиях протекают строго согласованно. Кроме обмена химических веществ, в клетках постоянно про-

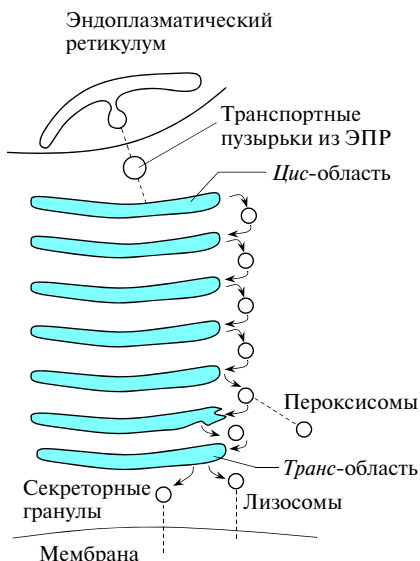


Рис. 1.7. Аппарат Гольджи

ходит обмен энергии. Химическая форма энергии, поступившая в клетку, затрачивается на синтез жизненно необходимых веществ, превращается в тепло и выводится во внеклеточное пространство.

1.3. Практическое применение продуктов клеточного синтеза

Клетки постоянно синтезируют вещества, необходимые для их жизнедеятельности. Эти вещества находят все большее применение в промышленности и медицине. Некоторые из них уникальны и не могут быть получены методом химического синтеза.

Микробные клетки. Такие древнейшие производства, как хлебопечение, виноделие, пивоварение, получение кисломолочных продуктов, существовали задолго до того, как было установлено участие в этих процессах различных микробных клеток. С конца XIX столетия началась эра целенаправленного использования процессов клеточного синтеза для получения полезных для человека веществ. В первой половине XX в. были получены органические растворители, пищевые органические кислоты, антибиотики, аминокислоты, витамины и другие ценные продукты.

Антибиотики — низкомолекулярные органические вещества, которые синтезируются некоторыми микроорганизмами (чаще всего актиномицетами) и выполняют регуляторную и защитную функции в клетках. Оказалось, что антибиотики обладают высоким противомикробным действием и широко используются в медицине и сельском хозяйстве. Химический синтез антибиотиков весьма трудоемок и поэтому нетехнологичен. В промышленности их получают исключительно методом микробиологического синтеза. Во всем мире специально отобранные клетки — продуценты ежегодно синтезируют тысячи тонн антибиотиков. Для повышения эффективности антибиотиков и защиты их от действия микробных гидролаз используют полусинтетический метод получения этих препаратов. Антибиотики, полученные методом микробного синтеза, подвергают химической модификации, не влияющей на основной биологический эффект.

Микробные клетки синтезируют аминокислоты — строительные блоки, из которых состоят белки. Путем отбора, направленных мутаций или генной инженерии можно получить продуценты, синтезирующие аминокислоты в количествах, имеющих промышленное значение, так как роль аминокислот для медицины, сельского хозяйства и промышленности очень велика. Многие пищевые продукты и корма для животных не содержат достаточного количества незаменимых аминокислот, например лизина. К таким продуктам относятся пшеница, рис, кукуруза и др.

Метионин, цистеин, γ -аминомасляную кислоту используют в медицине в качестве лекарственных препаратов, ряд аминокислот обладает пестицидным действием, другие находят применение в кожевенной промышленности.

Огромное значение в практической деятельности человека имеет бродильное производство. Одной из самых древних технологий, использующих микробные клетки, является производство сыров. При производстве твердых сортов сыров используют пропионовокислые бактерии, образующие такие жирные кислоты, как миристиновая, пальмитиновая, стеариновая и олеиновая.

Эти кислоты улучшают качество сыра, придают ему особый аромат. Следует отметить, что пропионовокислые бактерии используются как продуценты витаминов, например витамина В₁₂.

Ферменты, синтезируемые микробными клетками, представляют большой интерес для промышленности и медицины. Высокая скорость метаболизма микробных клеток, обуславливающая несопоставимую с животными и растениями восполняемость сырья, повышает коммерческую значимость этих препаратов. В качестве лекарственных препаратов применяют ряд гидролитических ферментов, таких, как гиалуронидаза, некоторые протеазы, амилаза, липаза. Некоторые ферменты, имеющие прикладное значение, синтезируются только микроорганизмами, например нитрогеназа, катализирующая образование аммиака из молекулярного азота. Велика роль микробных ферментов во многих промышленных процессах (гл. 7).

Клетки растений. В составе многоклеточного растительного организма клетки синтезируют много биологически активных веществ, имеющих практическое значение. Прежде всего следует отметить получение лекарственных веществ растительного происхождения. В настоящее время идентифицировано более 12 000 растительных веществ, обладающих фармакологической активностью.

В течение последних десятилетий широкое распространение получил метод культивирования растительных клеток. Культивируемые клетки особый интерес представляют как источники экологически чистых продуктов вторичного метаболизма растений, применяемых в медицине, пищевой промышленности, парфюмерии. Некоторые продукты синтеза растительных клеток представлены в табл. 1.1.

Перевод клеток в культуру приводит к перестройкам генома и модификациям биосинтетической способности клеток. В культуре клеток найдены вещества, которые не синтезируют интактное растение, например перицин, перикалин, вомиленин.

Животные клетки. Огромное значение для медицины и ветеринарии имеют продукты синтеза клеток животных и человека. Основные аспекты их применения связаны с культивированием вирусов, созданием моноклональных антител, производством вакцин и таких лекарственных веществ, как интерфероны. Эти индуцибельные белки обладают антивирусным и иммуномодулирующим действием и выделяются, в частности, из лейкоцитарных клеток человека.

Т а б л и ц а 1.1. Область применения продуктов синтеза культуры клеток растений

| Растение | Соединение | Область применения |
|-----------------------------------|----------------------------------|--|
| <i>Rauwolfia serp.</i> | Индольные алкалоиды | Фармацевтика |
| <i>Panax ginseng</i> | Панаксаиды | |
| <i>Dioscorea deltoidea</i> | Стероидные сапонины | |
| <i>Lithospermum erythrorhizon</i> | Шиконин | Пищевая промышленность |
| <i>Nicotiana tabacum</i> | Аминокислоты, ферменты, витамины | Сельское хозяйство, пищевая промышленность |

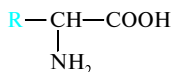
В последние годы ряд биологических структур получают методом управляемого клеточного синтеза. Эти возможности появились в результате развития таких новых направлений биохимии и генетики, как клеточная и генетическая инженерия. Учитывая тот факт, что многие необходимые для промышленности и медицины вещества в принципе невозможно получить методом химического синтеза, продукты, образованные биологическими системами, не только не теряют, но приобретают все более важное практическое значение.

Глава 2

АМИНОКИСЛОТЫ И ПЕПТИДЫ

2.1. Структура и классификация аминокислот

Аминокислоты являются карбоновыми кислотами, содержащими аминную и карбоксильную группы, которые находятся у одного и того же углеродного атома. В организме человека найдено около 70 аминокислот, причем 20 из них входят в состав белков. Это так называемые протеиногенные аминокислоты. Применительно к аминокислотам используют как систематическую номенклатуру, так и тривиальные названия. Последние чаще всего связаны с источником их получения. Так, тирозин был впервые выделен из сыра (от греч. *tyros* — сыр), аспарагиновая кислота — из спаржи (от лат. *asparagus* — спаржа) и т. д. Аминокислоты кроме карбонильной и аминной группировок содержат боковые радикалы, причем именно эти химические группировки определяют большинство свойств той или иной аминокислоты. В общем виде формула аминокислоты может быть представлена следующим образом:



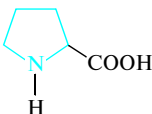
Для одной из протеиногенных аминокислот, а именно для глицина, R представлен атомом водорода, для других аминокислот их боковая цепь имеет более сложное строение. Аминокислоты можно классифицировать на основе полярности их радикалов (табл. 2.1).

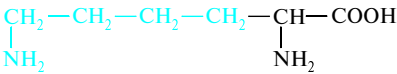
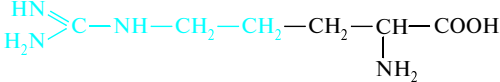
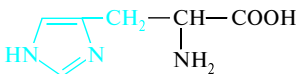
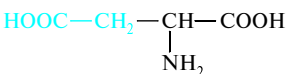
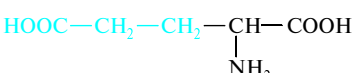
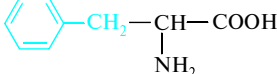
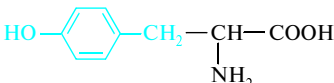
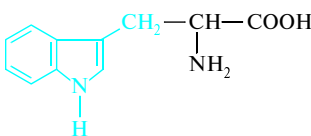
Кроме 20 наиболее часто встречающихся, имеется ряд минорных аминокислот, являющихся компонентами лишь некоторых белков. Каждая из этих минорных аминокислот представляет собой химическую модификацию основных протеиногенных аминокислот, например гидроксипролин или гидроксизин.

2.2. Стереохимия аминокислот

Для всех аминокислот, за исключением глицина, характерна оптическая активность. Они могут существовать в виде пары энантиомеров — D и L в связи с наличием хирального атома углерода. Протеиногенные аминокислоты существуют только в L-форме, однако в живой природе отмечено наличие D-аминокислот, находящихся в свободном состоянии или в составе коротких пептидов. Способность синтезировать только L-формы аминокислот является уникальной

Т а б л и ц а 2.1. Классификация протеиногенных аминокислот

| Название аминокислоты | Формула | Условное обозначение |
|---------------------------------------|--|----------------------|
| Неполярные радикалы | | |
| Аланин | $\begin{array}{c} \text{CH}_3 - \text{CH} - \text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$ | Ала (Ala) |
| Глицин | $\begin{array}{c} \text{H} - \text{CH} - \text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$ | Гли (Gly) |
| Валин | $\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} \\ \text{H}_3\text{C} \end{array} > \text{CH} - \text{CH} - \text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2$ | Вал (Val) |
| Лейцин | $\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} \\ \text{H}_3\text{C} \end{array} > \text{CH} - \text{CH}_2 - \text{CH} - \text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2$ | Лей (Leu) |
| Изолейцин | $\text{CH}_3 - \text{CH}_2 - \text{CH} - \text{CH} - \text{COOH} \\ \quad \\ \text{CH}_3 \quad \text{NH}_2$ | Иле (Ile) |
| Пролин |  | Про (Pro) |
| Незаряженные полярные радикалы | | |
| Метионин | $\begin{array}{c} \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH} - \text{COOH} \\ \quad \\ \text{S} - \text{CH}_3 \quad \text{NH}_2 \end{array}$ | Мет (Met) |
| Серин | $\begin{array}{c} \text{CH}_2 - \text{CH} - \text{COOH} \\ \quad \\ \text{OH} \quad \text{NH}_2 \end{array}$ | Сер (Ser) |
| Треонин | $\begin{array}{c} \text{CH}_3 - \text{CH} - \text{CH} - \text{COOH} \\ \quad \\ \text{OH} \quad \text{NH}_2 \end{array}$ | Тре (Thr) |
| Цистеин | $\begin{array}{c} \text{CH}_2 - \text{CH} - \text{COOH} \\ \quad \\ \text{SH} \quad \text{NH}_2 \end{array}$ | Цис (Cys) |
| Аспарагин | $\begin{array}{c} \text{O} = \text{C} - \text{CH}_2 - \text{CH} - \text{COOH} \\ \quad \\ \text{NH}_2 \quad \text{NH}_2 \end{array}$ | Асн (Asn) |
| Глутамин | $\begin{array}{c} \text{O} = \text{C} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH} - \text{COOH} \\ \quad \\ \text{NH}_2 \quad \text{NH}_2 \end{array}$ | Глн (Gln) |

| Название аминокислоты | Формула | Условное обозначение |
|---|---|----------------------|
| Положительно заряженные радикалы | | |
| Лизин |  | Лиз (Lys) |
| Аргинин |  | Арг (Arg) |
| Гистидин |  | Гис (His) |
| Отрицательно заряженные радикалы | | |
| Аспарагиновая кислота |  | Асп (Asp) |
| Глутаминовая кислота |  | Глу (Glu) |
| Ароматические радикалы | | |
| Фенилаланин |  | Фен (Phe) |
| Тирозин |  | Тир (Tyr) |
| Триптофан |  | Трп (Trp) |

особенностью живых систем, так как при химическом синтезе образуется равное количество D- и L-энантиомеров, т. е. имеет место рацемическая смесь, которую трудно разделить на отдельные формы. Разделенные D- и L-изомеры при кипячении или при длительном хранении снова превращаются в рацематы.

2.3. Физико-химические свойства аминокислот

Все аминокислоты в водных растворах существуют в виде биполярных ионов, причем аминная группа у них протонирована, а карбоксильная — диссоциирована:



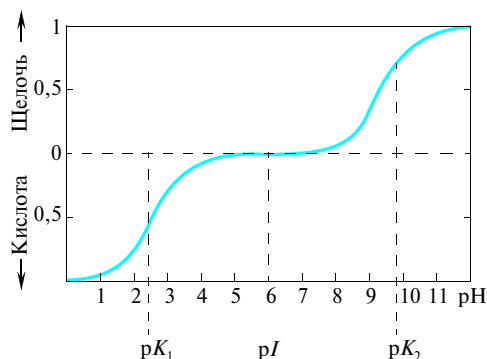


Рис. 2.1. Кривая титрования глицина

Биполярность аминокислот обеспечивает ряд очень важных их свойств, таких, как высокая растворимость в воде, а также высокие дипольные моменты их молекул. Относительно высокие температуры плавления обусловлены тем, что их кристаллы обладают ионной решеткой. В водных растворах аминокислоты ведут себя либо как кислоты, либо как основания, проявляя тем самым амфотерные свойства.

Значение pH, при котором как аминная, так и карбоксильная группы

заряжены и эти заряды скомпенсированы, называют *изоэлектрической точкой* (pI). Ряд аминокислот не имеет ионогенных групп в боковых химических группировках, в этом случае величина pI равна полусумме pK_a аминной и карбоксильной групп. Если же какая-либо аминокислота содержит дополнительные ионогенные группировки, то при расчете pI следует учитывать их вклад.

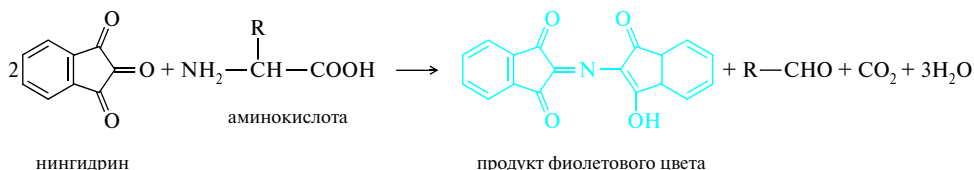
Для аминокислот характерны специфические кривые титрования, зависящие от числа ионогенных группировок. Если аминокислота имеет одну аминную и одну карбоксильную группировки, то кривая титрования имеет два перегиба, соответствующих отщеплению одного протона (рис. 2.1).

На основании кривых титрования глицина и других моноаминомонокарбоновых аминокислот можно заключить, что все они при любых значениях pH ведут себя как сильные электролиты и обладают буферными свойствами.

Ни одна из 20 протеиногенных аминокислот не поглощает свет в видимой области спектра. Ароматические аминокислоты поглощают свет в ультрафиолетовой области спектра, причем триптофан и тирозин при 280 нм, а фенилаланин — при 260 нм.

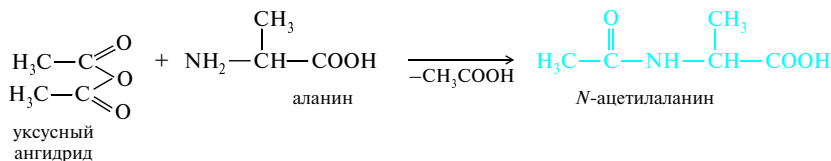
2.4. Химические реакции, характерные для аминокислот

Способность аминокислот вступать в химические реакции зависит от реакционной способности соответствующих группировок. Моноаминомонокарбоновые аминокислоты вступают в реакции, характерные для их аминных и карбоксильных групп. Другие аминокислоты, например цистеин, кроме того, вступают в реакции, характерные для сульфгидрильных групп ($-SH$), тирозин — в реакции фенольной группы и т. д. Одной из наиболее характерных реакций аминокислот является ее взаимодействие с нингидрином:

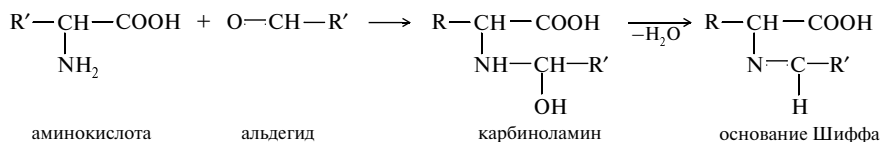


На этой реакции основано качественное и количественное определение аминокислот как в лабораторной практике, так и промышленных производствах.

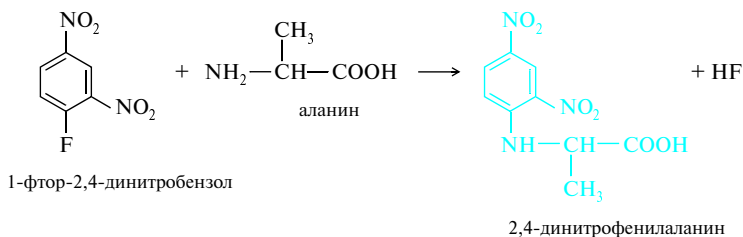
Ацетилирование аминокислот уксусным ангидридом протекает следующим образом:



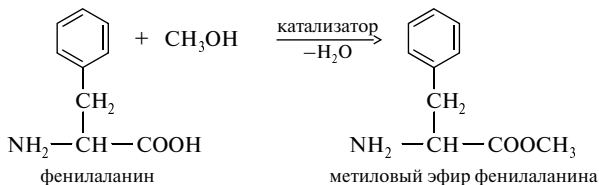
Реакции аминогрупп с альдегидами приводят к образованию шиффовых оснований. Реакция протекает по схеме:



Большое значение для определения аминокислот в белках и пептидах, в частности концевых аминокислотных остатков, имеет их реакция с 1-фтор-2,4-динитробензолом:



Одной из характерных реакций карбоксильных групп аминокислот является их этерификация:



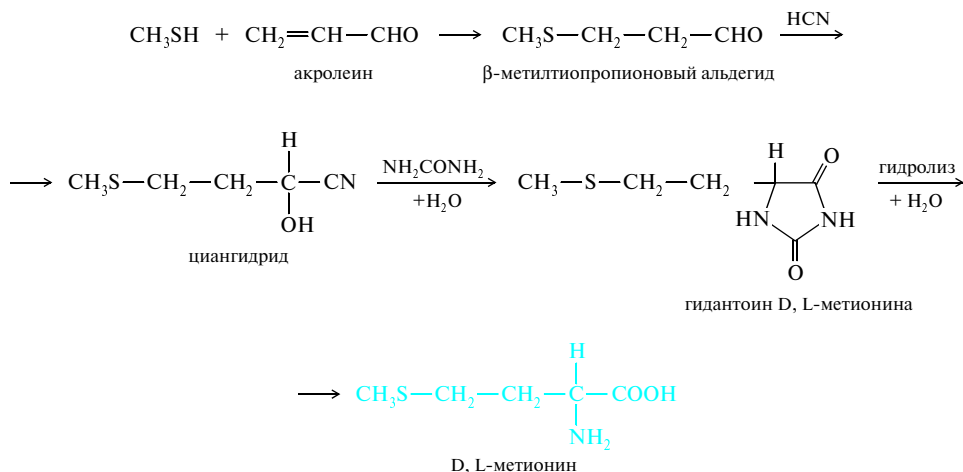
2.5. Синтез аминокислот

Получение аминокислот в промышленных условиях осуществляется посредством химического или микробиологического синтеза.

2.5.1. Химический синтез

Химический синтез поливариантен, однако во всех случаях связан с получением рацемических смесей, которые затем необходимо разделять на оптически активные стереоизомеры. Синтез, предложенный в XX в.

А. Штреккером, основан на реакции альдегида $R-CHO$ с цианидом калия и мочевиной. Полученное циклическое производное аминокислоты гидролизуется щелочью с образованием рацемической смеси D, L-аминокислоты. В качестве примера можно привести получение L-метионина из β -метилтиопропионового альдегида, который, в свою очередь, синтезируется из акролеина и метилмеркаптана:



Так как в пищевой промышленности и медицине применяют только L-изомеры аминокислот, рацемические смеси необходимо разделять на отдельные энантиомеры. Для этой цели используют различные хроматографические методы, в том числе и основанные на ионном обмене. Химические методы разделения, связанные с взаимодействием рацематов с определенными асимметрическими соединениями, достаточно сложны и не находят применения в промышленных условиях. Гораздо более эффективным является ферментативный метод разделения рацематов аминокислот, впервые разработанный и использованный японскими исследователями. В основу метода положена способность фермента ацилазы L-аминокислот специфически гидролизовать только ацилированные L-аминокислоты без воздействия на D-стереоизомеры. Ацилированные аминокислоты, полученные методом химического синтеза, подвергаются воздействию иммобилизованного фермента ацилазы, причем после полного ферментативного гидролиза образуется смесь ацилированной D-аминокислоты и свободного L-стереоизомера, легко разделяющиеся простой кристаллизацией или посредством ионообменной хроматографии.

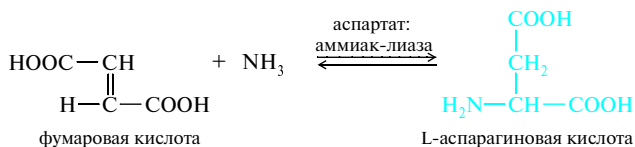
Если оставшуюся ацил-D-аминокислоту подвергнуть нагреванию, то можно снова получить рацемическую смесь, из которой затем извлекается свободная L-аминокислота.

Таким образом, при использовании иммобилизованной аминокислотацилазы можно данный процесс проводить многократно и получать свободные L-аминокислоты с максимальным выходом. Оказалось, что сродство фермента к ацилированным аминокислотам примерно одинаково и определяется не строением аминокислоты как таковой, а исключительно ацильной группировкой.

Иммобилизованная на смоле аминоксилаза достаточно стабильна; период ее полуинактивации в промышленных условиях находится в пределах двух месяцев.

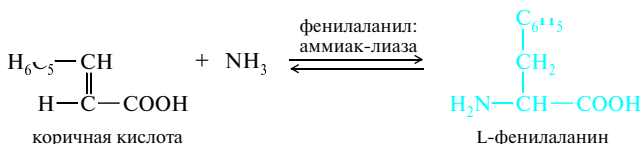
2.5.2. Ферментативный синтез

В результате ферментативного синтеза образуются в основном L-аминокислоты. Примером может служить широко распространенный в промышленности синтез L-аспарагиновой кислоты из фумаровой кислоты и аммиака под действием фермента аспарат: аммиак-лиазы:



Одним из существенных преимуществ данного процесса, имеющего большое значение для промышленного производства, является то, что он протекает в одну стадию и обеспечивает получение только L-стереоизомера аспарагиновой аминокислоты.

Получение L-фенилаланина из коричной кислоты и аммиака осуществляется при помощи фермента фенилаланин: аммиак-лиазы также в одну стадию:



2.5.3. Микробиологический синтез

Многие микроорганизмы синтезируют свободные аминокислоты, имеющие промышленное значение. Пути биосинтеза отдельных аминокислот получили свое развитие в результате внедрения в практику ауксотрофных мутантов и применения радиоизотопных методов.

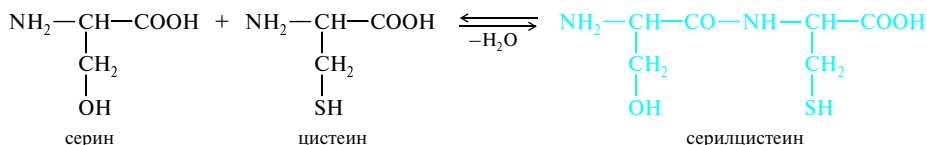
Используют мутанты микроорганизмов, которые утратили некоторые ферменты синтеза одних аминокислот, но приобрели способность интенсивно синтезировать другие. Ауксотрофные мутанты отбирают на селективных средах после воздействия на бактериальные клетки ультрафиолетовым или рентгеновским излучением или же за счет химического мутагенеза.

Одной из первых аминокислот, полученных из коринебактерий методом микробиологического синтеза в промышленных условиях, была L-глутаминовая аминокислота. Усиление синтеза этой аминокислоты подавляет ее дальнейшее образование по принципу обратной связи, поэтому целесообразно в питательную среду вводить поверхностно-активные вещества и жирные кислоты для увеличения проницаемости клеточных мембран и элиминации глутаминовой кислоты из клетки.

Из коринебактерий можно получать также ароматические аминокислоты, например триптофан.

2.6. Пептиды

Если аминная группа одной аминокислоты соединяется с карбоксильной группой другой аминокислоты, то образующееся соединение называют дипептидом, а связь между аминокислотами — пептидной связью:

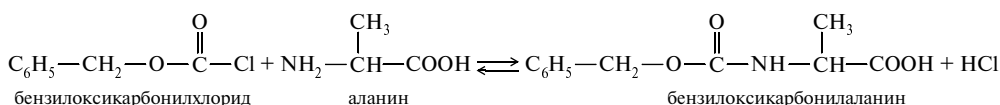


Аминокислоты в составе пептидов находятся в виде ацилов, поэтому их называют, используя характерное для ацилов окончание **-ил**, причем любое число аминокислот в полипептиде имеет такое же окончание, за исключением последнего аминокислотного остатка.

Как и аминокислоты, полипептиды содержат свободные аминную и карбоксильную группы, при различных значениях pH проявляют как положительный, так и отрицательный заряд, а также имеют изоточку. Химические свойства аминной и карбоксильной групп пептидов имеют много общего с таковыми у аминокислот, например, они вступают в одни и те же химические реакции, за исключением протекающих одновременно для карбоксильной и аминной группировок.

2.6.1. Химический синтез пептидов

Синтез пептидов представляет собой отдельное направление тонкого органического синтеза. Характерной его особенностью является необходимость временной защиты тех химических группировок, которые не должны участвовать в химической реакции. При выборе блокирующего агента руководствуются возможностью его легкого отщепления без изменения структуры пептида. На практике для защиты аминной группы часто используют бензилоксикарбонилхлорид:



После образования пептидной связи бензилоксикарбонильную группу отщепляют посредством бромоводорода в ледяной уксусной кислоте. Для защиты α -карбоксильной группы ее превращают в метиловый или бутиловый эфир. Затем по мере надобности соответствующий эфир омыляют щелочью.

Весьма перспективным методом синтеза пептидов является твердофазный метод, заключающийся в присоединении карбоксильной группы аминокислоты к нерастворимому полимеру посредством сложноэфирной связи. Затем к первой аминокислоте присоединяют следующую, предварительно отщепив защитную группу. В результате образуется дипептид, по-прежнему присоединенный к носителю. Такие циклы можно повторять многократно, получая полипептиды необходимой длины.

Твердофазный анализ удалось автоматизировать, в результате появились автоматизированные синтезаторы пептидов, которые с успехом используются в промышленности и лабораторной практике.

2.6.2. Ферментативный синтез пептидов

Некоторые биологические катализаторы, гидролизующие пептидные связи, в определенных условиях способны катализировать обратную реакцию, а именно образовывать пептидные связи между отдельными аминокислотами. Одним из таких способов смещения равновесия каталитической реакции является ее проведение в органическом растворителе в присутствии небольших количеств воды.

2.6.3. Природные пептиды

В настоящее время выделено и изучено несколько сотен природных пептидов, причем оказалось, что многие из них играют самостоятельную физиологическую роль.

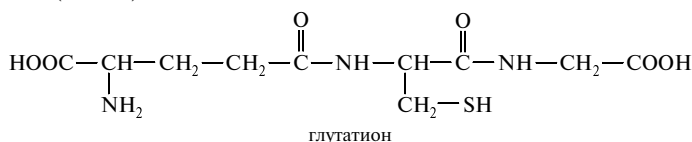
Пептидные антибиотики. Они синтезируются микроорганизмами, часто не по матричному механизму. В их состав могут входить непротеиногенные аминокислоты, а также их D-изомеры. В качестве примера может служить грамицидин S, в молекуле которого присутствует аминокислота — орнитин и D-изомеры фенилаланина:



Регуляторные пептиды — вещества, регулирующие многие химические реакции в клетках и тканях организма. К ним относятся пептидные гормоны, например инсулин, контролирующий содержание глюкозы в крови и клетках, окситоцин, стимулирующий сокращение гладкой мускулатуры, вазопрессин — регулятор водного обмена и др.

В последние годы интенсивно развивается учение о нейропептидах. Некоторые из них, например опиоидные пептиды, по рецепторному типу взаимодействуют с различными участками головного мозга и формируют эффект анальгезии, т. е. уменьшение болевых ощущений. Их разделяют на эндорфины, энкефалины и динарфины. Энкефалины обладают непродолжительным болеутоляющим действием из-за быстрой их инактивации пептидазами, в то время как длинноцепочечные эндорфины и динарфины проявляют более сильный и продолжительный анальгетический эффект.

Кроме выше перечисленных, можно отметить такие биологически активные пептиды, как **глутатион**, принимающий участие в окислительно-восстановительных процессах, а также в переносе аминокислот через цитоплазматические мембраны (гл. 24):



Брадикинин — важнейший компонент кининовой системы, обеспечивающей регуляцию кровотока и проницаемость клеточных стенок:

Арг-Про-Гли-Фен-Сер-Фен-Арг

брадикинин

2.7. Аминокислоты и пептиды в промышленности и медицине

Ежегодно в мире производится более 200 тыс. тонн аминокислот, которые используются в основном как пищевые добавки и компоненты кормов для скота. Традиционным промышленным методом их получения является ферментация, однако все большее значение приобретают химические и особенно ферментативные методы синтеза различных аминокислот. Наибольший удельный вес в промышленном получении аминокислот имеет лизин и глутаминовая кислота, в больших количествах производят также глицин и метионин. Аминокислоты, особенно незаменимые, т. е. не синтезирующиеся в организме, представляют большой интерес в первую очередь для медицины и пищевой промышленности. Фенилаланин является предшественником ряда гормонов, осуществляющих многие регуляторные реакции в организме, метионин — основной донор метильных группировок при синтезе адреналина, креатина, а также источник серы при образовании тиамина, валин участвует в синтезе пантотеновой кислоты, треонин — предшественник витамина B_{12} и т. д. Следовательно, дефицит аминокислот, способствующий нарушению многих обменных процессов, должен восполняться за счет введения соответствующих экзогенных аминокислот.

2.7.1. Аминокислоты как лекарственные вещества

Аминокислоты широко применяются в медицинской практике. В первую очередь это относится к таким аминокислотам, как метионин, гистидин, глутаминовая и аспарагиновая кислоты. В последние годы список аминокислот — лекарственных препаратов — существенно расширился. В него входят аргинин, ароматические аминокислоты, цистеин и некоторые другие.

Глутаминовая кислота используется в психиатрии при эпилепсии и особенно в детской психиатрии для лечения слабоумия и последствий родовых травм. Кроме того, ее применяют в комплексной терапии язвенной болезни и при гипоксии. Весьма эффективным лекарственным препаратом является производное глутаминовой кислоты — гамма-аминомасляная кислота, или ГАМК. Она образуется из глутаминовой кислоты в результате декарбоксилирования при помощи фермента глутаматдекарбоксилазы, а ее метаболизм происходит под действием фермента 4-аминобутират: 2-оксиглутаратамино-трансферазы в присутствии пиридоксальфосфата. ГАМК тормозит передачу нервного импульса в синапсах центральной нервной системы. Кроме того, ГАМК влияет на обмен глюкозы, тканевое дыхание и окислительное фосфорилирование в головном мозге. На основе ГАМК создан лекарственный препарат гаммалон (аминолон), применяемый при нарушениях мозгового кровообращения после инсульта, при атеросклерозе мозговых сосудов, потере памяти.

Аспарагиновая кислота способствует повышению потребления кислорода сердечной мышцей, обладает антиатерогенным действием. В кардиологии применяют панангин — препарат, содержащий аспартат калия и аспартат магния. Панангин применяют для лечения различного рода аритмий, а также ишемической болезни сердца.

Метионин имеет в своем составе подвижную метильную группу, которая способна переноситься на другие клеточные структуры в процессах метилирования, например в процессах конъюгации или синтеза холина. Защищает организм при отравлениях бактериальными эндотоксинами и некоторыми другими ядами, в связи с этим используется как протектор от токсикантов окружающей среды. Обладает радиопротекторными свойствами. Лекарственные препараты под названием «Метионин» выпускаются в виде таблеток. Применяются также в геронтологии в качестве профилактического средства.

Глицин, подобно ГАМК, является медиатором торможения в ЦНС. В медицинской практике применяется для лечения хронического алкоголизма. Производное глицина — бетаин — является эффективным гепатопротекторным препаратом, улучшает процессы пищеварения.

Валин входит в состав комплексонов, применяющихся для выведения радионуклидов из организма.

Эффективным представляется использование аминокислот как пищевых добавок, имеющее двойное значение: в качестве лечебных компонентов, а также для улучшения питательной ценности пищевых продуктов и придания им оптимальных вкусовых свойств. Так, глутаминовая кислота, помимо фармакологического эффекта, улучшает вкус мясных продуктов, является весьма важным ингредиентом при консервировании и замораживании. Многие другие аминокислоты также улучшают вкус тех или иных пищевых продуктов. Термическая обработка пищи в присутствии таких аминокислот, как валин, метионин или глицин, приводит к получению своеобразного аромата мясных или хлебобулочных изделий. D-Триптофан во много раз слаще сахарозы и может использоваться для диабетического питания. В пищевой промышленности такие аминокислоты, как глицин, лизин, цистеин, используются в качестве антиоксидантов, стабилизирующих ряд витаминов, например аскорбиновую кислоту, и замедляющих пероксидное окисление липидов. Кроме того, будучи сладким на вкус, глицин применяется в пищевой промышленности при производстве приправ и безалкогольных напитков.

В сельском хозяйстве аминокислоты применяются преимущественно в качестве кормовых добавок. Многие растительные белки содержат лизин в очень малых количествах, поэтому добавление лизина в корма сельскохозяйственных животных с целью их сбалансирования по белковому питанию имеет первостепенное значение. Кроме того, в сельском хозяйстве аминокислоты применяются для защиты растений от различных болезней (метионин, глутаминовая кислота, валин). Производные таких аминокислот, как аланин и глицин, обладают гербицидным действием и используются для защиты растений от сорняков.

Введение в такие аминокислоты, как глутаминовая или аспарагиновая кислота, гидрофобных группировок дает возможность получать поверхностно-активные вещества (ПАВ), широко используемые в синтезе полимеров,

а также при производстве моющих средств, эмульгаторов, добавок к моторному топливу.

Косметические средства с добавками аминокислот более эффективно поддерживают нормальные функции кожи, благотворно сказываются на качестве волос.

Применение аминокислот постоянно расширяется и лимитируется только необходимой степенью очистки и высокой стоимостью производства.

В последние годы внимание многих исследователей обращено к регуляторным пептидам в связи с открывшимися возможностями медицинского их применения в качестве лекарственных препаратов, имитирующих действие эндогенных регуляторов организма. Как уже было сказано, большой класс нейропептидов обладает анальгезирующим действием, причем изучены молекулярные механизмы действия многих регуляторных пептидов. Так, установлено, что анальгетическое действие β -эндорфина связано с освобождением метэнкефалина в мозге. Для решения основной проблемы применения регуляторных пептидов в качестве лекарственных средств, а именно быстрой их деградации в организме используют метаболически стабильные структурные аналоги, а также ингибиторы протеиназ, катализирующих распад полипептидов до аминокислот. Эти ингибиторы, блокирующие также распад эндогенных энкефалинов, представляют собой особый класс анальгетиков смешанного типа.

Для создания структурных аналогов опиоидных пептидов проводились модификации их структуры: замена L- на D-формы некоторых аминокислот, модификация C-концевой аминокислоты, замены некоторых остатков тирозина.

При модификации энкефалина наиболее стабильный аналог был получен при замене глицина на D-аланин во втором положении с одновременным амидированием C-концевого лейцина. Перспективной является модификация, связанная с введением в полипептид углеводных остатков. Так, на основе энкефалина синтезированы его галактозильные производные, проявляющие фармакологическую активность в 1000 раз большую, чем исходный полипептид. Синтетический препарат **даларгин**, обладающий пролонгированным действием, благодаря замене аланина на D-форму с успехом применяется в медицинской практике.

Глава 3

БЕЛКИ. СТРУКТУРЫ И ФУНКЦИИ

3.1. Уровни структурной организации белковых макромолекул

Белки играют наиважнейшую роль в процессах жизнедеятельности. Они являются результатом экспрессии генов и инструментом, при помощи которого геном управляет всеми метаболическими реакциями в клетке. Белки принимают участие в построении клеток и тканей, осуществляют биологический катализ, регуляторные и сократительные процессы, защиту от внешних воз-

действий. Термин *протеины* (в переводе с греч. — первые, важнейшие) очень точно отражает положение белков в иерархии жизненно важных макромолекул.

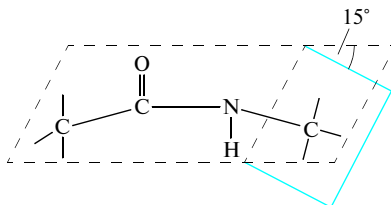
Известно, что аминокислоты, соединяясь друг с другом посредством пептидных связей, образуют полипептиды (гл. 2). Белками являются полипептиды, способные образовывать и самостоятельно стабилизировать свою пространственную структуру. Эта способность приобретается при наличии большого числа нековалентных взаимодействий и напрямую связана с числом аминокислотных остатков, образующих полипептидную цепочку. Как правило, белками называют полипептиды, содержащие более 50 аминокислотных остатков. Вместе с тем длина полипептидной цепи может достигать сотен и даже тысяч остатков аминокислот, размер ее определяется матрицей, на которой осуществляется синтез того или иного белка.

3.1.1. Первичная структура белков

Первичной структурой белков называют последовательность аминокислотных остатков в полипептидной цепи. Пептидная связь, характерная для первичной структуры, не является полностью одинарной. Ее длина составляет 0,132 нм, что является средним значением между истинной одинарной связью C—N (0,149 нм) и истинной двойной связью C=N (0,127 нм). По некоторым данным, пептидная связь является частично двойной и частично одинарной. Обе структуры динамичны, и между ними имеются взаимные переходы. Методом рентгеноструктурного анализа Л. Полинг и Р. Кори определили углы пептидных связей, доказав при этом наличие жесткой, планарной (плоской) структуры полипептидной цепи. Несмотря на то что ее конформационная подвижность ограничена, подвижность вокруг одинарных связей при α -углеродном атоме возможна и весьма вероятна. Углы вращения одинарных связей называются *торсионными* и имеют соответствующие обозначения: угол вращения вокруг связи N—C $_{\alpha}$ обозначают ϕ , а угол вращения вокруг связи — C—C $_{\alpha}$ — ψ .

❗ От этих углов (индивидуальных для каждой аминокислотной единицы) зависит характер вторичной структуры белковой макромолекулы.

Планарная структура пептидной связи предполагает, что почти все образующие ее атомы находятся в одной плоскости. Ниже представлено пространственное расположение атомов, образующих пептидную связь:



Заместители по отношению к пептидной связи могут находиться в *цис*- или *транс*-положении, причем *транс*-пептидная связь является более стабильной и, следовательно, более распространенной в природных белках или

полипептидах. *Цис*-пептидные связи достаточно редки, не более одной-двух на белок среднего размера, причем образованы они, как правило, остатками пролина.

3.1.2. Вторичная структура белков

Пептидные цепи белков организованы во вторичную структуру, стабилизированную водородными связями. Атом кислорода каждой пептидной группы образует при этом водородную связь с NH-группой, соответствующей пептидной связи. При этом формируются следующие структуры: α -спираль, β -структура и β -изгиб.

α -Спираль. Одной из наиболее термодинамически выгодных структур является правая α -спираль. На рис. 3.1 изображена α -спираль, представляющая устойчивую структуру, в которой каждая карбонильная группа образует водородную связь с четвертой по ходу цепи NH-группой. В α -спирали на один ее виток приходится 3,6 аминокислотного остатка, шаг спирали составляет примерно 0,54 нм, а расстояние между остатками — 0,15 нм. В α -спиральных участках торсионные углы ϕ и ψ равны 60° и 45° и последовательно расположенные полипептидные звенья взаимно ориентированы.

L-Аминокислоты могут образовывать только правые α -спирали, причем боковые радикалы расположены по обе стороны оси и обращены наружу. В α -спирали полностью использована возможность образования водородных связей, поэтому она не способна в отличие от β -структуры образовывать водородные связи с другими элементами вторичной структуры. При образовании α -спирали боковые цепи аминокислот могут сближаться, образуя гидрофобные или гидрофильные компактные сайты. Эти сайты играют существенную роль при образовании трехмерной конформации белковой макромолекулы, так как используются для упаковки α -спиралей в пространственной структуре белка.

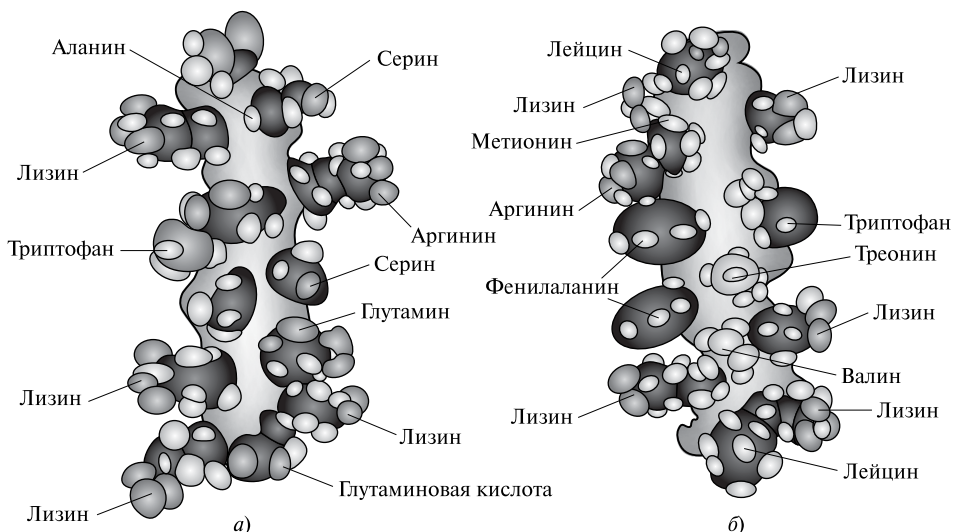


Рис. 3.1. α -Спираль белка аполипопротеина С-1 (по В. М. Степанову):
а — гидрофильная поверхность; б — гидрофобная поверхность α -спирали белка

Спираль-клубок. Содержание α -спиралей в белках неодинаково и является индивидуальной особенностью каждой белковой макромолекулы. Для некоторых белков, например для миоглобина, α -спираль лежит в основе структуры, другие, например химотрипсин, не имеют α -спирализованных участков. В среднем глобулярные белки имеют степень спирализации порядка 60—70%. Спирализованные участки чередуются с хаотическими клубками, причем в результате денатурации переходы спираль—клубок увеличиваются. Спирализация полипептидной цепи зависит от аминокислотных остатков, ее образующих. Так, отрицательно заряженные группы глутаминовой кислоты, расположенные в непосредственной близости друг от друга, испытывают сильное взаимное отталкивание, что препятствует образованию соответствующих водородных связей в α -спирали. По той же причине спирализация цепи затруднена в результате отталкивания близко расположенных положительно заряженных химических группировок лизина или аргинина. Большие размеры радикалов аминокислот также являются причиной, по которой спирализация полипептидной цепи затруднена (серин, треонин, лейцин). Наиболее часто интерферирующим фактором при образовании α -спирали является аминокислота пролин. Как известно, в пролине атом азота входит в состав жесткого кольца, что препятствует вращению вокруг связи $N-C_{\alpha}$. Кроме того, пролин не образует внутрицепочечную водородную связь из-за отсутствия при атоме азота водородного атома. Таким образом, во всех случаях, когда в полипептидной цепи встречается пролин, α -спиральная структура нарушается и образуются клубок или β -изгиб.

β -Структура. В отличие от α -спирали β -структура образована за счет межацепочечных водородных связей между соседними участками полипептидной цепи, так как внутрицепочечные контакты отсутствуют. Если эти участки направлены в одну сторону, то такая структура называется параллельной ($\phi = -119^\circ$, $\psi = +113^\circ$) (рис. 3.2), если же в противоположную ($\phi = -139^\circ$, $\psi = +135^\circ$), то антипараллельной (рис. 3.3).

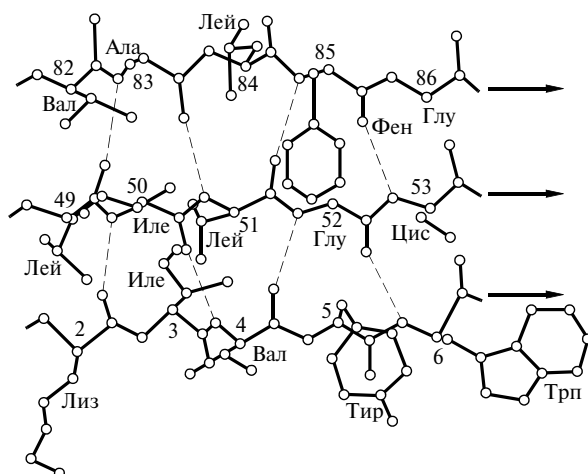


Рис. 3.2. Параллельная β -структура флаводоксина (по В. М. Степанову):
пунктиром показаны водородные связи

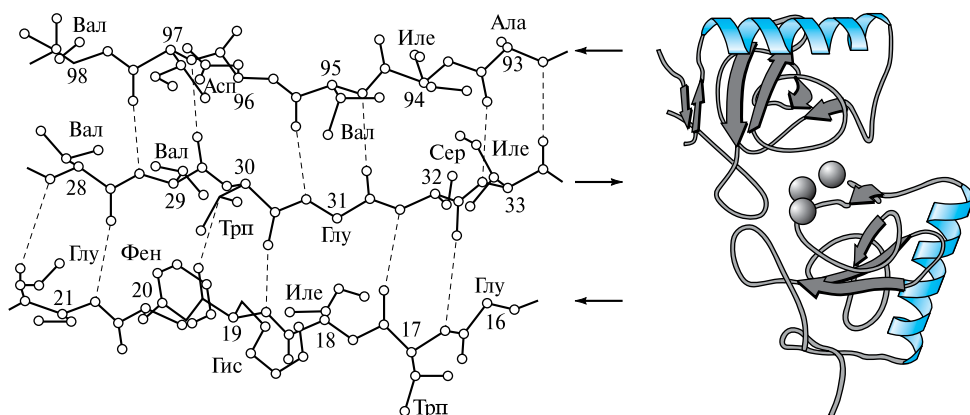


Рис. 3.3. Антипараллельная и кристаллическая структуры супероксиддисмутазы

Полипептидная цепь в β -структуре сильно вытянута и имеет не спиральную, а скорее зигзагообразную форму. Расстояние между соседними аминокислотными остатками по оси составляет 0,35 нм, т. е. в три раза больше, чем в α -спирали, число остатков на виток равно 2.

В случае параллельного расположения β -структуры водородные связи менее прочны по сравнению с таковыми при антипараллельном расположении аминокислотных остатков. В отличие от α -спирали, насыщенной водородными связями, каждый участок полипептидной цепи в β -структуре открыт для образования дополнительных водородных связей. Сказанное относится как к параллельной, так и к антипараллельной β -структуре, однако в антипараллельной структуре связи более стабильны. В отрезке полипептидной цепи, образующей β -структуру, находится от трех до семи аминокислотных остатков, а сама β -структура состоит из 2—6 цепей, хотя их число может быть и большим. β -Структура имеет складчатую форму, зависящую от соответствующих α -углеродных атомов. Поверхность ее может быть плоской и левозакрученной таким образом, чтобы угол между отдельными отрезками цепи составлял 20—25° (рис. 3.4).

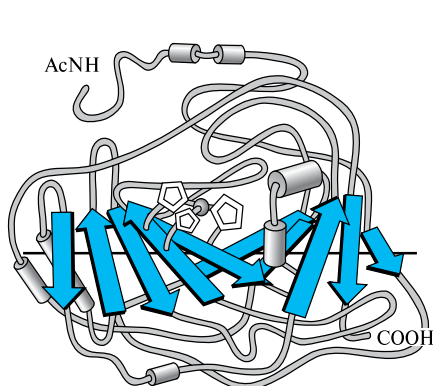


Рис. 3.4. Протяженный β -складчатый слой (в карбангидразе человека)

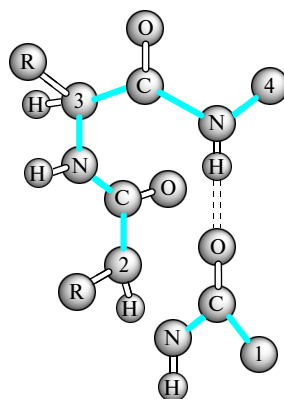


Рис. 3.5. β -Изгиб полипептидной цепи (по В. М. Степанову)

β -Изгиб. Глобулярные белки имеют шарообразную форму во многом благодаря тому, что для полипептидной цепи характерно наличие петель, зигзагов, шпилек, причем направление цепи может изменяться даже на 180° . В последнем случае имеет место β -изгиб (рис. 3.5).

Этот изгиб по форме напоминает шпильку для волос и стабилизируется одной водородной связью. Фактором, препятствующим его образованию, могут быть большие боковые радикалы, и поэтому довольно часто наблюдается включение в него наименьшего аминокислотного остатка — глицина. Эта конфигурация оказывается всегда на поверхности белковой глобулы, в связи с чем β -изгиб принимает участие во взаимодействии с другими полипептидными цепями.

Супервторичные структуры. Впервые супервторичные структуры белков были постулированы и затем обнаружены Л. Полингом и Р. Кори. В качестве примера можно привести суперспирализованную α -спираль, в которой две α -спирали скручены в левую суперспираль (рис. 3.6). Однако чаще суперспиральные структуры включают в себя как α -спирали, так и β -складчатые листы. Их состав может быть представлен следующим образом: $(\alpha\alpha)$, $(\alpha\beta)$, $(\beta\alpha)$ и $(\beta\chi\beta)$. Последний вариант представляет собой два параллельных складчатых листа, между которыми находится статистический клубок $(\beta\text{C}\beta)$, α -спираль $(\beta\alpha\beta)$ или β -структура $(\beta\beta\beta)$.

Соотношение между вторичной и супервторичной структурами имеет высокую степень вариабильности и зависит от индивидуальных особенностей той или иной белковой макромолекулы.

Домены — более сложные уровни организации вторичной структуры. Они представляют собой обособленные глобулярные участки, соединенные друг с другом короткими так называемыми шарнирными участками полипептидной цепи. Д. Бирктофт одним из первых описал доменную организацию химотрипсина, отметив наличие двух доменов у этого белка. Каждый из них имеет цилиндрическую форму, образованную β -структурой, и состоит из 6 антипараллельных цепей. В один из этих доменов входят 139 аминокислот с *N*-конца, другой — *C*-концевой включает в себя 115 аминокислотных остатков.

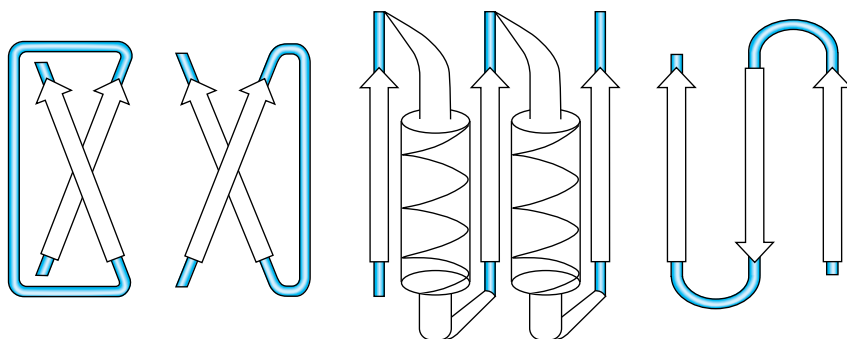


Рис. 3.6. Супервторичные β -структуры: цилиндрами обозначены α -спирали; затемненные области — неспирализованные участки; стрелки — β -складчатые слои

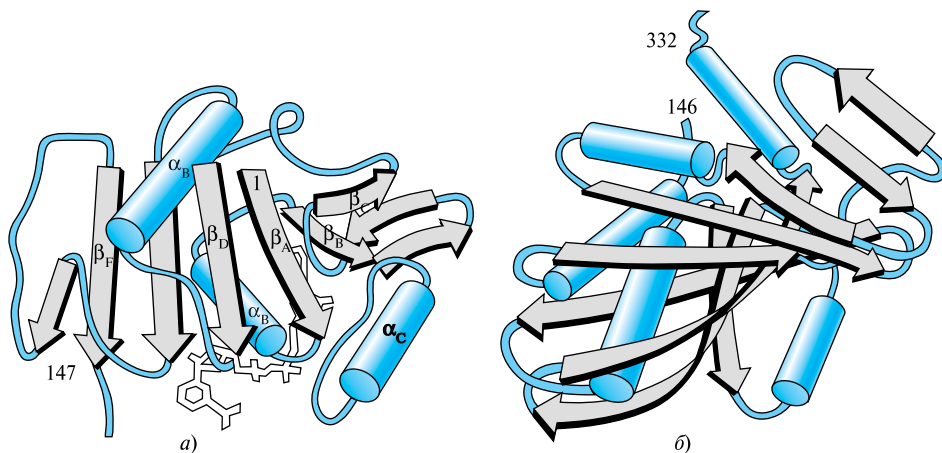


Рис. 3.7. Домены ГАФД из мышц омара (по А. А. Анисимову):
а — НАД⁺-связывающий домен; б — каталитический домен

Доменная организация характерна для многих белков. В этих белках, как правило, находится несколько структурных доменов, каждый из которых содержит до 200 аминокислотных остатков. Примером тому может быть белок глицеральдегидфосфатдегидрогеназа (ГАФД) (рис. 3.7).

В некоторых белках, например в иммуноглобулинах или сериновых протеиназах, структурные домены сходны по своей первичной структуре, что указывает на возможный механизм дубликации соответствующих генов, в других белках, например в гемоглобине, имеются определенные различия (рис. 3.8). По строению домены в белках разделяют на несколько групп в зависимости от содержания в них α -спиралей и β -складчатых листов.

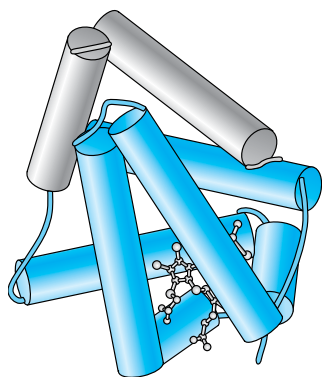


Рис. 3.8. Домены гемоглобина человека: цилиндры — α -спирали; связывающие их нити — аморфные участки (по PDB-2001) (Yang, J., Klock, A. P., Goldberg, D. E., Mathews, F. S.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 92, p. 4224, 1995)

Таким образом, можно отметить следующее.

- Водородные связи достаточно лабильны сами по себе, причем уязвимость их увеличивается при образовании вторичной структуры, так как карбоксильные и аминные группы могут взаимодействовать не только между собой, но и с водой. Оказалось, что вторичная структура является достаточно устойчивой только при образовании компактной белковой глобулы.
- Формирование вторичной структуры обусловлено последовательностью аминокислотных остатков в полипептидной цепи. Боковые радикалы, взаимодействуя друг с другом, индуцируют процесс образования пространственной структуры, наиболее стабильной ее конформации. Более того, оказалось возможным предсказать тип вторичной структуры наиболее точно для α -спиралей по сравнению с β -складчатыми листами.

3.1.3. Третичная структура белков

Пространственная структура зависит не от длины полипептидной цепи, а от последовательности аминокислотных остатков, специфичной для каждого белка, а также от боковых радикалов, свойственных соответствующим аминокислотам. Пространственную трехмерную структуру или конформацию белковых макромолекул образуют в первую очередь водородные связи, а также гидрофобные взаимодействия между неполярными боковыми радикалами аминокислот. Водородные связи играют огромную роль в формировании и поддержании пространственной структуры белковой макромолекулы. Водородная связь образуется между двумя электроотрицательными атомами посредством протона водорода, ковалентно связанного с одним из этих атомов. Когда единственный электрон атома водорода участвует в образовании электронной пары, то протон притягивается соседним атомом, образуя водородную связь. Обязательным условием образования водородной связи является наличие хотя бы одной свободной пары электронов у электроотрицательного атома. Что касается гидрофобных взаимодействий, то они возникают в результате контакта между неполярными радикалами, неспособными разорвать водородные связи между молекулами воды, которая вытесняется на поверхность белковой глобулы. По мере синтеза белка неполярные химические группировки собираются внутри глобулы, а полярные вытесняются на ее поверхность. Таким образом, белковая молекула может быть нейтральной, заряженной положительно или же отрицательно в зависимости от pH растворителя и ионогенных групп в белке. К слабым взаимодействиям относят также ионные связи и ван-дер-ваальсовы взаимодействия. Кроме того, конформация белков поддерживается ковалентными связями S—S, образующимися между двумя остатками цистеина. В результате гидрофобных и гидрофильных взаимодействий молекула белка спонтанно принимает одну или несколько наиболее термодинамически выгодных конформаций, причем, если в результате каких-либо внешних воздействий нативная конформация нарушается, возможно полное или почти полное ее восстановление. Впервые это показал К. Анфинсен на примере каталитически активного белка рибонуклеазы. Оказалось, что при воздействии мочевины или β -меркаптоэтанолом происходит изменение ее конформации и, как следствие, резкое снижение каталитической активности. Удаление мочевины приводит к переходу конформации белка в исходное состояние, и каталитическая активность восстанавливается.

Таким образом, конформация белков представляет собой трехмерную структуру, причем в результате ее образования многие атомы, находящиеся на удаленных уча-

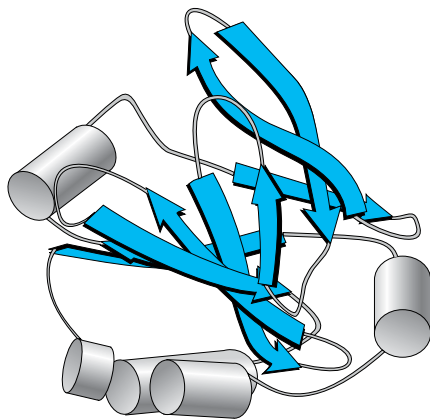


Рис. 3.9. Третичная структура лактоглобулина — типичного α/β -белка (по PDB-2001) (Brownlow, S., Marais Cabral, J. H., Cooper, R., Flower, D. R., Yewdall, S. J., Polikarpov, I., North, A. C., Sawyer, L.: Structure, 5, p. 481, 1997)

стках полипептидной цепи, сближаются и, воздействуя друг на друга, приобретают новые свойства, отсутствующие у индивидуальных аминокислот или небольших полипептидов. Это так называемая *третичная структура*, характеризующаяся ориентацией полипептидных цепей в пространстве (рис. 3.9). Третичная структура глобулярных и фибриллярных белков существенно отличается друг от друга. Принято форму белковой молекулы характеризовать таким показателем, как степень асимметрии (отношение длинной оси молекулы к короткой). У глобулярных белков степень асимметрии равна 3—5, что касается фибриллярных белков, то эта величина у них гораздо больше (от 80 до 150).

Каким же образом первичная и вторичная развернутые структуры преобразуются в свернутую, весьма стабильную форму? Расчеты показывают, что число теоретически возможных комбинаций образования трехмерных структур белков неизмеримо больше, чем реально существующих в природе. По-видимому, основным фактором конформационной стабильности являются энергетически наиболее выгодные формы.

Гипотеза расплавленной глобулы. Одним из способов изучения сворачивания полипептидной цепи в трехмерную структуру является денатурация и последующая ренатурация белковой молекулы.

Опыты К. Анфинсена с рибонуклеазой однозначно показывают возможность сборки именно той пространственной структуры, которая была нарушена в результате денатурации (рис. 3.10).

В данном случае восстановление нативной конформации не требует наличия никаких дополнительных структур. Какие же модели сворачивания полипептидной цепи в соответствующую конформацию являются наиболее вероятными? Одной из распространенных гипотез самоорганизации белка является гипотеза расплавленной глобулы. В рамках этой концепции выделяют несколько этапов самосборки белков.

1. В развернутой полипептидной цепи с помощью водородных связей и гидрофобных взаимодействий образуются отдельные участки вторичной структуры, служащие как бы затравками для формирования полных вторичных и супервторичных структур.

2. Когда число этих участков достигает определенной пороговой величины, происходит переориентация боковых радикалов и переход полипептидной цепи в новую более компактную форму, причем число нековалентных связей значительно увеличивается. Характерной особенностью этой стадии является образование специфических контактов между атомами, находящимися на удаленных участках полипептидной цепи, но оказавшихся сближенными в результате образования третичной структуры.

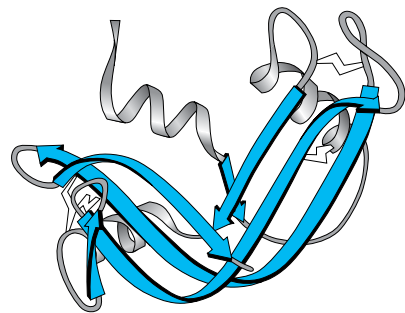


Рис. 3.10. Нативная структура рибонуклеазы

3. На последнем этапе формируется нативная конформация белковой молекулы, связанная с замыканием дисульфидных связей и окончательной стабилизацией белковой конформации. Не исключена также неспецифическая агрегация частично сверну-

тых полипептидных цепей, что можно квалифицировать как ошибки образования нативных белков. Частично свернутая полипептидная цепь (этап 2) называется расплавленной глобулой, а этап 3 является самым медленным при образовании зрелого белка.

На рис. 3.11 показан вариант образования белковой макромолекулы, кодируемой одним геном. Известно, однако, что ряд белков, имеющих домен-

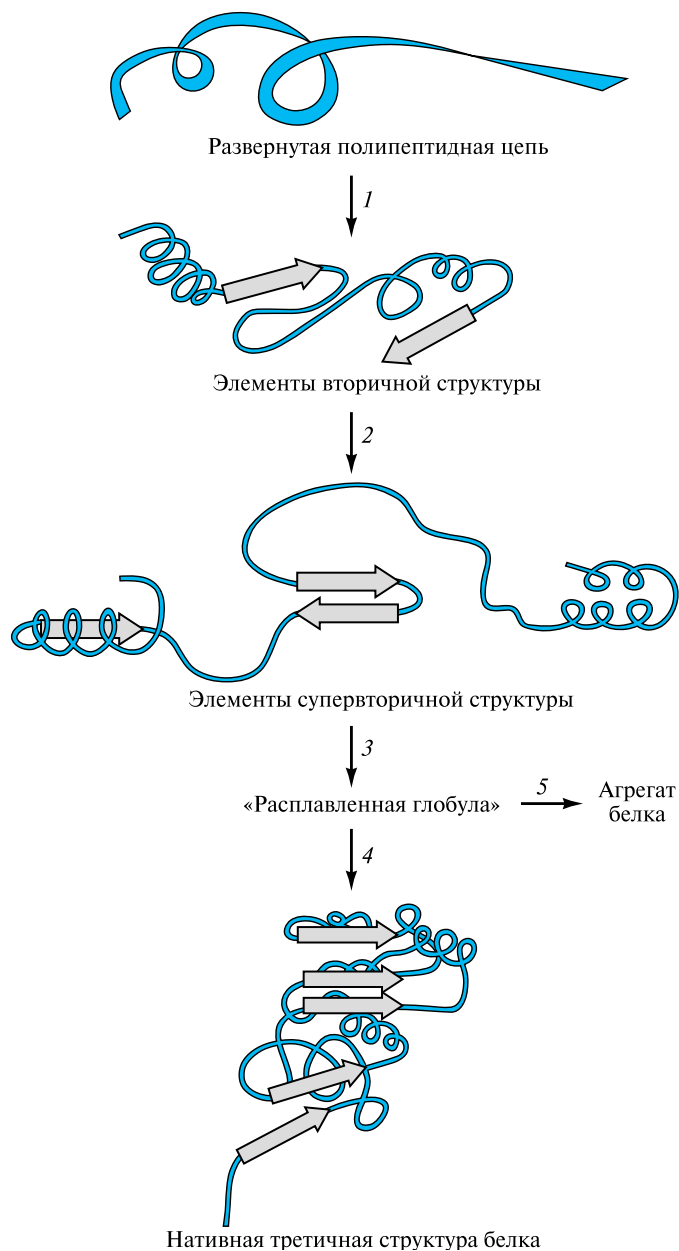


Рис. 3.11. Этапы сворачивания полипептидной цепи в нативную конформацию белка (по Н. К. Наградовой)

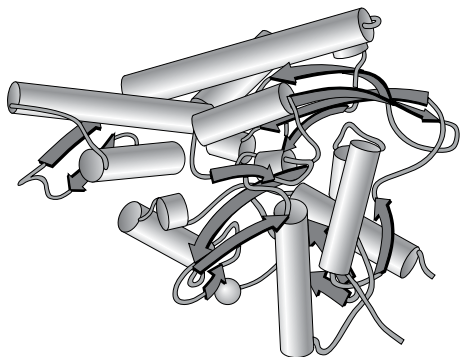


Рис. 3.12. Третичная структура шаперона hsp70 (по PDB-2001) (Prodromou, C., Roe, S. M., O'Brien, R., Ladbury, J. E., Piper, P. W., Pearl, L., Hne., Cell, 90, p. 65, 1997)

цепи является преобладающей, примерно 7% связей, образованных остатками пролина, находятся в *цис*-конформации. Эта реакция, приводящая к повороту цепи на 180°, в клетках катализируется при помощи фермента **пептидил-пролил-*цис/транс*-изомеразы**. Вторым ферментом, катализирующим образование и изомеризацию дисульфидных связей, является **протеиндисульфидизомераза**, в функции которой входит также расщепление неправильно образованных дисульфидных мостиков.

Кроме того, в клетках имеется ряд каталитически неактивных белков, которые тем не менее вносят большой вклад в образование пространственных структур белков. Это так называемые шапероны и шаперонины (рис. 3.12). Один из первооткрывателей молекулярных шаперонов, Л. Эллис, называет их функциональным классом не связанных друг с другом семейств белков, которые помогают правильной нековалентной сборке других полипептидсодержащих структур *in vivo*, но не входят в состав собираемых структур и не участвуют в реализации их нормальных физиологических функций.

Шапероны помогают правильной сборке трехмерной белковой конформации путем образования обратимых нековалентных комплексов с частично свернутой полипептидной цепью, одновременно ингибируя неправильно образованные связи, ведущие к формированию функционально неактивных белковых структур. В перечень функций, свойственных шаперонам, входит защита расплавленных глобул от агрегации, а также перенос новосинтезированных белков в различные локусы клеток. Шапероны преимущественно являются белками теплового шока, синтез которых резко усиливается при стрессовом температурном воздействии, поэтому их называют еще hsp (heat shock proteins). Семейства этих белков найдены в микробных, растительных и животных клетках. Классификация шаперонов основана на их молекулярной массе, которая варьирует от 10 до 90 kDa. В основном функции шаперонов и шаперонинов различаются, хотя и те, и другие являются белками-помощниками процессов образования трехмерной структуры белков. Шапероны удерживают новосинтезированную полипептидную цепь в развернутом состоянии, не давая ей свернуться в отличную от нативной форму, а шаперонины обеспечива-

ную структуру, формируется в результате дубликации генов, и образование контактов между отдельными доменами требует дополнительных усилий. Оказалось, что в клетках имеются специальные механизмы регуляции процессов сворачивания новосинтезированных белков. В настоящее время обнаружено два фермента, участвующих в реализации этих механизмов. Одной из медленных реакций третьего этапа сворачивания полипептидных цепей является *цис/транс*-изомеризация пептидной связи, предшествующей остатку пролина. Несмотря на то что *транс*-конформация в полипептидной

ют условия для образования единственно правильной, нативной структуры белка (рис. 3.13).

Шапероны 1 связаны с нансцентной полипептидной цепью, сходящей с рибосомы. После образования полипептидной цепи и выхода ее из рибосомы шапероны соединяются с ней и препятствуют агрегации 2. После сворачивания в цитоплазме белки отделяются от шаперона и переходят на соответствующий шаперонин, где и происходит окончательное образование третичной структуры 3. При помощи цитозольного шаперона белки перемещаются к внешней мембране митохондрии, где митохондриальный шаперон протягивает их вовнутрь митохондрий и «передает» митохондриальному шаперонину, где и происходит сворачивание 4, а 5 аналогично 4, но применительно к эндоплазматическому ретикулуму.

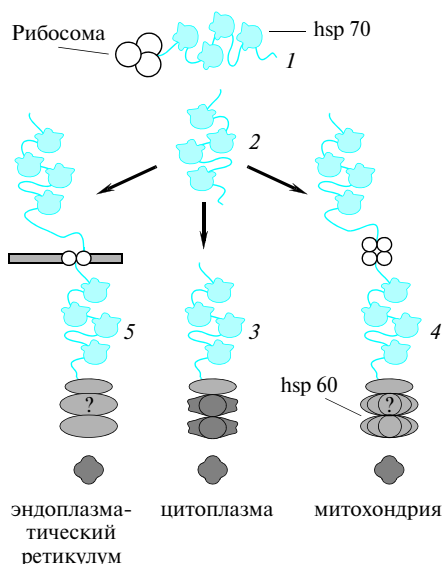


Рис. 3.13. Участие шаперонов и шаперонинов в сворачивании белка в цитоплазме клеток эукариот (по Н. К. Наградовой)

3.1.4. Четвертичная структура белков

Образование хаотично сформированных агрегатов является ошибкой, которая приводит к появлению функционально неактивных белков, поэтому в клетках предусмотрены механизмы быстрой их деградации и распада на отдельные аминокислоты. Однако в природе существует немало генетически детерминированных агрегатов, включающих в себя несколько полипептидных цепей, образующих большие белковые макромолекулы. Четвертичной структурой называют ассоциированные между собой две или более субъединиц, ориентированных в пространстве. По-видимому, более правильно применительно к четвертичной структуре белков говорить не об агрегатах, а об ансамблях глобул. Характеризуя четвертичную структуру белков, следует исключать ее псевдоварианты. Так, белковый гормон инсулин состоит из двух полипептидных цепей, но они не являются полноподправными глобулами, а образуются в результате ограниченного протеолиза единой полипептидной цепи (гл. 13.6)

Не являются белками с истинной четвертичной структурой и мультиферментные комплексы (гл. 6). Они представляют собой типичные надмолекулярные структуры. При образовании четвертичной структуры отдельные субъединицы взаимодействуют друг с другом исключительно при помощи нековалентных связей, в первую очередь водородных и гидрофобных. Весьма существенным является тот факт, что контактные поверхности взаимодействующих субъединиц комплементарны друг другу. В контактных участках расположены гидрофобные группировки, которые получили название «липкие пятна».

Взаимная ориентация электроотрицательных атомов, облегченная наличием комплементарных сайтов, способствует образованию большого числа водородных связей. Это обеспечивает реализацию кооперативного эффекта и

стабилизацию макромолекулы. Кроме того, множественность нековалентных связей является основой передачи структурных перестроек от одной субъединицы на другие.

Белки, имеющие четвертичную структуру, часто называют олигомерными. Различают *гомомерные* и *гетеромерные* белки. К гомомерным относятся белки, у которых все субъединицы имеют одинаковое строение. В качестве примера можно привести белок каталазу, состоящую из четырех абсолютно равноценных субъединиц. У гетеромерных белков отдельные субъединицы не только отличаются по строению, но и могут выполнять различные функции. Например, белок РНК-полимеразы состоит из пяти субъединиц различного строения и с неодинаковыми функциями (гл. 28).

3.2. Химический синтез и анализ белков

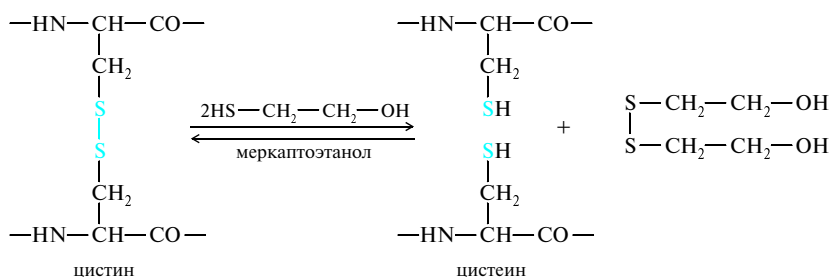
Синтез. Осуществление белкового синтеза химическим путем привлекало внимание многих исследователей. Метод твердофазного синтеза, разработанный Б. Меррифилдом, дал возможность получать достаточно большие полипептиды. Таким же способом был получен гормон инсулин, а его уже можно отнести к классу белков. В случае инсулина более трудной задачей было соединение двух полипептидных цепей в активную макромолекулу. К. Диксон и А. Уардлоу справились с этой задачей и положили основу химического синтеза белков. Однако несмотря на разработку автоматических синтезаторов, метод химического синтеза белков не получил широкого распространения из-за наличия большого числа технических ограничений. В природе небольшие полипептиды синтезируются с помощью соответствующих ферментов, основная же масса белков образуется посредством матричного синтеза.

Анализ. Методы анализа белковых макромолекул селективны и осуществляются в зависимости от того, какая структура является объектом исследования, и начинаются с определения аминокислотного состава. Для этого необходимо провести полный гидролиз пептидных связей и получить смесь, состоящую из отдельных аминокислот. Гидролиз проводят при помощи 6 М соляной кислоты при кипячении в течение 24 ч. Так как для гидролиза пептидных связей изолейцина и валина этого может быть недостаточно, проводят контрольный 48- и 72-часовой гидролиз. Некоторые аминокислоты, например триптофан, при кислотном гидролизе разрушаются, поэтому для их идентификации используют гидролиз при помощи метансульфоновой кислоты в присутствии триптамина. Для определения цистеина белок окисляют надмуравьиной кислотой, при этом цистеин превращается в цистеиновую кислоту, которую затем анализируют. Выделение и идентификацию аминокислот проводят при помощи аминокислотных анализаторов, принцип действия которых основан на хроматографическом разделении белкового гидролизата на сульфополистирольных катионитах. В основе количественного определения той или иной аминокислоты лежит цветная реакция с нингидрином, однако более перспективным следует считать метод, при котором аминокислоты модифицируют в производные, поглощающие свет в видимом диапазоне. Разделение смеси аминокислот проводят при помощи высокоэффективной жидкостной хроматографии, а само определение — спектрофотометрически. Следующим этапом является определение концевых аминных и карбоксильных

группировок в белковой макромолекуле. Это необходимо для того, чтобы знать, какой белок подвергается анализу — протомер или олигомер. Олигомерные белки предварительно обрабатывают надмуравьиной кислотой для разделения на отдельные полипептидные цепи. *N*-Концевую аминокислоту определяют при помощи динитрофторбензола, который реагирует с α -аминогруппой белка, образуя окрашенное в желтый цвет производное. Что касается *C*-концевых аминокислот, то их определение связано с применением ферментативного метода. В качестве фермента чаще всего используют карбокси-пептидазу А, которая последовательно отщепляет от карбоксильного конца отдельные аминокислоты. Суть метода заключается в количественном определении накопления свободных аминокислот во времени.

3.2.1. Определение первичной структуры белков

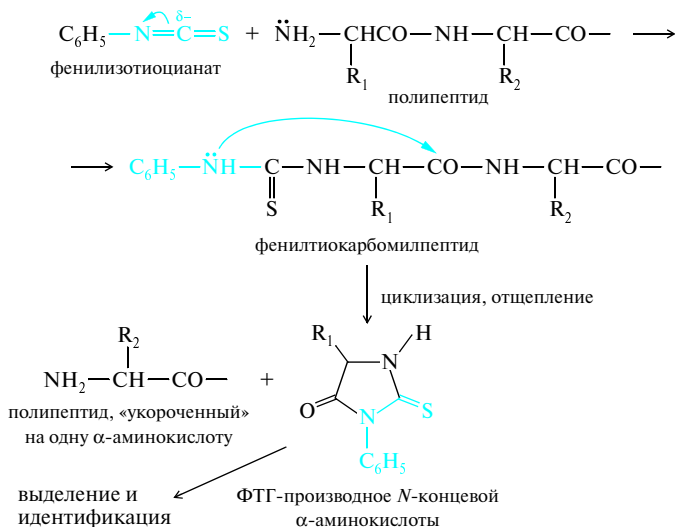
Определению первичной структуры предшествует денатурация и разрыв поперечных дисульфидных связей в белке. Это достигается посредством избытка меркаптоэтанола следующим образом:



Как видно из уравнения, цистин превращается в два остатка цистеина, которые затем блокируют избытком иодуксусной кислоты, чтобы предотвратить обратное образование связей —S—S—.

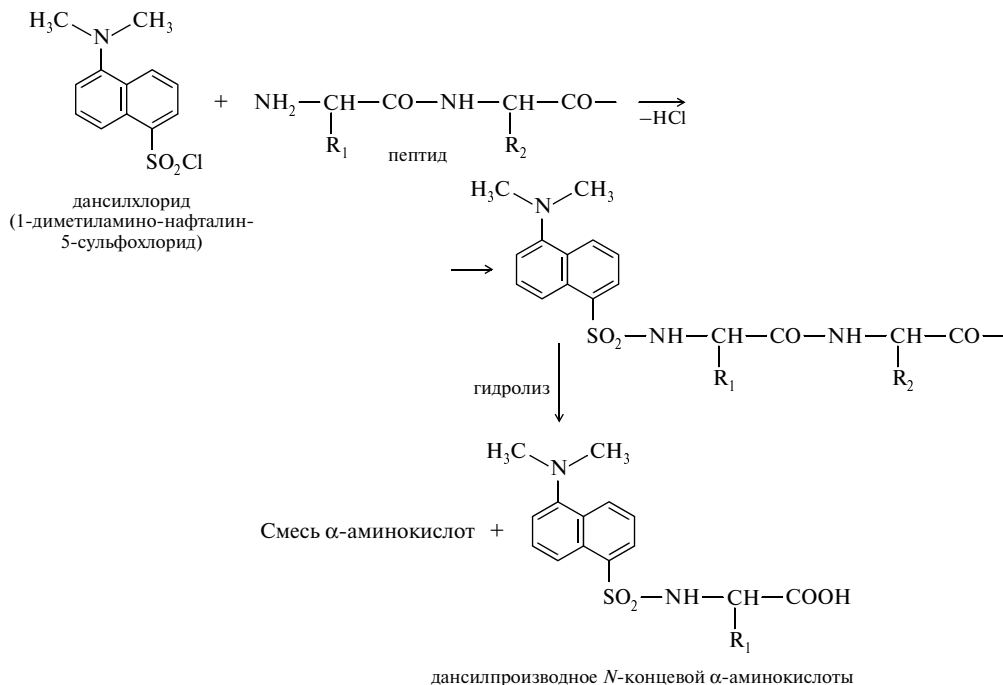
Расщепление полипептидной цепи на фрагменты проводят обычно при помощи протеолитических ферментов, таких, как трипсин, химотрипсин или пепсин. Эти ферменты действуют на различные участки полипептидной цепи, так как имеют повышенное сродство к различным аминокислотным остаткам. Необходимо учитывать также соседние аминокислотные остатки, т. е. пространственное окружение атакуемой пептидной связи. Оказалось, что трипсин гидролизует только те пептидные связи, в образовании которых участвует карбоксильная группа лизина или аргинина, а химотрипсин гидролизует связи по фенилаланину, триптофану и тирозину. Обычно протеолитические ферменты, гидролизующие полипептидные цепи, предварительно иммобилизуют на нерастворимых матрицах для более легкого отделения их от продуктов гидролиза. Далее определяют аминокислотные последовательности каждого полипептидного фрагмента. Для этого чаще всего используют метод Эдмана, заключающийся в анализе полипептида только с *N*-конца. Концевая аминокислота при взаимодействии с фенилизотиоцианатом в щелочной среде образует стойкое соединение, которое можно отщепить от полипептида без его деградации. Фенилтиогидантоиновое (ФТГ) производное аминокислоты идентифицируется хроматографическим методом. После идентификации концевого *N*-аминокислотного остатка метка вводится в следующий аминокислотный остаток,

который становится концевым. Метод Эдмана можно автоматизировать, используя секвенатор (от англ. *sequence* — последовательность), с помощью которого ФТГ-производные отщепляются от полипептида и идентифицируются посредством высокоэффективной жидкостной хроматографии:



Ф. Сэнгер впервые полностью расшифровал первичную структуру белкового гормона инсулина, используя метод Эдмана.

Другим высокочувствительным методом является так называемый дансильный метод, связанный с присоединением к концевой аминокислоте дансилхлорида (1-диметиламино-нафталин-5-сульфохлорида) по следующей схеме:



Первичная структура белка может быть установлена косвенно следующим образом: сначала получают соответствующую кДНК, затем идентифицируют клон, относящийся к анализируемому белку, и по чередованию в нем нуклеотидов с использованием библиотеки аминокислотных последовательностей определяют первичную структуру белка.

3.2.2. Определение вторичной структуры белков

Для определения вторичной структуры белков используются в основном оптические методы. Конечно, более надежным является рентгеноструктурный метод, однако его применение сопряжено с определенными трудностями и требует значительного времени. Такие оптические методы, как дисперсия оптического вращения и круговой дихроизм, являются более простыми и, что весьма важно, позволяют определять изменения вторичной структуры белка в растворах. При помощи дисперсии оптического вращения можно получить информацию о степени спирализации белковой макромолекулы. Несмотря на то что метод является приближенным, достаточно отчетливо просматриваются переходы типа спираль—клубок. Что касается метода кругового дихроизма, то его спектр определяется набором углов ϕ и ψ , свойственных тому или иному типу вторичной структуры. Оба метода можно расценивать как скрининговые, и для полной идентификации вторичной структуры их надо комбинировать с рентгеноструктурным анализом белков.

3.2.3. Определение третичной и четвертичной структур белков

Третичная и четвертичная структуры белков определяются при помощи рентгеноструктурного анализа, который впервые был проведен применительно к миоглобину и гемоглобину Дж. Кендрию и М. Перутцем в Кембридже. Значение рентгеноструктурного анализа белков трудно переоценить, так как именно этот метод дал возможность впервые получить своеобразную фотографию белковой молекулы. Для получения информативной рентгенограммы необходимо было иметь полноценный кристалл белка с включенными в него атомами тяжелых металлов, так как последние рассеивают рентгеновские лучи сильнее атомов белка и изменяют интенсивность дифрагированных лучей. Таким образом можно определить фазу дифрагированных на белковом кристалле лучей и затем электронную плотность белковой молекулы. Это впервые удалось сделать М. Перутцу в 1954 г., что явилось предпосылкой для построения приближенной модели молекулы белка, которая затем была уточнена при помощи ЭВМ. Однако первым белком, пространственная структура которого была полностью идентифицирована Дж. Кендрию, оказался миоглобин, состоящий из 153 аминокислотных остатков, образующих одну полипептидную цепь. В результате было экспериментально подтверждено предположение Л. Полинга и Р. Кори о наличии в молекуле миоглобина α -спиральных участков, а также М. Перутца и Л. Брэга о том, что они имеют цилиндрическую форму. Несколько позднее М. Перутцем была расшифрована структура гемоглобина, состоящая из 574 аминокислотных остатков и содержащая около 10 000 атомов. В отличие от миоглобина гемоглобин имеет четвертичную структуру, включающую в себя четыре глобулы: две α -субъединицы и две β -субъединицы. Оказалось, что отдельная субъединица гемоглобина по строе-

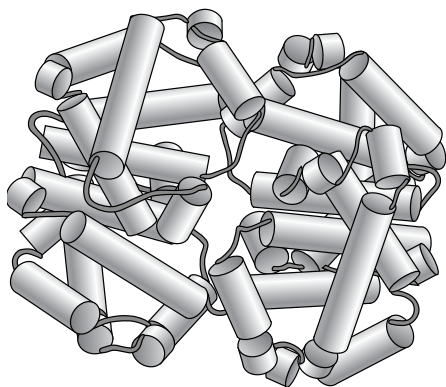


Рис. 3.14. Четвертичная структура гемоглобина (по PDB-2001) (Sutherland-Smith, A. J., Baker, H. m., Hofmann, O. M., Brittain, T., Baker, E. N.: J. Tame B. Vallone Cell, 90, p. 65, 1997)

нию очень похожа на молекулу миоглобина. Гемоглобин был получен из крови лошади, а миоглобин — из мышц кашалота, тем не менее эти белки имели близкое пространственное строение. Было также однозначно доказано, что расположение неполярных и полярных остатков аминокислот в молекулах как гемоглобина, так и миоглобина таково, что неполярные остатки полностью экранированы от контактов с водой (рис. 3.14).

Оказалось, что α - и β -цепи, образующие макромолекулу гемоглобина, имеют много общего в третичной структуре, в частности, почти идентичную степень спирализации. Этот белок достаточно консервативен, так как его третичная и четвертичная структуры у различных

видов позвоночных животных приблизительно одинаковы. Гемоглобин и миоглобин представляют единое семейство белков, образованное, возможно, путем дубликации одного предкового гена, что и предопределяет высокую их гомологию и сходные функции.

3.2.4. Определение молекулярной массы белков

Определение молекулярной массы белков возможно только в случае их хорошей растворимости. Одним из приемлемых методов является определение молекулярной массы по осмотическому давлению белковых растворов. Другой метод определения молекулярной массы основан на определении специфических групп, связанных известным соотношением с молем белка. Например, по содержанию железа в гемоглобине можно определить молекулярную массу последнего. Известно, что гемоглобин содержит 0,335% Fe, что соответствует молекулярной массе 16,5 kDa на атом железа. Так как известно, что 1 моль гемоглобина содержит 4 атома железа, его молекулярная масса составляет 66,8 kDa. Метод, разработанный Т. Сведбергом и основанный на ультрацентрифугировании белковых растворов, является наиболее точным для определения молекулярной массы большинства водорастворимых белков.

Принцип метода заключается в том, что на кинетическое движение молекул в растворе и равномерное их распределение накладываются большие центробежные силы, в результате чего белок седиментирует ко дну пробирки. Седиментационное равновесие и скорость седиментации, которая регистрируется оптическим методом, являются функциями молекулярной массы белка. Определение молекулярной массы по скорости седиментации описывается следующим уравнением:

$$M_r = RTS/D(1 - \rho p),$$

где M_r — молекулярная масса; R — газовая постоянная; T — абсолютная температура; S — константа седиментации белка; D — константа диффузии; ρ — плотность раствора; p — парциальный объем белка.

Определение формы молекулы. Белки по своей форме разделяют на глобулярные и фибриллярные. Форма молекул глобулярных белков динамична и под влиянием ряда факторов, например pH, температуры или ионной силы раствора, может изменяться. Это обязательно нужно учитывать при определении формы белка. Одним из наиболее точных методов, регистрирующих форму белковой молекулы, является метод двойного лучепреломления в потоке. Отклонение формы молекул от сферической выражается отношением фрикционных коэффициентов f/f_0 , которое для глобулярных белков, имеющих шарообразную форму, близко к 1 (f — молярный коэффициент трения). Зная величину f/f_0 , можно рассчитать соотношение осей молекулы белка.

3.3. Биологические функции белков

Множество химических связей, характерных для белковых макромолекул, предопределяет их функциональное многообразие. И действительно, белки обладают множеством различных биологических функций.

3.3.1. Каталитические белки

Наиболее многообразный класс белков относится к биологическим катализаторам, которые называют *ферментами* или *энзимами*. Ежесекундно в клетках протекает множество химических реакций, причем почти все они катализируются при помощи ферментов. В настоящее время выделено и идентифицировано более 2000 ферментов, катализирующих протекание разнообразных реакций в клетках и тканях.

3.3.2. Транспортные белки

Ряд белков выполняет функции переноса веществ из одного компартмента клетки в другой или между органами целого организма. Например, гемоглобин переносит кислород от легких к тканям и углекислый газ из тканей в легкие. В крови локализованы специальные транспортные белки — альбумины, переносящие различные эндогенные и экзогенные вещества. Имеются также специальные белки — пермеазы, переносящие различные вещества через биологические мембраны.

3.3.3. Регуляторные белки

В организме существует специальный класс белков, выполняющий регуляторные функции. В первую очередь к ним относятся гормоны белково-пептидной природы. Эти белки играют основополагающую роль в регуляции клеточной и физиологической активности. Например, гормон инсулин регулирует потребление клетками глюкозы, кальцитонин — содержание кальция в крови и костной ткани и т. д.

3.3.4. Защитные белки

Защитные белки представлены прежде всего антителами или иммуноглобулинами. Эти белки синтезируются в костном мозге и предохраняют организм от чужеродных веществ. Они обладают уникальным свойством распознавать чужеродные бактерии, вирусы или белки, связываться с ними и нейтрализовать.

К защитным относят белки комплемента, действие которых связано с лизисом клеточных стенок бактерий и других чужеродных веществ, а также фибриноген и тромбин, предохраняющие организм от потери крови.

3.3.5. Сократительные белки

Некоторые клетки и организмы способны сокращаться и перемещаться благодаря специальным белкам. К таким белкам относятся, в частности, актин и миозин, функционирующие в сократительной системе мышечной ткани. Другим белком, обеспечивающим перемещение клеток, является тубулин, входящий в состав микротрубочек — основных компонентов ресничек и жгутиков клетки.

3.3.6. Структурные белки

Структурные белки входят в состав мембран клеток и отличаются высокой степенью гидрофобности. Так называемые интегральные белки способствуют стабилизации клеточных мембран, но не обладают какой-либо функциональной активностью. К структурным белкам относятся также белки межклеточного матрикса, такие, как коллаген и ретикулин. Одним из основных компонентов связок является эластин, а кожи — коллаген. Что касается волос и ногтей, то они в основном состоят из очень прочного белка — кератина.

3.3.7. Рецепторные белки

Рецепторные белки играют важную роль при передаче нервного или гормонального сигнала в клетку или в ее некоторые компартменты. Рецепторы локализованы в мембранах, и механизмы передачи информации связаны в основном с изменениями конформации белка, поглощением или выделением энергии и т. д.

3.3.8. Запасные и питательные белки

Ряд белков используется клетками в качестве резервного, питательного материала. К ним относятся, в частности, **проламины** и **глутелины** — белки растений, преимущественно зерновых. Из животных белков можно отметить **овальбумин** — питательный белок птичьих яиц.

3.3.9. Токсические белки

Токсические белки представлены токсинами яда змей, скорпионов, пчел. Они характеризуются низкой молекулярной массой (до 10 kDa). Токсины растений и микроорганизмов более разнообразны по форме и молекулярной массе. Наиболее распространенные из них — дифтерийный и холерный токсины, рицин, абрин и др.

3.4. Классификация белков. Отдельные представители

Белки можно классифицировать как по их структуре, так и выполняемым многообразным функциям. Функциональное разнообразие было показано ранее, что касается структурных различий, то они связаны с формой белковых молекул, а также с наличием в их составе небелковых компонентов.

По форме молекулы белки делятся на два класса: глобулярные и фибриллярные белки.

3.4.1. Фибриллярные белки

Фибриллярные белки имеют вытянутую, нитевидную форму и состоят, как правило, из нескольких полипептидных цепей. Одним из первых фибриллярных белков был выделен и изучен **α -кератин**, из которого образуются волосы, перья, ногти и другие наружные защитные покровы позвоночных. Оказалось, что в α -кератине полипептидные цепи имеют форму вытянутой α -спирали. Этот белок полностью нерастворим в воде благодаря тому, что полипептидные цепи, его образующие, представлены в основном гидрофобными аминокислотами.

Представляет интерес конформация α -кератина, входящего в состав волос. Полипептидные цепи в форме α -спиралей прочно соединены друг с другом при помощи дисульфидных связей. Три α -спирали образуют суперспираль, затем 11 суперспиралей составляют *микрофибриллу*, которая, в свою очередь, входит в состав *макрофибриллы*. Макрофибриллы являются основой *кутикулы* — главного компонента клеток волос (рис. 3.15).

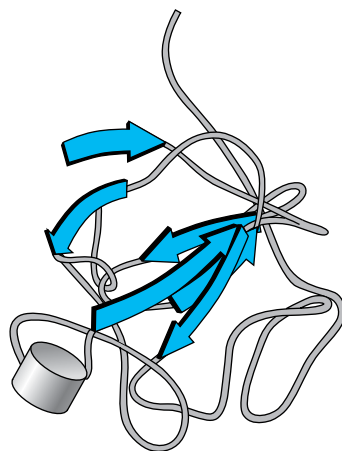


Рис. 3.15. Кристаллическая структура кератина (по PDB-2001) (Ye, S., Luo, Y., Lu, W., Jones, R. B., Linhardt, R. J., Capila, I., Toida, T., Kan, M., Pelletier, H., McKeethan, W. L.: Biochemistry, 40, p. 14 429, 2001)

3.4.2. Глобулярные белки

В отличие от фибриллярных белков, выполняющих в основном структурные функции, глобулярные белки имеют более сложную конформацию и гораздо более разнообразные функции. Их полипептидные цепи свернуты в компактные глобулы, и поверхностные радикалы аминокислот обладают высокой реакционной способностью.

3.4.3. Простые и сложные белки

Простые белки. Эти макромолекулы состоят только из аминокислотных остатков. Их классификация затруднена, так как большое разнообразие простых белков с трудом поддается какой-либо систематизации. Делаются попытки классифицировать белки по их заряду, растворимости, молекулярной массе и т. д., но такого рода классификация имеет весьма ограниченное значение. В качестве наиболее часто встречающихся простых белков можно отметить следующие.

Альбумины — белки животных и растительных тканей. Альбумин крови животных и человека состоит из одной полипептидной цепи, включающей в себя 575 аминокислотных остатков с повышенным содержанием аспарагиновой и глутаминовой аминокислот, его молекулярная масса равна 69 kDa. Это глобулярный белок, содержащийся в плазме крови и белке яиц, выполняет транспортные и питательные функции соответственно; его содержание дости-

гает 50% от общего количества белка в ткани. Богаты альбумином и растительные клетки. У сои различают два типа альбуминов с константами седиментации: 2S и 7S. В отличие от животных, растительные альбумины характеризуются повышенным содержанием метионина и триптофана.

Глобулины крови представлены α -, β - и γ -фракциями, каждая из которых является гетерогенной и состоит из нескольких белков. Общим для глобулинов крови является их низкая растворимость в воде и молекулярная масса порядка 150 kDa.

Глобулины растений также гетерогенны и состоят из двух фракций с константами седиментации 11S и 7S. Одним из представителей 11S-глобулинов является глицинин. Этот белок, выделенный из сои, имеет молекулярную массу порядка 300—400 kDa и характеризуется повышенным содержанием аргинина, аспарагина и глутамина. Он состоит из 12 субъединиц, каждая из которых содержит 6 различных полипептидных цепей.

Гистоны — ядерные белки, играющие важную роль в регуляции генной активности. Они найдены во всех эукариотических клетках и разделены на пять классов (H_1 , H_2 , H_3 , H_4 , H_5), различающихся по молекулярной массе и аминокислотному составу. Молекулярная масса гистонов находится в интервале от 11 до 22 kDa, а различия в аминокислотном составе касаются лизина и аргинина, содержание которых варьирует от 11 до 29% и от 2 до 14% соответственно.

Протамины — положительно заряженные ядерные белки с молекулярной массой 10—12 kDa. Так же как и гистоны, они принимают участие в регуляции генной активности. Они примерно на 80% состоят из щелочных аминокислот, что дает им возможность взаимодействовать с нуклеиновыми кислотами посредством ионных связей.

Сложные белки. Как правило, эти белки классифицируют по небелковому компоненту.

Липопротеины составляют большую группу сложных белков. Эти макромолекулы в значительных количествах находятся в митохондриях, из них в основном состоит эндоплазматический ретикулум, их обнаруживают и в плазме крови, и в молоке. Как правило, липопротеины — это большие молекулы. Их молекулярная масса достигает миллиона дальтон. Гидрофильность белковой и гидрофобность простетической групп липопротеинов определяют ту роль, которую они играют в процессах избирательной проницаемости. Липиды, входящие в состав липопротеинов, отличаются по строению и биологическим свойствам. В частности, в составе липопротеинов открыты нейтральные липиды, фосфолипиды, холестерин и др. Липидный компонент соединяется с белком при помощи нековалентных связей различной природы. Так, нейтральные липиды соединяются с белком посредством гидрофобных связей. Если же в образовании липопротеина участвует фосфолипид, то он взаимодействует с белком при помощи ионных связей.

Гликопротеины — содержат в своем составе гликозидные компоненты различной природы, ковалентно связанные с белком. Небольшие олигосахаридные группы могут присоединяться к белкам через *O*-гликозидную связь к гидроксилу остатков серина или треонина, а также через *N*-гликозидную связь к амидному азоту аспарагина. Гликопротеинами являются многие структурные белки, ферменты, рецепторы и т. д. Большинство белков, расположенных на

внешней поверхности животных клеток, являются гликопротеинами. В плазме крови также содержится большое количество гликопротеинов. Следует отметить группу гликозамингликанов, в которых в качестве небелкового компонента находятся кислые мукополисахариды. Содержание углеводного компонента в гликопротеинах варьирует в широких пределах (от 1 до 30% массы всей молекулы). Более того, на одну полипептидную цепь может приходиться несколько линейных или разветвленных углеводных цепей.

В углеводном компоненте гликопротеинов обнаружены такие моносахариды, как D-галактоза, D-манноза, D-глюкоза, *N*-ацетилгалактозамин, *N*-ацетилглюкозамин и др.

Фосфопротеины в качестве простетической группы содержат ортофосфорную кислоту, связанную с гидроксилом серина или треонина. К фосфопротеинам относятся многие питательные белки, например основной белок молока — казеин, который кроме фосфорной группы имеет также в своем составе углеводный компонент. Белок яичного желтка — вителлин, икры рыб — ихтулин.

Хромопротеины — сложные белки, в состав которых входят окрашенные небелковые компоненты. Наиболее распространенными представителями хромопротеинов являются флавопротеины, у которых в качестве небелковых компонентов включены флавиномононуклеотид и флавинадениндинуклеотид, а также гемопроотеины, красное окрашивание которых обусловлено наличием гема с включенным в него железом. Этот пигмент представляет собой плоскую структуру, состоящую из четырех пиррольных колец, в центре координации которых находится атом железа. Координационное число железа в составе гема равно 6, причем четыре связи заняты азотами пиррольных колец, пятая связывает гем с белком, а шестая — занята тем или иным лигандом. Пиррольные кольца соединены метиновыми мостиками, образуя тетрапиррольное кольцо, к которому присоединены винильные, метильные и пропионатные группировки (рис. 3.16).

Гем является простетической группой всего семейства гемопроотеинов, наиболее известный представитель которых гемоглобин переносит кислород от альвеол легких к тканям.

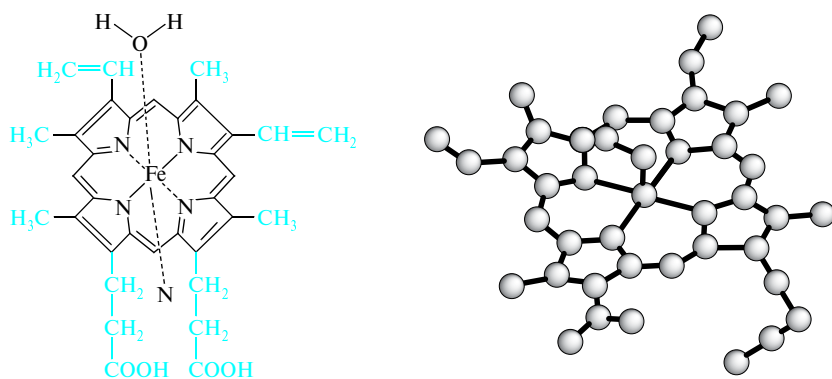


Рис. 3.16. Строение гема

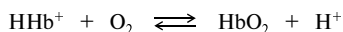
Все гемоглобины независимо от источника получения образуют четвертичную структуру и состоят из четырех субъединиц, представляющих две идентичные пары типа: $\alpha_2\beta_2$. Интересно отметить, что α - и β -цепи имеют высокую (более 50%) степень гомологии. Четыре полипептидных цепи образуют тетраэдр, структура которого стабилизирована множественными нековалентными связями. Каждая полипептидная цепь определенным образом уложена вокруг плоского кольца гема, причем характер этой укладки достаточно консервативен, т. е. почти одинаков для всех гемоглобинов. Первичная структура гемоглобина была расшифрована в 1962 г. Г. Браунитцером, а пространственная структура М. Перутцем и соавторами годом раньше. У млекопитающих α -цепи гемоглобина отличаются от β -цепей как по числу аминокислотных остатков, так и по степени гомологии (различия примерно по 80 аминокислотам). Гем локализован в складках α - и β -субъединиц, каждая полипептидная цепь при этом содержит один гем. Тетрамер гемоглобина представляет собой почти правильную глобулярную структуру размером $64 \times 60 \times 50$ нм, на поверхности которой в гидрофобных углублениях расположены гемы.

Идентичные субъединицы в тетрамере расположены параллельно друг другу и почти перпендикулярно по отношению к другой паре субъединиц. Присоединение гема к глобину вызывает изменения в структуре последнего, причем увеличивается степень спирализации, формируются дополнительные связи между отдельными субъединицами, т. е. макромолекула становится более стабильной. Связи между идентичными субъединицами, как правило, неполярны, хотя наблюдаются единичные солевые мостики. Образование связей в гемоглобине имеет обратимый характер, причем присоединение к железу гема того или иного лиганда также влияет на способность α - и β -цепей контактировать друг с другом. Так, если α_1 -субъединицу считать фиксированной в пространстве, то α_2 -цепь при присоединении лиганда поворачивается на 16° и сдвигается на 2,1 нм; β_2 -субъединица поворачивается на $13,5^\circ$ и смещается на 1,9 нм. При присоединении молекулы кислорода к гемоглобину происходит ряд существенных структурных перестроек последнего, облегчающих присоединение следующих молекул кислорода. В дезоксигемоглобине железо не находится строго в плоскости пиррольных колец, а смещено на 0,25 нм. Молекула кислорода после контакта с гемоглобином проникает вовнутрь геминового кармана и взаимодействует с железом. В результате железо гема перемещается точно в плоскость протопорфиринового кольца, что приводит к соответствующему смещению гистидинового остатка, соединенного с железом, и всей полипептидной цепи, в которой он локализован. Изменения в одной субъединице молекулы гемоглобина обуславливают соответствующие изменения других субъединиц, выгодные для присоединения молекул кислорода. Таким образом, присоединение первой молекулы кислорода происходит достаточно медленно и обязательно при высоком парциальном давлении кислорода, что и имеет место в альвеолах легких. Далее скорость присоединения кислорода к гемоглобину увеличивается по нарастающей и скорость присоединения четвертой его молекулы выше, чем первой, более чем в 300 раз. Таким образом, реализуется кооперативный эффект взаимодействия гемоглобина с кислородом, что обеспечивает максимальное образование оксигемоглобина. Четвертичная структу-

ра дезоксигемоглобина обозначается как Т-форма (Tense — напряженная), а структура оксигемоглобина — как R-форма (Relaxed — релаксированная). Миоглобин, состоящий из одной полипептидной цепи, также присоединяет кислород в тканях, однако отсутствие четвертичной структуры является препятствием для реализации кооперативного эффекта, поэтому кривые насыщения гемоглобина и миоглобина имеют различную форму (рис. 3.17).

Парциальное давление кислорода максимально в легких и минимально в других различных тканях организма. Из представленных кривых (рис. 3.17) видно, что сродство миоглобина к кислороду выше, чем гемоглобина. Следующее различие заключается в том, что кривая насыщения кислородом в случае миоглобина имеет гиперболическую форму, а для гемоглобина — сигмоидную.

Способность гемоглобина связывать кислород зависит от ряда факторов. Было обнаружено, в частности, что на связывание гемоглобином кислорода большое влияние оказывает рН среды и содержание CO_2 . В тканях, где значение рН несколько меньшее по сравнению с легкими, а концентрация CO_2 достаточно высока, сродство гемоглобина к кислороду снижается, кислород отделяется, а CO_2 и протон водорода присоединяются к гемоглобину. Напротив, в альвеолах легких при освобождении CO_2 происходит повышение рН и сродство гемоглобина к кислороду увеличивается (рис. 3.18). Этот феномен называется *эффектом Бора* в честь ученого, впервые открывшего это явление. В реализации данного эффекта кроме гемоглобина и кислорода участвуют CO_2 и протон водорода. Дезоксигемоглобин представляет собой протонированную форму пигмента. Реакцию оксигенации можно записать следующим образом:



причем направление реакции зависит от концентрации ионов водорода. В эритроцитах присутствует еще один регулятор сродства гемоглобина к кисло-

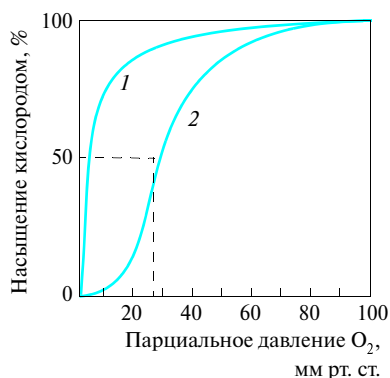


Рис. 3.17. Кривые насыщения кислородом:
1 — миоглобин; 2 — гемоглобин

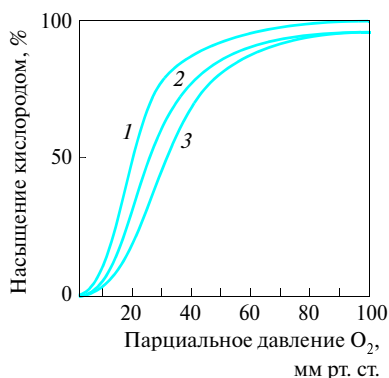


Рис. 3.18. Влияние рН на сродство кислорода к гемоглобину:
1 — рН 7,6; 2 — рН 7,4; 3 — рН 7,2
(при рН 7,2, характерном для тканей, сродство кислорода к гемоглобину заметно меньше, чем в легких, для которых рН равно 7,6)

роду. Это 2,3-дифосфоглицерат, который избирательно взаимодействует с дез-оксигемоглобином, что приводит к стабилизации его структуры, а именно Т-формы. Это, в свою очередь, понижает сродство к кислороду и способствует его высвобождению при более низком парциальном давлении.

Глава 4

СВОЙСТВА БЕЛКОВ. ВЫДЕЛЕНИЕ И ОЧИСТКА. ПРИМЕНЕНИЕ БЕЛКОВ

4.1. Физико-химические свойства белков

Подобно аминокислотам, белки сочетают в себе как кислотные, так и основные свойства. Являясь амфотерными полиэлектролитами, белки тем не менее существенно отличаются от свободных аминокислот, кислотно-основные свойства которых обусловлены α -амино- и α -карбоксильными группами. В белках основной вклад в формирование кислотно-основных свойств вносят заряженные радикалы аминокислотных остатков, расположенные на поверхности белковой глобулы. Основные свойства белков связаны с такими аминокислотами, как аргинин, лизин или гистидин, а кислые — с аспарагиновой и глутаминовой аминокислотами. Что касается α -аминных и α -карбоксильных групп аминокислот, то их ионизация не имеет существенного значения, так как подавляющее их число участвует в образовании пептидных связей. Кривые титрования белков достаточно сложны для интерпретации. Это связано, во-первых, с наличием большого числа титруемых групп, а также с тем, что pK для каждой титруемой группы в белке может существенно отличаться от таковой в аминокислоте. Это связано с электростатическими взаимодействиями между ионизированными группами белка, наличием близко расположенных гидрофобных остатков, а также влиянием водородных связей.

В процессе титрования белка от предельно кислой до предельно основной формы должно существовать такое значение pH , при котором суммарный заряд белка равен нулю. Это значение pH носит название *изоэлектрическая точка* (pI). При значении pH , равном изоэлектрической точке, белок максимально инертен, не перемещается в электрическом поле и имеет наиболее тонкую гидратную оболочку. Большинство белков имеют изоэлектрическую точку при нейтральных или близких к ним значениях pH , однако есть ряд исключений, например, для фермента желудочного сока пепсина $pI = 1,4$, а для фермента рибонуклеазы — 10,5. Если в белковом растворе нет никаких ионов, кроме ионизированных аминокислотных остатков, то такие растворы называются *изоионными*.

Белки, будучи амфотерными электролитами, проявляют буферные свойства, хотя их буферная емкость в большинстве случаев незначительна. Исключение составляют белки, содержащие большое число остатков гистидина, на-

пример гемоглобин, обеспечивающий стабильные значения рН внутри эритроцитов.

Растворимость белков зависит от рН, а также от ионной силы раствора, которая определяется по уравнению

$$\mu = 1/2 \sum cz^2,$$

где μ — ионная сила раствора; c — молярная концентрация; z — заряд иона.

При высокой ионной силе белкового раствора наблюдается конкуренция между белковыми молекулами и ионами соли за молекулы воды. Степень гидратации белка снижается, взаимодействие белок—белок при этом становится эффективнее, чем белок—вода, и белок осаждается. Растворимость многих белков при этом связана с ионной силой раствора следующим уравнением:

$$\lg S = \beta' - K_S \mu,$$

где S — растворимость, г/л; β' — растворимость белка в гипотетическом растворителе при ионной силе, равной нулю; K_S — константа высаливания.

В растворах белки проявляют коллоидные свойства, такие, как явление светорассеяния (эффект Тиндаля), неспособность проходить через полупроницаемые мембраны, высокая вязкость, образование гелей и др. Вместе с тем белки не являются истинными коллоидами, так как они способны образовывать молекулярные растворы. Основное сходство между коллоидными частицами и белками заключается в том, что они имеют более или менее близкие размеры. Белки так же, как и истинные коллоиды, могут образовывать гели, представляющие собой сетчатые структуры, заполненные водой.

4.2. Денатурация белков

Под денатурацией понимают изменение пространственной структуры белков и, как следствие, уменьшение или полное подавление функциональной активности, растворимости и других биологических и физико-химических свойств. Следует различать денатурацию и деградацию белков. При деградации происходит фрагментация первичной структуры и образование фрагментов белковой макромолекулы. Денатурация не сопровождается фрагментацией, однако может происходить разрыв дисульфидных мостиков, а также слабых водородных, гидрофобных и электростатических связей. В результате изменениям подвергается четвертичная (при ее наличии), третичная и в меньшей степени вторичная структуры.

Денатурирующие агенты делятся на химические и физические. К последним относится прежде всего температурное воздействие, в частности замораживание или нагревание, а также давление, ультразвуковое воздействие, облучение и др. Химические агенты — это органические растворители (ацетон, хлороформ, спирт), концентрированные кислоты, щелочи, ионы тяжелых металлов. В лабораторной практике в качестве денатурирующих агентов чаще всего используют мочевины или гуанидинхлорид, легко разрывающие водородные и гидрофобные связи, при помощи которых формируется третичная структура белка. Максимальное денатурирующее действие оба реагента прояв-

ляют при высоких концентрациях (8—10 моль/л). Тепловая денатурация белков в растворах при 50—60 °С также связана с разрывом связей, при помощи которых образуется третичная структура. Денатурация, осуществляемая в мягких условиях, часто оказывается обратимой, т. е. при удалении денатурирующего агента происходит восстановление нативной конформации белковой молекулы. Для ряда белков восстановление связей может быть 100%-м, причем это касается не только водородных или гидрофобных связей, но и дисульфидных мостиков. Денатурация изменяет как стабильность, так и функции белков, поэтому весьма важно определять ее характер в научных экспериментах, а также при применении белков в промышленности и медицине. Как правило, при денатурации изменяется форма белковой молекулы, поэтому для контроля ее нативности применяют такие методы, как коэффициент вращательной диффузии, рассеяние света, электронная микроскопия. Кроме того, при переходе молекулы белка в денатурированную форму меняется ее растворимость, спектры поглощения, иммунохимические свойства.

4.3. Выделение и очистка белков

Для изучения структур и функций белков требуется выделение и очистка их с минимальным количеством примесей, а в идеале — до гомогенного состояния. Связи, поддерживающие высшие структуры белковых макромолекул, легко разрываются, число гидрофобных и гидрофильных группировок на поверхности белковых глобул изменяется, что сказывается в первую очередь на их растворимости. Для выделения белков из клеток последние разрушаются, причем если для деградации цитоплазматических мембран животных клеток достаточно применения гомогенизаторов, то разрушение клеточных стенок растительных и особенно микробных клеток требует больших усилий (ультразвук, шаровые мельницы и т. д.).

После удаления остатков клеточных структур при помощи диализа освобождаются от различных малых молекул. Затем последовательно используют различные методы фракционирования.

Высаливание. Высокие концентрации сульфата аммония, а также солей щелочных металлов осаждают белки. Механизм осаждения связан со способностью солей разрушать гидратную оболочку растворенных белковых макромолекул, что приводит к их агрегации и последующему осаждению. Далее используют ряд методов концентрирования и тонкой очистки белков, причем наиболее эффективными являются различные хроматографические процедуры. К преимуществам хроматографических методов следует отнести:

- технологическую гибкость — разделение веществ можно осуществлять при реализации различных типов межмолекулярных взаимодействий сорбент—сорбат;
- динамичность, т. е. большое преимущество перед такими одноактными методами, как экстракция и осаждение. Концентрирование продукта в этом случае состоит в селективности взаимодействия хроматографического носителя с целевым веществом, содержащимся в многокомпонентной смеси;
- вещества в процессе хроматографического разделения, как правило, не подвергаются химическим изменениям.

4.3.1. Хроматографические методы, применяемые на стадии концентрирования

Существуют различные модификации хроматографических методов. На стадии концентрирования, как правило, применяются различные методы.

Адсорбционная хроматография. В этом хроматографическом методе используется различие в относительном сродстве соединений к твердому адсорбенту, взятому в качестве неподвижной фазы.

Распределительная хроматография. В распределительной хроматографии применяется различная относительная растворимость (распределение) веществ между подвижной фазой и жидкой фазой, удерживаемой неподвижно на пористом инертном носителе.

Ионообменная хроматография. В ионообменной хроматографии используется различное сродство ионов раствора к ионообменным центрам противоположной полярности в неподвижной фазе, т. е. в ионообменниках белки связываются обычно с помощью электростатических сил, возникающих между заряженными поверхностями белков и плотными кластерами заряженных групп самого ионообменника. Установлено также, что белковые молекулы образуют с ионитами, кроме ионных, еще и другие типы связей, например водородные и гидрофобные.

Фронтальная ионообменная хроматография. Метод фронтальной хроматографии состоит в фильтрации раствора, содержащего несколько сорбирующихся веществ, через колонку с сорбентом. Вследствие различий в сорбционных свойствах отдельных компонентов смеси в колонке образуется ряд зон,двигающихся с различными скоростями (так называемая первичная хроматограмма).

В последнее время фронтальная хроматография на ионитах получила практическое применение как для препаративных, так и для аналитических целей и становится одной из основ новой технологии получения биопрепаратов и физиологически активных веществ.

4.3.2. Хроматографические методы, применяемые на стадии тонкой очистки

После стадии концентрирования получается продукт или сырец, содержащий 50—80% целевого вещества. На заключительных стадиях выделения и очистки применяют различные хроматографические методы.

Молекулярно-ситовая хроматография. При данном виде хроматографии используется способность материалов с контролируемой пористостью сортировать и разделять компоненты смеси в соответствии с размерами и формой их молекул. Для осуществления процесса гель-хроматографии используются гели поперечно-емкостного декстрана (сефадексы и сефакрилы), поперечно-сшитые полиакриламидные гранулы (биогели), агарозные гели с выраженными в них цепями акриламидного полимера (ультрагели) и более жесткие поперечно-сшитые агарозы (CL-агарозы и сефакрилы-S), с помощью которых можно быстро разделить макромолекулы в соответствии с их размером. Степень удерживания растворенного вещества на колонке зависит от его способности проникать в поры геля. Поэтому при гель-фильтрации сначала выходят высокомолекулярные вещества, а затем вещества в порядке убывания их моле-

кулярных масс, т. е. гель выполняет роль молекулярного сита. Этот способ особенно эффективен на заключительных стадиях выделения и очистки веществ.

Аффинная хроматография. Данный метод заключается в использовании иммобилизованного на матрице специфического соединения — лиганда, способного специфически и обратимо связываться только с белками и ферментами, имеющими сродство к данному лиганду. В аффинной хроматографии используют различные нерастворимые сорбенты. Так, все большее распространение получают поперечно-сшитые гранулы агарозы.

Иммуноадсорбция. Абсолютно специфическим адсорбентом для любого фермента или белка является антитело к этому белку, которое связано с нерастворимой матрицей. Антитела обладают высокой избирательностью только к тем белкам, против которых они были получены. Поэтому при использовании иммуноадсорбентов можно получить препараты фермента более чистые, чем при использовании на других типах аффинных адсорбентов.

Фронтально-вытеснительный вариант хроматографии. В этом случае используются значительные изменения коэффициентов распределения и эффективных коэффициентов диффузии целевого вещества при «малых» изменениях физико-химических свойств элюирующего раствора.

Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ). Этот вид хроматографии является важнейшим методом анализа и препаративного разделения биологически активных веществ. ВЭЖХ — это современная форма реализации классической хроматографии колоночного типа; она отличается возможностью выделять высокоочищенные вещества из сложной смеси, включающие в том числе и близкие по свойствам компоненты. При этом в рамках одного хроматографического эксперимента можно получить ряд высокоочищенных или индивидуальных компонентов.

К преимуществам ВЭЖХ относятся:

- высокая скорость процесса, позволяющая сократить продолжительность разделения от нескольких суток до минут;
- минимальная степень размывания хроматографических зон, что дает возможность разделять соединения, лишь незначительно различающиеся по константам сорбции;
- высокая степень механизации и автоматизации разделения и обработки информации, благодаря чему колоночная жидкостная хроматография достигла нового уровня воспроизводимости и точности.

К недостаткам метода ВЭЖХ, резко ограничивающим возможности его широкого использования, следует отнести дороговизну процессов, протекающих при повышенном давлении с использованием микрогранульных сорбентов, а следовательно, и высокой стоимости продуктов. Кроме того, основополагающие принципы ВЭЖХ затрудняют масштабирование процесса, что также ограничивает области применения ВЭЖХ.

Существуют различные варианты ВЭЖХ.

Нормально-фазовая хроматография. При данном варианте ВЭЖХ подвижная фаза менее полярна, чем неподвижная, и основным фактор, определяющий удерживание, — это взаимодействие сорбатов непосредственно с поверхностью либо с внутренним объемом сорбента.

Обращенно-фазовая хроматография. При этом варианте ВЭЖХ подвижная фаза более полярна, чем неподвижная, и удерживание определяется непосредственным контактом молекул сорбата с поверхностью или объемом сорбента: при этом ионизированные сорбаты не обмениваются на ионы подвижной фазы, сорбируемые — на поверхности.

Ионообменная хроматография. При ионообменной хроматографии сорбция осуществляется путем обмена сорбированных ионов подвижной фазы на ионы хроматографируемых веществ. Аналогичным образом можно определить лигандообменную хроматографию.

Хроматография на динамически модифицированных сорбентах. Это вариант ВЭЖХ, при котором сорбат не взаимодействует непосредственно с поверхностью сорбента, а вступает в ассоциацию с молекулами поверхностных слоев элюента. Состав этих слоев, находящихся в динамическом равновесии с подвижной фазой, отличается от среднего для данного эксперимента состава подвижной фазы.

Ион-парная хроматография. Это такой вариант обращенно-фазовой хроматографии ионизированных соединений, при котором в подвижную фазу добавляется гидрофобный противоион, качественно изменяющий сорбционные характеристики системы.

Эксклюзионная хроматография. Это способ разделения соединений по их молекулярным массам, основанный на различии в скорости диффузии в порах неподвижной фазы молекул различных размеров.

Рассмотрим подробно наиболее распространенные виды ВЭЖХ.

В настоящее время из всех вариантов ВЭЖХ наиболее широко применяется обращенно-фазовая. Ее преимущество определяется методической простотой и универсальностью, во многих случаях — простотой механизма сорбции.

Термин *обращенно-фазовая хроматография* ввел А. Мартин в 1950 г. В отличие от других, ранее применявшихся систем распределительной хроматографии, здесь неподвижная фаза менее полярна, чем подвижная, что, собственно, и послужило поводом к такому названию.

Основными достижениями современной обращенно-фазовой ВЭЖХ как метода разделения белков является разработка неподвижных фаз с большим размером пор (больше 10 нм). Эти фазы обладают большой селективностью и обеспечивают большой выход продукта. Отличные хроматограммы получены на неподвижной фазе на основе силикагеля с порами размером 33 нм. На этих колонках были разделены такие высокомолекулярные белки, как коллаген, сывороточный альбумин, овальбумин, цепи фибриногена, молекулярная масса большинства соединений составляла от 40 до 300 kDa. Выход белкового компонента достигал 85%.

4.3.3. Гель-фильтрация

Гель-фильтрация относится к важнейшим методам, применяемым для очистки ферментов и других белков. Чаще всего она используется на завершающих этапах технологических схем выделения и очистки.

Основные принципы метода просты. Гель состоит из открытой поперечно-сшитой полимерной структуры, сформированной в виде шариков (гранул). Поры внутри гранул имеют такие размеры, что некоторые из них недоступны

для крупных молекул, тогда как более мелкие молекулы могут проникать во все поры. Недоступность пор обусловлена тем, что они или слишком узки для молекул, или, если даже достаточно широки, не имеют каналов, выходящих на поверхность гранул. В настоящее время принято считать оптимальными такие условия потока, при которых все доступные поры заполнены молекулами проходящего по колонке белка. Таким образом, здесь действуют равновесные, а не кинетические факторы.

Поведение молекул в колонке при гель-фильтрации может быть описано несколькими способами. Его можно выразить следующим уравнением:

$$K_{cp} = (V_e - V_0)/(V_t - V_0),$$

где K_{cp} — коэффициент, определяющий долю пор, которые может занимать эта молекула; V_e — объем элюции рассматриваемой молекулы; V_t — общий объем колонки; V_0 — свободный объем (между гранулами геля).

4.4. Белки в промышленности и медицине

В последние годы белки растительного происхождения все в большей степени используют для питания не только животных, но и человека. Прямое потребление человеком растительных белков касается в первую очередь зерновых культур, бобовых, а также различных других овощей. Выделение высокоочищенных белков (изолятов) происходит в несколько стадий. На первой стадии белки избирательно переводятся в растворимое состояние. Эффективность разделения твердой (примеси) и жидкой (белки) фаз является залогом получения в дальнейшем высокоочищенного продукта. В большинстве случаев белки из растительных источников являются альбуминами или глобулинами, причем глобулины растворимы в слабых солевых растворах, а альбумины — еще и в чистой воде. Белковый экстракт содержит много сопутствующих растворимых продуктов, поэтому на второй стадии белки отделяют осаждением или, используя различия в размерах или в электрическом заряде, применяют мембранную технологию, а также другие приемы (электродиализ, ионообменные смолы, молекулярные сита и др.). Когда оптимальные условия растворимости белков определены, выбор конкретного технологического процесса зависит от вида сырья и целевого продукта.

Производство белковых продуктов методом микробиологического синтеза имеет многовековую историю. Следует отметить, что питательные свойства микробной биомассы во многом определяются белками, составляющими большую часть сухой массы клеток. Микробные белки привлекают внимание биотехнологов в качестве пищевых продуктов в связи с дешевизной и быстротой их получения по сравнению с животными и растительными белками. Промышленное получение белка из микробных клеток осуществляется методом глубинного, непрерывного культивирования. Существенным недостатком этой технологии является наличие в конечном продукте примесей микробных клеток, количество и токсичность которых должно строго учитываться. Наличие нежелательных примесей при производстве микробного белка привело к тому, что в основном он используется в качестве корма для сельскохозяйственных животных. Белки и продукты их деградации применяются в медицине в качестве лекарственных веществ и лечебных пищевых добавок.

4.4.1. Применение белков в медицинской практике

В клинической практике широко применяют белковые гидролизаты. При помощи кислотного или ферментативного гидролиза казеина получают белковые гидролизаты медицинского назначения. Так, препарат **амиген** применяют при кровопотерях парантерально в виде 5%-го раствора с добавкой глюкозы. Для парантерального питания применяют гидролизаты белков (аминопептид, амикин, фибриносол и др.). Препарат **церебролизин**, состоящий из смеси незаменимых аминокислот, назначают при нарушении мозгового кровообращения, умственной отсталости, потере памяти.

Глава 5

ФЕРМЕНТЫ

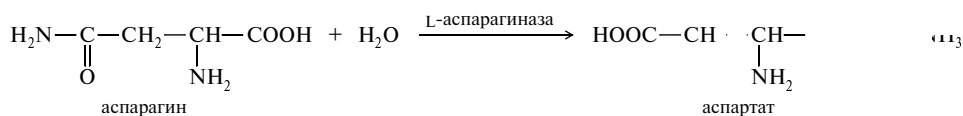
5.1. Из истории энзимологии

Химические реакции в живых системах протекают с высокой скоростью, благодаря наличию катализаторов белковой природы — ферментов или энзимов. Ферменты были открыты в процессе изучения механизмов брожения, этим и объясняется происхождение их названия (от лат. *fermentum* — закваска, *enzyme* — в дрожжах). Представление о том, что в живых системах химические реакции протекают при помощи каких-то факторов, возникло более 200 лет назад. В начале XIX в. господствовало мнение о наличии «жизненных сил», управляющих процессами жизнедеятельности. Более четкие и однозначные химические представления сформировались в связи с развитием теории химического катализа, выдвинутой шведским химиком Й. Я. Берцелиусом, который первым отметил высокую производительность биологических катализаторов на примере диастазы.

В 50-х гг. XIX столетия Л. Пастер показал, что сбраживание дрожжами сахара в спирт катализируется веществами белковой природы — ферментами. Ошибка Пастера заключалась в том, что он считал ферменты неотделимыми от живых клеток (в данном случае — дрожжевых), однако это ошибочное представление разделялось многими учеными, его современниками. Поэтому открытие Э. Бухнера, который первым показал, что в водных экстрактах дрожжевых клеток находится набор ферментов, катализирующих превращение сахара в спирт, является, по сути дела, началом формирования науки — *энзимологии*. В 20-х гг. XX в. Р. Вильштеттер впервые получил ряд ферментов в высокоочищенном состоянии. Однако химическую природу ферментов он не идентифицировал из-за ошибочного исходного представления о том, что ферменты — особый класс низкомолекулярных веществ, сорбированных на белках. В 1926 г. Дж. Самнер впервые получил растительную уреазу в виде белковых кристаллов. Четыре года спустя Дж. Нортроп и М. Кунитц представили данные о получении кристаллов трипсина и пепсина, доказав их исключительно белковую природу. Успехи прикладной энзимологии во второй половине XX столетия позволили получить более 2000 ферментов в более или менее очищенном состоянии.

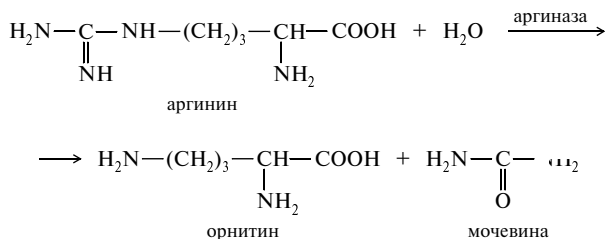
5.2. Свойства ферментов

Специфичность действия. Еще в конце XIX и в начале XX столетия было установлено, что способность того или иного фермента катализировать превращение определенного вещества (субстрата) зависит от природы как фермента, так и субстрата. Высокая избирательная способность взаимодействия фермента с компонентами биологической реакции особенно наглядно проявляется при оценке стереохимических превращений. Э. Фишер одним из первых показал высокую *стереоспецифичность* ряда ферментов и постулировал, что это обусловлено комплементарным присоединением субстрата к ферменту в процессе каталитической реакции. Это особенно ярко проявляется в процессе реакций, характерных для L- или D-форм субстрата. Например, фермент лактатдегидрогеназа катализирует превращение только L-формы молочной кислоты и полностью инертен в отношении ее D-формы. L-Аспарагиназа, катализирующая реакцию превращения аспарагина, действует только на его L-форму:



Ферменты характеризуются высокой специфичностью как в отношении субстратов, так и катализируемых ими реакций. Кроме стереохимической, выделяют абсолютную и относительную специфичность действия ферментов.

Абсолютная специфичность предполагает, что фермент катализирует только одну реакцию. Например, аргиназа расщепляет аргинин на орнитин и мочевину:



Следует отметить, однако, что общепринятое понятие «абсолютная специфичность» в определенной степени условно. Так, глюкозооксидаза, специфически окисляющая D-глюкозу с образованием глюконовой кислоты, действует еще по крайней мере на 8—10 субстратов, таких, как манноза, мальтоза, лактоза и др. Учитывая тот факт, что скорость окисления этих субстратов ниже по сравнению с глюкозой примерно на два порядка, этими данными зачастую пренебрегают и глюкозооксидазу считают ферментом, проявляющим абсолютную специфичность. Вместе с тем исследования влияния фермента на близкие по строению субстраты оказались чрезвычайно плодотворными в другом отношении. Выяснилось, что на скорость ферментативной реакции влияет не только природа атакуемой связи, но и ее окружение, а также длина углеводной цепи субстрата. Это особенно характерно для ферментов, проявляющих *относительную*, или *групповую*, *специфичность*. Данные ферменты действуют на группу близких по строению субстратов с сопоставимой скоростью,

однако каждый индивидуальный фермент проявляет характерные особенности воздействия на тот или иной субстрат. Наиболее детально изучена групповая специфичность действия протеиназ, катализирующих гидролиз белков и полипептидов. Оказалось, что пепсин (фермент желудочного сока) гидролизует пептидные связи, образованные тирозином или фенилаланином. Наличие свободной аминной группы вблизи от гидролизуемой связи на несколько порядков уменьшает скорость ферментативной реакции. Напротив, свободная карбоксильная группа стимулирует ферментативный гидролиз, причем это характерно только для пепсина. Химотрипсин также гидролизует пептидные связи, образованные ароматическими аминокислотами, однако в отличие от пепсина воздействует на связи, образованные карбоксильными группами ароматических аминокислот.



Таким образом, можно сказать, что ферменты обладают специфичностью по отношению к какому-либо субстрату или к определенной химической связи в различных субстратах.

Следует отметить, что один и тот же фермент может быть полифункциональным, т. е. катализировать различные биохимические реакции. В качестве примера можно привести трипсин — фермент, синтезируемый поджелудочной железой и секретируемый в кишечник. Будучи протеолитическим ферментом, он гидролизует пептидные связи, образованные карбоксильной группой аргинина или лизина. Кроме того, трипсин катализирует гидролиз амидных связей (это было установлено при работе с синтетическим субстратом бензоил — L-аргининамидом), а также гидролизует сложноэфирные связи между аминокислотой и спиртом.

Для некоторых протеолитических ферментов характерны реакции транспептидации — перенос аминокислотных остатков от одного субстрата к другому.

Интенсивное изучение биологических катализаторов дало возможность составить целостное представление об этих, по сути, наиболее важных структурах живой материи. В частности, было установлено, что все ферменты являются макромолекулами белковой природы. (Каталитическая активность специфичных полинуклеотидов, принимающих участие в сплайсинге РНК, является исключением, подтверждающим общее правило.) Первостепенное значение для функций ферментов имеет первичная структура, определяющая тип катализируемых реакций. Гидролиз пептидных связей трипсином или пепсином необратимо инактивирует ферменты. Для проявления каталитического действия большое значение имеет также нативность высших белковых структур (гл. 3). Обратимая денатурация является фактором подавления или восстановления ферментативной активности. Физико-химические свойства ферментов соответствуют таковым для белков, причем заряд играет существенное значение для каталитического акта. Молекулярные массы ферментов лежат в пределах от 10 до 1000 kDa и более, т. е. в большинстве случаев фермент по размерам гораздо больше, чем субстрат.

Как и белки, ферменты бывают простыми и сложными, причем каталитическое действие связано с небольшим участком белковой макроструктуры, целостность которой тем не менее весьма существенна для ферментативного катализа. Будучи истинными катализаторами, ферменты не инициируют хими-

ческие реакции, они лишь изменяют скорость их протекания. Важно отметить, что ферменты не только увеличивают скорости реакций в клетках или тканях, они из нескольких равновероятных спонтанных реакций «выбирают» ту, которая наиболее целесообразна для процесса жизнедеятельности.

Ферменты, так же как и химические катализаторы неорганической природы, катализируют только энергетически выгодные реакции, не изменяют направления реакции и не расходуются в процессе реакции. Вместе с тем ферменты обладают рядом свойств, отличающих их от химических катализаторов:

- ферменты во много раз более специфичны;
- скорости ферментативных реакций на много порядков выше, чем у биологических катализаторов;
- ферменты термолабильны и неустойчивы по отношению к кислотам и щелочам;
- воздействуя на фермент, можно регулировать скорость соответствующей реакции.

5.3. Определение активности ферментов

Термин *активность* достаточно условен и характеризует способность ферментов изменять скорости соответствующих реакций. Определяется активность по количеству продуктов реакции или модификации субстрата под действием фермента. За единицу активности фермента принимают такое его количество, которое катализирует превращение в 1 мин при 25 °С одного микромоля субстрата. Активность ферментов выражают также в каталах (кат), связанную с превращением одного моля субстрата в 1 с при 25 °С. Удельной активностью называется скорость реакции, рассчитанная на 1 мг белка фермента.

Для корректного определения ферментативной активности условия опыта должны быть максимально стандартизованы и проводиться в условиях оптимума температуры и pH. Количество субстрата должно быть равным или большим, чем необходимо для поддержания максимальной скорости реакции. Разнообразие методов оценки ферментативной активности связано с большим количеством вариантов ферментативных реакций. Если продукты реакции или модифицированные субстраты окрашены, то с большим успехом используют спектрофотометрические методы, в случае газообразных продуктов реакции весьма эффективен полярографический метод и т. д. Определение каталитической активности весьма важно для оценки действия фермента. Кроме того, знание удельной активности того или иного фермента дает возможность определить истинное содержание его в клетках.

5.4. Строение ферментов

Для ферментов характерны все закономерности строения, присущие белкам. Ферменты всегда являются глобулярными белками, причем высшей может быть как третичная, так и четвертичная структуры. Сложные ферменты состоят из белкового и небелкового компонентов. Белковая часть называется *апоферментом*, небелковая, легко диссоциирующая с белковой частью, — *коферментом*, прочно связанная с белком, — *простетической группой*, а моле-

кула в целом — *холоферментом*. Соединение белковой и небелковой части сложных ферментов происходит при помощи водородных, гидрофобных или ионных связей. Гораздо реже встречается ковалентное связывание белкового компонента с простетической группой фермента. Коферменты или простетические группы принимают непосредственное участие в процессе ферментативного катализа. Эти группировки определяют специфичность того или иного фермента, принимают участие в связывании фермента с субстратом, а также стабилизируют белковую часть фермента.

Классификация коферментов. Она основана на строении и функциональных особенностях коферментов.

- Большая группа коферментов представляет собой водорастворимые витамины и их химически модифицированные производные. К ним относятся фосфорилированные тиамин, флавиномоно- и дифосфаты, пиридоксальные, биотиновые, никотинамидные и другие коферменты. (Подробно о связи витаминов с ферментами говорится в гл. «Витамины».)

- К другим химическим структурам, входящим в состав сложных ферментов, относятся нуклеотидные производные, липоевая кислота, глутатион, металлопорфирины и др.

- Наряду с коферментами существенную роль в формировании активных ферментов играют железо, медь, магний, марганец, кальций, цинк и др. Металлы могут выступать в качестве коферментов, а также активаторов ферментативной активности. Уже на организменном уровне можно оценить роль того или иного металла в функционировании фермента. Так, дефицит молибдена в пище животных проявляется в падении активности фермента ксантиноксидазы. Дефицит этого же микроэлемента в питательной среде является причиной резкой инактивации нитратредуктазы у гриба *Neurospora crassa*. Для однозначного ответа на вопрос, является ли металл активатором или неотъемлемой частью зрелого фермента, необходимо получить последний в высокоочищенном или гомогенном состоянии. Если металл при диализе не отделяется от фермента, а более жесткое его удаление приводит к полному подавлению каталитической активности, значит, это истинный металлофермент. Металл в этом комплексе прочно связан с белком посредством множественных координационных связей.

Прочные комплексы с азотсодержащими группировками белка образуют ионы меди и железа. Ионы кальция и магния преимущественно связываются с карбоксильными группами белка. Фермент алкогольдегидрогеназа содержит в своем составе цинк, прочно связанный с серосодержащими аминокислотными остатками белкового компонента макромолекулы. Ферридоксины переносят электроны при участии атомов железа, прочно связанных с остатками цистеина. В некоторых истинных металлоферментах присутствует более одного атома металла. Примером тому является супероксиддисмутаза — фермент, содержащий в своем составе медь и цинк.

В настоящее время известно более 100 истинных металлоферментов, участвующих в большинстве реакций клеточного метаболизма. Многие из них передают электроны за счет металлов с переменной валентностью. В этом случае можно постулировать, что металл принимает непосредственное участие в осуществлении каталитического акта. Другим вариантом участия металлов в

функционировании ферментов является их способность взаимодействовать с отрицательно заряженными группировками субстрата. Реакции гидролиза осуществляют ферменты, в состав которых входят металлы с постоянной валентностью, например α -амилаза (Ca^{2+}) или аденозинтрифосфатаза (Mg^{2+}).

5.5. Активные центры ферментов

У простых ферментов каталитическую функцию осуществляют непосредственно белки. В реакции с субстратом принимает участие не вся полипептидная цепь, а всего лишь несколько аминокислотных остатков, как правило, расположенных на значительном удалении друг от друга в полипептидной цепи. В процессе формирования третичной структуры происходит их сближение и стабилизация при помощи дисульфидных или множественных слабых связей. Денатурация нарушает связи, стабилизирующие третичную структуру, активный центр разрушается, и каталитические свойства фермента полностью или частично подавляются.

❗ Существует мнение, что активный центр ферментов не является постоянным, геометрически ограниченным сайтом белковой макромолекулы, а представляет собой совокупность аминокислот, взаимодействующих с субстратом, причем число химических группировок и их способность взаимодействовать с субстратом может изменяться в зависимости от природы субстрата и степени нативности фермента.

Условность понятия *активный центр* связана также с тем, что его не удается выделить в чистом виде. Это легко представить а priori, так как вырезание из белковой глобулы какого-то числа аминокислотных остатков однозначно приводит к денатурации и разобщению сближенных и ориентированных друг по отношению к другу химических группировок, составляющих активный центр фермента.

Различают участок, ответственный за присоединение субстрата к ферменту, т. е. центр связывания и каталитический центр, непосредственно воздействующий на субстрат.

На рис. 5.1 представлен активный центр рибонуклеазы — фермента, гидролизующего РНК, которая состоит из множества моновуклеотидов. В каталитическом центре находятся два остатка гистидина: Гис 12 и Гис 119. Оба эти гистидина участвуют в процессе катализа, причем Гис 12 образует комплекс с гидроксильной группой рибозы, а Гис 119 взаимодействует с соседним фосфатом. Связь между ними при этом разрывается.

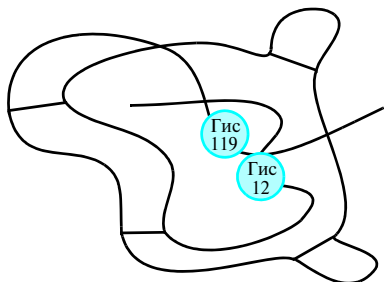


Рис. 5.1. Активный центр рибонуклеазы

В состав активных центров многих ферментов входит ограниченное число аминокислотных остатков. К ним относятся гистидин, тирозин, цистеин, серин, лизин и в меньшей степени некоторые другие аминокислоты.

В состав активных центров сложных ферментов всегда входят простетические группы или коферменты. Иными словами, у сложных

ферментов и активный центр сложный, двухкомпонентный, состоящий из аминокислотных остатков, соединенных с небелковой частью молекулы.

Идентификация аминокислотных остатков, входящих в активный центр того или иного фермента, осуществляется различными методами. Так, применение ингибиторного анализа дает возможность выявить функциональные группы, отвечающие за проявление ферментативной активности. Локализация активного центра возможна также при применении протеолитических ферментов, гидролизующих молекулу фермента на отдельные фрагменты.

5.6. Внутриклеточное распределение ферментов

Ферменты локализованы во всех компартментах клеток. Ядерные ферменты катализируют синтез информационных макромолекул, а также процессы их созревания, функционирования и распада. В митохондриях действуют ферменты энергетического обмена, в аппарате Гольджи — ферменты, катализирующие созревание белков, в лизосомах — гидролитические ферменты. Значительное число ферментов ассоциировано с внешней и внутренними мембранами. Так, ферменты, защищающие клетку от действия чужеродных химических веществ, локализованы в эндоплазматическом ретикулуле. Распределение ферментов в клетках определяют методом дифференциального центрифугирования гомогената тканей. Локализация некоторых ферментов идентифицирована гистохимическими методами *in situ*. Для этого при помощи микротомы получают срезы ткани и обрабатывают их раствором субстрата. Идентификация продуктов ферментативной реакции облегчена, если последние окрашены.

5.7. Классификация и номенклатура ферментов

Катализируемая химическая реакция является тем признаком, по которому можно отличить один фермент от другого. Естественно, что Международная комиссия по ферментам в 1961 г. этот принцип положила в основу классификации ферментов, которая с незначительными изменениями и дополнениями используется до настоящего времени. Согласно рекомендациям комиссии ферменты делят на классы, подклассы и подподклассы, характеризующие реакции, осуществляемые данными катализаторами. Все известные ферменты подразделяют на шесть классов, охватывающих изученные в настоящее время ферментативные реакции (табл. 5.1). Был разработан также

Т а б л и ц а 5.1. Реакции, катализируемые различными классами ферментов

| Класс ферментов | Тип реакции |
|-----------------|---|
| Оксидоредуктазы | Окислительно-восстановительные реакции всех типов |
| Трансферазы | Перенос отдельных атомов или групп атомов от донора к акцептору |
| Гидролазы | Гидролитическое расщепление химических связей |
| Лиазы | Негидролитическое расщепление двойных связей или образование этих связей |
| Изомеразы | Взаимопревращения различных изомеров |
| Лигазы | Образование связей при взаимодействии двух или более соединений (с помощью энергии АТФ) |

принцип нумерации ферментов, вошедший в систему классификации. Шифр каждого фермента содержит четыре числа и составляется следующим образом:

- первое число указывает, к какому из шести классов принадлежит тот или иной фермент;
- второе число обозначает подкласс. У оксидоредуктаз, например, оно указывает природу группы, которая подвергается окислению, у трансфераз — природу транспортируемой группы и т. д.;
- третье число обозначает подподкласс. У гидролаз, например, оно указывает на тип гидролизуемой связи, у трансфераз — тип транспортируемой группы;
- четвертое число обозначает порядковый номер фермента в данном классе.

Оксидоредуктазы. Они представляют самый большой класс ферментов. Названия их составляют по форме: «донор: акцептор — оксидоредуктаза». Они играют основополагающую роль в процессах биологического окисления. Коферменты НАД или НАДФ являются акцепторами водорода, ферменты, катализирующие перенос водорода, называются дегидрогеназами, переносящие кислород к субстрату — оксигеназами. Пероксидазами называют ферменты, использующие в качестве акцептора водорода H_2O_2 . Оксидоредуктазы подразделяют на подклассы по критерию окисления тех или иных группировок, в частности от природы доноров водорода. Рассмотрим некоторые подклассы этих ферментов.

Подкласс 1.1. В него входят ферменты, действующие на $CN-OH$ -группу доноров (малатдегидрогеназа, алкогольдегидрогеназа и др.).

Подкласс 1.2. В него входят ферменты, окисляющие альдегидные или кетонные группировки.

Подкласс 1.6. Ферменты этого подкласса отличаются тем, что донором водорода для них являются восстановленные НАД или НАДФ.

Всего класс оксидоредуктаз содержит 17 подклассов.

Трансферазы. Ферменты этого класса осуществляют перенос групп атомов. Их названия включают в себя такие понятия, как: «донор: акцептор — транспортируемая группа — трансфераза». Эти ферменты разделены на подклассы, катализирующие перенос углеродных остатков. Рассмотрим несколько примеров.

Подкласс 2.1. Ферменты этого подкласса переносят одноуглеродные метильные, формильные, карбоксильные и другие остатки (метилтрансфераза, формилтрансфераза).

Подкласс 2.2. Ферменты этого подкласса осуществляют перенос альдегидных и кетонных двух или трех углеродных остатков (транскетолаза, трансальдололаза). Трансферазы играют существенную роль в процессах взаимопревращения многих веществ, а также в реакциях дезинтоксикации.

Класс трансфераз имеет всего 8 подклассов.

Гидролазы. Эти ферменты катализируют расщепление внутримолекулярных связей при помощи молекул воды. Их названия состоят из двух частей: субстрат—гидролаза.

Подкласс 3.1. В него включены ферменты, обладающие широкой специфичностью. Они катализируют гидролиз эфирных связей большого количест-

ва эфиров. В частности, тиолэстераза катализирует гидролиз тиоэфирных связей, играющих большую роль в обмене ацильных групп.

Подкласс 3.2. В него входят ферменты, гидролизующие как истинные гликозиды, так и *N*- или *S*-гликозидные соединения.

Всего класс гидролаз подразделяют на 11 подклассов, катализирующих различные реакции гидролиза.

Лиазы. К ним относятся ферменты, разрывающие связи $C-C$, $C-N$, $C-O$, $C-S$ с образованием двойных связей. Возможна и обратная реакция, например присоединение молекул воды или аммиака по двойной связи.

Подкласс 4.1. Из ферментов этого подкласса наиболее известны альдолазы, катализирующие реакции альдольной конденсации, в основе которых лежит расщепление или образование связей $C-C$.

Подкласс 4.2. В него входят такие $C-O$ -лиазы, как фумарат- и аконитатгидратаза, катализирующие обратимое отщепление молекулы воды от субстрата.

Всего в класс лиаз входит 7 подклассов ферментов, участвующих в процессах синтеза и распада промежуточных продуктов обмена веществ.

Изомеразы. К ним относятся ферменты, катализирующие самые различные процессы изомеризации. Систематическое название их учитывает название субстрата, а также тип изомеризации.

Подкласс 5.1. Ферменты этого подкласса — рацемазы — катализируют превращение, например *L*-аминокислот в *D*-аминокислоты.

Подкласс 5.2. Представителями являются *цис-транс*-изомеразы или эпимеразы. Эти ферменты вызывают взаимные переходы сахаров, например галактоза \rightarrow глюкоза.

Подкласс 5.3. Ферменты этого подкласса — мутазы — катализируют перенос химических группировок с одной части молекулы на другую.

Всего класс изомераз содержит 6 подклассов.

Лигазы (синтетазы). Они катализируют процессы конденсации двух молекул за счет энергии АТФ. Названия их включают оба соединяющихся вещества и фермент лигазу. Например, аспартат: аммиак-лигаза.

Подкласс 6.1. Ферменты этого подкласса катализируют образование связей $C-O$. Этот тип связей имеет место, например, при активации аминокислот, предшествующей процессу трансляции.

Подкласс 6.2. Представителями этого подкласса являются, в частности, ферменты, катализирующие образование $C-S$ -связей в процессе присоединения ацильных остатков к коэнзимуА.

Всего класс лигаз содержит 5 подклассов, включающих ферменты анаболических стадий обмена веществ.

6.1. Общая характеристика

Любая каталитическая реакция предполагает изменение скоростей как прямой, так и обратной реакции за счет снижения ее энергетики. Если химическая реакция протекает с выделением энергии, то, казалось бы, она должна начинаться спонтанно. Однако этого не происходит, потому что компоненты реакции должны быть переведены в активированное (переходное) состояние. Энергия, необходимая для перевода реагирующих молекул в активированное состояние, называется энергией активации. Переходное состояние характеризуется непрерывным образованием и разрывом химических связей, причем между переходным и основным состояниями существует термодинамическое равновесие. Скорость прямой реакции зависит от температуры и разности значений свободной энергии для субстрата в переходном и основном состояниях. Эта разность называется свободной энергией реакции.

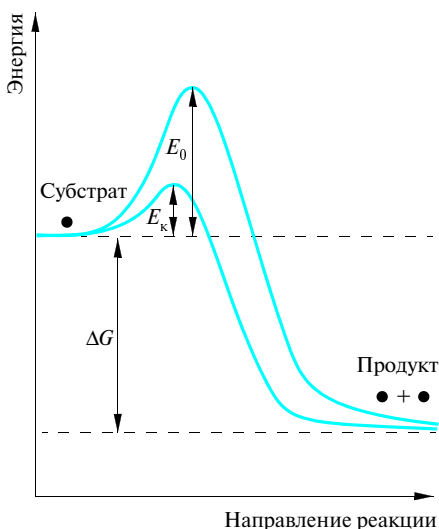


Рис. 6.1. Основное и переходное состояния реагирующих веществ: E_0 — энергия активации реакции без катализатора; E_k — энергия активации в присутствии катализатора; ΔG — разность свободной энергии реакции

Достижение переходного состояния субстрата возможно двумя путями: придать реагирующим молекулам избыточную энергию (например, за счет увеличения температуры) или снизить энергию активации соответствующей химической реакции (рис. 6.1). Общие черты всех каталитических реакций заключаются в том, что они связаны со снижением энергии активации.

Ферменты «помогают» субстратам принять переходное состояние за счет энергии связывания при образовании фермент-субстратного комплекса. Снижение энергии активации при ферментативном катализе обусловлено увеличением числа стадий химического процесса. Индуцирование ряда промежуточных реакций приводит к тому, что исходный активационный барьер дробится на несколько более низких барьеров, преодолеть которые реагирующие молекулы могут гораздо быстрее, чем основной.

6.2. Механизм действия ферментов

При взаимодействии фермента с субстратом можно выделить три стадии:

- присоединение субстрата к макромолекуле фермента;
- непосредственно ферментативная реакция;
- отделение продуктов превращения субстрата от фермента.

Первая стадия — самая быстрая — является лимитирующей стадией каталитического процесса в целом. Скорость ее протекания зависит от структуры фермента и субстрата, природы среды, в которой осуществляется ферментативная реакция, pH и температуры. Ферменты характеризуются специфичностью по отношению к субстратам и высокой энергией связывания с ними. Эта энергия частично используется для деформации субстрата и снижения энергии активации последующей химической реакции.

Взаимодействию фермента с субстратом предшествует сближение и ориентация субстрата по отношению к активному центру фермента. Затем образуются фермент-субстратные комплексы, реальное существование которых может быть зафиксировано различными способами. Наиболее наглядным и эффективным является метод рентгеноструктурного анализа. В качестве примера можно привести идентификацию фермент-субстратного комплекса карбокси-пептидазы А и ее субстрата глицил-L-тирозина. Метод дает возможность не только установить сам факт образования комплекса, но и определить типы связей. Более простым, но достаточно эффективным методом является спектральный анализ фермента и соответствующего фермент-субстратного комплекса. Таким образом, были, в частности, идентифицированы фермент-субстратные комплексы для ряда флавиновых ферментов. В последние годы широкое распространение получило применение синтетических субстратов, благодаря которым можно моделировать ряд стадий ферментативного процесса, в том числе и связанных с образованием фермент-субстратного комплекса.

Взаимодействие фермента с субстратом вызывает локальное конформационное изменение некоторых сайтов белковой макромолекулы фермента, в результате чего комплементарность его активного центра к субстрату резко повышается и обеспечивает возможность осуществления каталитического процесса. Изменение конформации фермента под действием субстрата было впервые показано Д. Кошландом и носит название *индуцированное соответствие*.

Гибкость активного центра фермента. Активные центры ферментов расположены в шарнирных сайтах между двумя доменами. Эти сайты более лабильны, чем другие участки белковой макромолекулы, поэтому активные центры обладают повышенной чувствительностью к денатурирующим агентам, физическим факторам и протеолитическим воздействиям. Гибкость структуры активного центра является фактором, увеличивающим эффективность каталитического акта. Мгновенные переходы от одного конформационного состояния к другому, обусловленные гибкостью активного центра, являются обязательным условием реализации максимальной ферментативной активности.

Фермент, в свою очередь, оказывает значительное влияние на субстрат. Под влиянием фермента структура субстрата изменяется: сначала образуется переходное состояние, а затем продукты ферментативной реакции. Оказалось, что для фермента каталитически выгодно комплементарное соответствие не основному, а переходному состоянию субстрата. Это также было доказано при помощи синтетических аналогов переходного состояния субстрата. Л. Полинг и Дж. Холдейн предложили концепцию деформации субстрата, связанную с его модификацией под действием фермента. Однако главным является то, что субстрат в переходном состоянии взаимодействует с ферментом многократно

эффективнее, чем в основном, в результате происходит более резкое снижение энергии активации ферментативной реакции. Что же касается деформации, то переходное состояние сопровождается изменением геометрии субстрата, но это не обязательно связано с процессом его деформации.

Типы ферментативного катализа. В результате образования комплекса происходит обмен электронами и протонами между ферментом и субстратом. Если фермент отдает электронную пару субстрату, т. е. если фермент является донором электронов, осуществляющим нуклеофильную атаку, которая определяет скорость ферментативной реакции, то имеет место *нуклеофильный катализ*. Скорость каталитической реакции определяется электронодонорной способностью нуклеофила, т. е. тех аминокислотных остатков активного центра, которые взаимодействуют с субстратом. Относительные скорости нуклеофильной атаки зависят от энергии, необходимой для доставки электронной пары к атому субстрата. В *электрофильном катализе*, напротив, фермент акцептирует пару электронов от субстрата. Электрофильный катализ характерен для многих ферментов, имеющих в своем составе атомы металлов. Металлы с переменной валентностью являются электрофильными катализаторами, принимающими электронную пару.

В процессе *общего кислотно-основного катализа* происходит перенос протона либо в пределах молекулы субстрата, либо от одного субстрата к другому. Следует отметить, что многие электро- или нуклеофильные реакции протекают более эффективно, если они сопровождаются одновременным переносом протона на субстрат. Для общего кислотно-основного катализа характерна зависимость скоростей реакций от любых кислот или оснований, находящихся в реакционной среде, в отличие от *специфического кислотно-основного катализа*, который зависит только от протондонорных или протонакцепторных свойств катализатора.

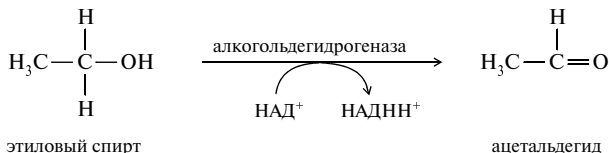
Обобщая представления о ферментативном катализе, можно выделить следующие основные моменты.

- Комплементарное присоединение субстрата к активному центру фермента является основным фактором эффективного каталитического процесса.
- Комплементарность достигается за счет изменения конформации активного центра фермента под действием субстрата, а также перевода субстрата в переходное состояние, индуцируемого функциональными группировками активного центра фермента.
- Эффективный активный центр фермента формируется в несколько этапов. В простейшем варианте это связано с образованием третичной структуры белка-фермента, а также достижением индуцированного соответствия определенному субстрату. В случае образования ферментов в неактивном состоянии их активация (например, за счет ограниченного протеолиза) приводит к изменению конформации, что обеспечивает взаимодействие функциональных группировок активного центра. Формирование активных центров сложных ферментов обусловлено также присоединением небелкового компонента.
- Образование фермент-субстратного комплекса достигается за счет множественных контактов между ферментом и субстратом, причем чем больше этих контактов, тем эффективнее протекает каталитический процесс.

• Ферментативный катализ в основном связан с обменом электронов и протонов между ферментом и субстратом или же в пределах молекулы субстрата.

6.2.1. Механизм действия алкогольдегидрогеназы

Алкогольдегидрогеназа — цинксодержащий металлофермент, катализирующий окисление спиртов до альдегидов или кетонов:



В качестве кофермента алкогольдегидрогеназа, как и другие дегидрогеназы, использует НАД⁺. Молекула фермента, выделенного из печени лошади, представляет собой гомодимер с молекулярной массой 40 kDa. Каждая цепь имеет один сайт связывания НАД⁺ и два сайта связывания Zn. Внутри гидрофобного кармана в месте соединения каталитического и связывающего НАД⁺ находится ион Zn. Координационное число цинка равно четырем (рис. 6.2).

Окисление спиртов обусловлено формированием тройного продуктивного комплекса, причем первой стадией реакции является связывание кофермента НАД⁺.

При образовании фермент-субстратного комплекса происходит замещение ионизированным спиртом связанной с цинком молекулы воды (рис. 6.3).

В результате ферментативной реакции протон от субстрата переносится на кофермент и образуется ацетальдегид. В данной реакции лимитирующей стадией является диссоциация комплекса фермент — НАДН.

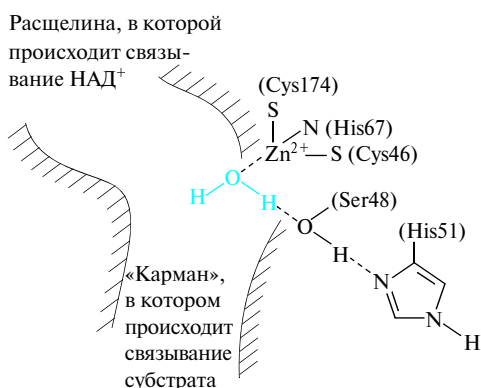


Рис. 6.2. Активный центр алкогольдегидрогеназы из печени лошади (по Э. Фершту)

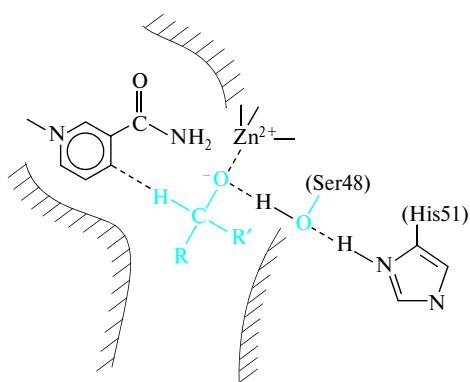


Рис. 6.3. Образование тройного продуктивного фермент-субстратного комплекса при окислении этилового спирта алкогольдегидрогеназой

6.3. Основы ферментативной кинетики

Ферментативная кинетика изучает скорости реакций, катализируемые конкретными ферментами.

Иными словами, ферментативная кинетика — это наука, изучающая закономерности влияния природы реагирующих веществ и сопутствующих факторов на скорости ферментативных реакций.

Строение веществ, вовлеченных в химические реакции, определяет скорость каталитического процесса. Например, гидролиз пептидной связи под действием протеиназ происходит с различной скоростью, зависящей от строения конкретной белковой макромолекулы, вовлеченной в реакцию.

Ферментативные реакции частично подчиняются закону действующих масс, следовательно, их скорости зависят от концентрации фермента, субстрата и температуры. Скорость реакции связана с реакционной способностью функциональных группировок активного центра фермента, т. е. она зависит от pH реакционной среды. На скорость ферментативной реакции влияет также концентрация коферментов, активаторов и ингибиторов той или иной ферментативной реакции.

Изучение ферментативной кинетики имеет важное общебиологическое значение, так как оно позволяет более полно судить о механизме действия фермента. В практическом плане кинетические характеристики, в частности, могут расширить представления о механизмах действия тех или иных лекарственных веществ на ферментные системы.

6.3.1. Влияние концентрации фермента

При условии избытка субстрата скорость реакции прямо пропорциональна концентрации фермента:

$$v = k[E],$$

где v — скорость реакции; $[E]$ — концентрация фермента; k — константа скорости реакции.

На рис. 6.4 представлено влияние концентрации фермента аргиназы на скорость расщепления аргинина. Отклонение от прямо пропорциональной зависимости возможно в случае дефицита субстрата или кофермента (применительно к соответствующим сложным ферментам), наличия в реакционной среде токсических примесей.

6.3.2. Влияние концентрации субстрата

Одним из наиболее важных факторов, влияющих на скорость ферментативных реакций, является концентрация субстрата.

В большинстве случаев график зависимости скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата представляет собой гиперболу (рис. 6.5).

Кривую можно разбить на два участка: участок, на котором согласно закону действующих масс скорость реакции пропорциональна концентрации реагирующих веществ, и участок, на котором скорость реакции не зависит от концентрации субстрата, она постоянна и максимальна.

Числовое значение субстрата, при котором скорость реакции равна половине максимальной скорости, называется константой Михаэлиса K_M .

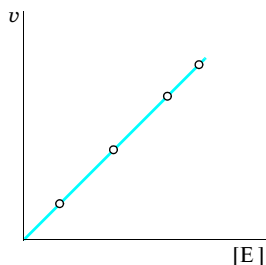


Рис. 6.4. Зависимость скорости реакции v от концентрации фермента E

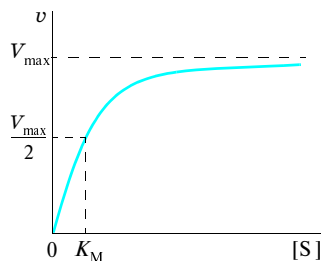


Рис. 6.5. Зависимость между скоростью реакции и концентрацией субстрата

Основные положения ферментативной кинетики, основанные на взаимоотношениях между ферментами и различными концентрациями субстратов, были разработаны еще в 1913 г. Л. Михаэлисом и М. Ментен. Предложенные ими уравнения, связывающие скорость реакции с концентрацией субстрата, в дальнейшем незначительно видоизменялись, однако общие принципы остались неизменными. Согласно этим принципам, фермент E и субстрат S вступают в реакцию со скоростью, константа которой обозначается k_{+1} . При этом образуется комплекс ES , способный диссоциировать на исходные фермент и субстрат со скоростью, константа которой обозначается k_{-1} . В случае же продуктивной ферментативной реакции из этого комплекса со скоростью k_{+2} выделяются фермент и продукты превращения субстрата. Моносубстратную ферментативную реакцию можно записать следующим образом:



где P — продукты превращения субстрата.

В момент времени t концентрация свободного фермента будет равна $[E_0] - [ES]$. Если концентрация субстрата гораздо больше, чем концентрация фермента, находящегося в составе фермент-субстратного комплекса, то содержанием субстрата в этом комплексе можно пренебречь. В этом случае скорость образования фермент-субстратного комплекса будет равна:

$$\frac{d[S]}{dt} = k_{+1}[S] \cdot ([E_0] - [ES]). \quad (2)$$

Наряду с образованием фермент-субстратного комплекса возможна его диссоциация со скоростью k_{-1} на фермент и исходный субстрат, а также распад с образованием продуктов реакции, протекающий со скоростью k_{+2} . Этот процесс описывается уравнением

$$\frac{d[ES]}{dt} = k_{-1}[ES] + k_{+2}[ES]. \quad (3)$$

В состоянии равновесия скорость образования комплекса и его распада равна, следовательно:

$$k_{+1}([E_0] - [ES]) \cdot [S] = (k_{-1} + k_{+2}) \cdot [ES]. \quad (4)$$

После ряда упрощений получаем:

$$[ES] = \frac{[E_0] \cdot [S]}{[S] + (k_{+2} + k_{-1})/k_{+1}}. \quad (5)$$

Л. Михаэлис и М. Ментен постулировали, что скорость реакции определяется как скорость распада фермент-субстратного комплекса (константа скорости равна k_{+2}). Следовательно:

$$v = k_{+2} \cdot [\text{ES}]. \quad (6)$$

Подставляя вместо $[\text{ES}]$ его значение, из уравнения (5) получаем:

$$v = \frac{k_{+2}[\text{E}_0] \cdot [\text{S}]}{[\text{S}] + (k_{+2} + k_{-1})/k_{+1}}. \quad (7)$$

Упростить это уравнение можно следующим образом: обозначим $k_{+2}[\text{E}_0]$ как V_{\max} , т. е. скорость реакции в условиях, когда весь фермент связан с субстратом, а $(k_{+2} + k_{-1})/k_{+1}$ как константу Михаэлиса K_M . При подстановке этих величин в уравнение (7) получаем:

$$v = \frac{V_{\max}[\text{S}]}{K_M + [\text{S}]}. \quad (8)$$

Уравнение (8) является основным уравнением Михаэлиса—Ментен применительно к моносубстратным ферментативным реакциям. Это уравнение связывает между собой начальную скорость реакции, максимальную скорость реакции и исходную концентрацию субстрата. В случае, если начальная скорость реакции равна половине максимальной скорости реакции, уравнение (8) принимает вид:

$$\frac{V_{\max}}{2} = \frac{V_{\max}[\text{S}]}{K_M + [\text{S}]}. \quad (9)$$

Разделив обе части уравнения на V_{\max} , получаем:

$$\frac{1}{2} = \frac{[\text{S}]}{K_M + [\text{S}]}. \quad (10)$$

Решая уравнение (10) относительно K_M , получаем, что K_M равно $[\text{S}]$.

Следовательно, константа Михаэлиса численно равна такой концентрации субстрата, при которой скорость ферментативной реакции равна половине максимальной.

Константа Михаэлиса имеет большое значение при исследовании ферментов; она является весьма важным параметром, характеризующим, в частности, степень сродства фермента к субстрату.

Выражение, обратное уравнению (8), представляет собой:

$$\frac{1}{v} = \frac{K_M}{V_{\max}} \cdot \frac{1}{[\text{S}]} + \frac{1}{V_{\max}}. \quad (11)$$

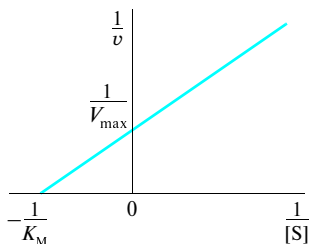


Рис. 6.6. Определение K_M и V_{\max} методом двойных обратных величин

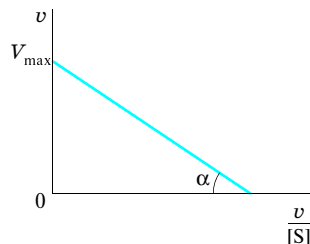


Рис. 6.7. Определение K_M и V_{\max} методом Эди—Хофсти

Это линейное уравнение Лайнуивера—Бэрка, благодаря которому можно определять в одном эксперименте константу Михаэлиса и максимальную скорость исследуемой ферментативной реакции.

В графическом варианте метод Лайнуивера и Бэрка называют еще методом двойных обратных величин (рис. 6.6). При построении графика на оси абсцисс откладывают величину, равную $1/[S]$, а на оси ординат — $1/V_{\max}$.

В некоторых случаях для определения константы Михаэлиса и максимальной скорости реакции более перспективным является метод Эди—Хофсти. При использовании этого метода на оси ординат откладывают v , на оси абсцисс — $v/[S]$. Полученная прямая линия отсекает на оси ординат отрезок, равный V_{\max} , а с осью абсцисс образует угол α , тангенс которого равен V_{\max} / K_M (рис. 6.7).

6.3.3. Влияние температуры

Температура является существенным фактором, влияющим на скорость ферментативной реакции. Для большинства ферментов, вовлеченных в одно-субстратную каталитическую реакцию, зависимость ее скорости от температуры описывается колоколообразной кривой (рис. 6.8).

На восходящем участке кривой скорость реакции, согласно закону действующих масс, пропорциональна температуре, хотя, в отличие от тривиальных химических реакций, скорость ферментативных процессов обусловлена такими факторами, как влияние температуры на стабильность ферментов, скорость распада фермент-субстратного комплекса, сродство фермента к субстрату и др. Нисходящая ветвь кривой обусловлена в основном денатурацией фермента и, как следствие, дезинтеграцией его активного центра. Исходная термолабильность фермента является одним из важных показателей протекания ферментативных реакций при различных температурах.

6.3.4. Влияние pH

Ферменты крайне чувствительны к изменению концентрации водородных ионов. Это обусловлено такими причинами, как степень ионизации функциональных группировок, особенно в активном центре фермента, изменениями структуры белковой макромолекулы, а также влиянием pH на степень связывания фермента с субстратом. Так же как и температурная зависимость, pH-зависимость скорости ферментативной реакции имеет колоколообразную форму (рис. 6.9).

Функциональные группы активного центра фермента наиболее эффективно взаимодействуют с субстратом, имея оптимальную степень ионизации,

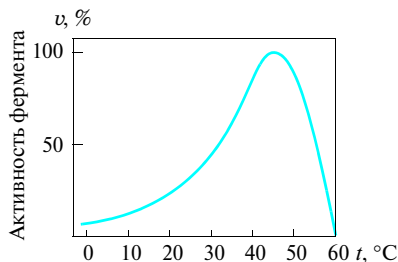


Рис. 6.8. Зависимость скорости ферментативной реакции от температуры

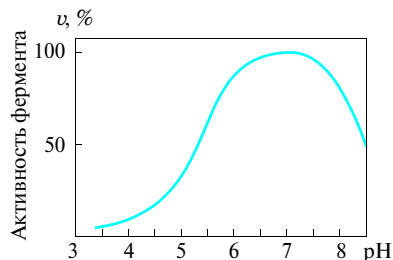


Рис. 6.9. Зависимость скорости реакции от pH

обусловленную соответствующим значением pH. Это соответствует максимальной скорости реакции, отклонение от этих значений приводит к снижению скоростей реакций, а при крайних значениях pH — и к денатурации белка-фермента. Влияние pH на образование фермент-субстратного комплекса, кроме ионизации функциональных группировок фермента, может оказывать существенное влияние на определенные группы субстрата, что также влияет на скорость реакции.

6.4. Ингибиторы ферментов

Скорость ферментативных реакций может быть частично снижена или полностью заблокирована определенными веществами, так называемыми ингибиторами ферментов. Некоторые ингибиторы ферментов являются для организма животных и человека эффективными лекарственными веществами, другие — смертельными ядами.

6.4.1. Обратимые ингибиторы

Различают три типа обратимого ингибирования ферментов: конкурентное, неконкурентное и бесконкурентное.

Конкурентным называют ингибитор, обратимо взаимодействующий с активным центром фермента. Как правило, конкурентные ингибиторы по структуре похожи на субстрат и могут вытесняться из фермент-ингибиторного комплекса избытком субстрата. Взаимодействие с конкурентным ингибитором не приводит к денатурации или инактивации фермента, поэтому при замене ингибитора на субстрат скорость ферментативной реакции не снижается (рис. 6.10).

При взаимодействии фермента с конкурентным ингибитором изменяется значение K_M соответствующей ферментативной реакции.

Сходство субстрата и конкурентного ингибитора достаточно для взаимодействия и образования фермент-ингибиторного комплекса, но недостаточно для ферментативной реакции. В качестве примера можно привести действие малоновой кислоты на реакцию, которая катализируется сукцинатдегидрогеназой и связана с превращением янтарной кислоты в фумаровую.

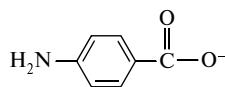


Рис. 6.10. Схема действия конкурентного ингибитора

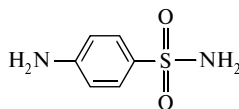
Сходства малоновой кислоты с янтарной достаточно для образования комплекса с ферментом, однако распад этого комплекса не происходит. При увеличении concentra-

ции янтарной кислоты она вытесняет малоновую кислоту из комплекса, в результате активность сукцинатдегидрогеназы восстанавливается.

Многие лекарственные вещества ингибируют ферменты человека и животных по конкурентному типу. Примером могут служить сульфамидные препараты, по структуре сходные с *n*-аминобензойной кислотой (ПАБК). Это соединение в микробных клетках является интермедиантом фолиевой кислоты — важного компонента нуклеинового обмена. При введении сульфамидных препаратов в организм происходит ингибирование ферментов метаболизма ПАБК, что приводит к снижению синтеза нуклеиновых кислот и гибели микроорганизма.



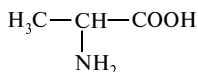
n-аминобензоат



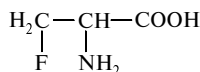
сульфаниламид

В данном случае сульфаниламид является конкурентным ингибитором фермента синтеза фолиевой кислоты.

В структуру пептогликана клеточной стенки бактерий включен D-аланин, отсутствующий в организме животных и человека. Для синтеза клеточной стенки бактерии при помощи фермента аланин-рацемазы превращают животный L-аланин в D-форму. Аланин-рацемаза характерна для бактерий и не обнаружена у млекопитающих. Следовательно, она представляет хорошую мишень для ингибирования лекарственными препаратами. Замещение одного из протонов метильной группы на фтор дает фтораланин, с которым связывается аланин-рацемаза, что приводит к ее ингибированию.



L-аланин



β-фтораланин

Таким образом, можно конструировать лекарственные вещества, ингибирующие ферменты по конкурентному типу. Чтобы быть эффективным, ингибитор должен иметь высокое сродство к ферменту. В противном случае необходимо назначать большие дозы лекарственных препаратов, чтобы активно конкурировать с эндогенным субстратом за активный центр фермента.

Неконкурентные ингибиторы взаимодействуют с ферментами не в области активного центра, а на каком-то от него удалении, причем никаким избытком субстрата из комплекса не удаляются. При взаимодействии ингибитора с ферментом происходит изменение его конформации с последующей частичной дезинтеграцией активного центра. При взаимодействии фермента с неконкурентным ингибитором изменяется V_{\max} ферментативной реакции.

Бесконкурентное ингибирование имеет место, когда ингибитор взаимодействует с ферментом только в составе фермент-субстратного комплекса, препятствуя его распаду. Примером необратимого действия ингибиторов на ферменты могут служить фосфорорганические вещества, применяемые в качестве инсектицидов.

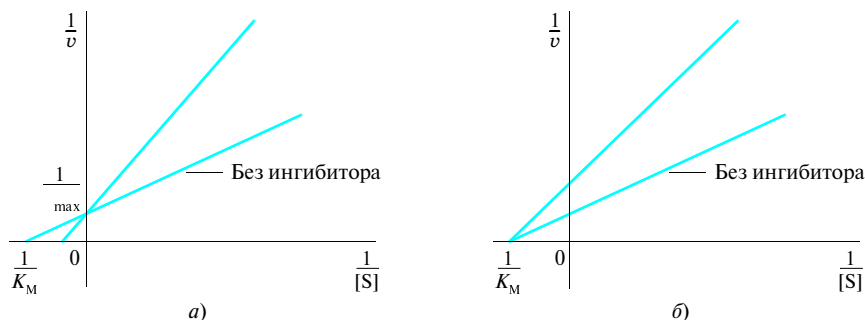


Рис. 6.11. График Лайнуивера—Бэрка для идентификации различных типов ингибирования: *а* — конкурентное ингибирование; *б* — неконкурентное ингибирование

Тип ингибирования можно определять графически, используя методы Лайнуивера—Бэрка или Эди—Хофсти (рис. 6.11).

Как видно из рис. 6.11, влияние конкурентного ингибитора на скорость реакции приводит к изменению K_M , максимальная скорость реакции при этом остается без изменения. Неконкурентное ингибирование связано со снижением V_{max} , без изменения константы Межаэлиса.

Активность многих ферментов тормозится избытком субстрата, причем имеется несколько механизмов этого процесса.

- Если в образовании фермент-субстратного комплекса участвует несколько функциональных групп фермента, то возможно одновременное присоединение к активному центру двух или более субстратов, что однозначно приведет к образованию неактивного комплекса.

- В случае избытка субстрата возможно его присоединение не только к активному центру, но и к другим химическим группировкам, функционально связанным с активным центром. Такого рода взаимодействие может помешать ферментативной реакции.

- Увеличение концентрации субстрата может повысить ионную силу реакционной среды и, как следствие, затормозить скорость ферментативной реакции.

Торможение продуктами реакции связано с тем, что они могут связываться с ферментом или с каким-либо другим компонентом системы таким образом, что скорость прямой реакции снижается.

6.5. Активаторы ферментов

Активаторы ферментов — это вещества, увеличивающие скорость ферментативной реакции. Чаще всего в качестве активаторов выступают ионы металлов, такие, как железо, медь, кобальт, магний и др. Следует различать металлы, находящиеся в составе металлоферментов, так называемые кофакторы, и выступающие в качестве активаторов ферментов. Кофакторы могут прочно связываться с белковой частью фермента, что же касается активаторов, то они легко отделяются от апофермента. Кофакторы являются обязательными участниками каталитического акта; в их отсутствие фермент неактивен. Активаторы усиливают каталитическое действие, но их отсутствие не препятствует протеканию ферментативной реакции. Как правило, металл-кофактор взаимодействует с отрицательно заряженными группировками субстрата. Металл с перемен-

Таблица 6.1. Металлы — активаторы ферментов

| Фермент | Металл | Фермент | Металл |
|------------------------|--------|----------------------|--------|
| ДНК-полимераза | Mg | α -Амилаза | Ca |
| Глутатионсинтетаза | | Гомосериндегидратаза | K |
| Гексокиназа | | Тирозиназа | Li |
| β -Галактозидаза | | Фенолоксидаза | Cu |
| Оксидоредуктаза | Mn | Аргиназа | Ni |
| Аргиназа | | Каталаза | Fe |
| Карбоангидраза | Zn | Ксантиноксидаза | Mo |
| Уриказа | | Фосфатаза | Mg |
| Липаза | Ca | | |

ной валентностью принимает участие в обмене электронов между субстратом и ферментом. Металлы-активаторы принимают участие в образовании стабильной переходной конформации фермента, что способствует более быстрому образованию фермент-субстратного комплекса. Например, ионы магния стабилизируют ферменты нуклеинового обмена, а ионы кальция — α -амилазу.

В табл. 6.1 представлены некоторые ферменты, которые активируются посредством металлов.

6.6. Основы гетерогенного катализа. Липолитические ферменты

Рассмотренные выше принципы относятся к катализу, протекающему в водной фазе, так называемому гомогенному катализу. Однако в клетках или тканях организма осуществляется значительное число реакций на границе раздела фаз по механизмам гетерогенного катализа. Естественно, что в данных условиях катализ и кинетика ферментативных реакций должны отличаться от традиционной ферментативной кинетики. В условиях гетерогенного катализа субстрат, как правило, неподвижен по отношению к ферменту, который находит его в начале каталитической реакции. Это связано с локализацией субстрата в мембранах или агрегацией его в тех или иных локусах клетки. Таким образом, в первой фазе каталитической реакции субстратом является не отдельная молекула, а неводная фаза того или иного агрегата. В литературе имеется даже соответствующий термин «суперсубстрат», обозначающий матрицу, на которой имобилизован конкретный субстрат для

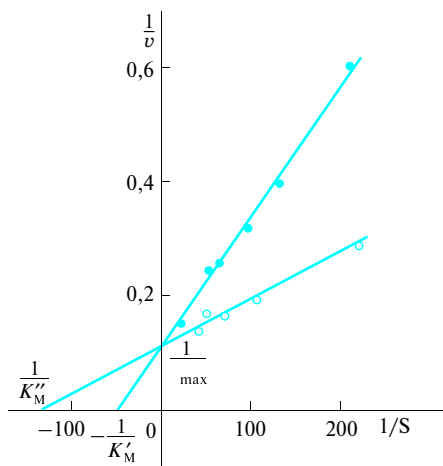


Рис. 6.12. График Лайнуивера—Бэрка для определения K_M в реакциях липолиза крупно- и мелкодисперсных эмульсий: темные кружки — крупнодисперсные эмульсии, светлые — мелкодисперсные; обе реакции имеют примерно одинаковые V_{\max} , но различные K_M

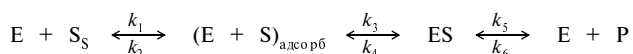
соответствующей ферментативной реакции. Необходимым условием последней является также ориентация фермента в пространстве таким образом, чтобы произошел контакт его активного центра с субстратом. В отличие от гомогенного катализа ферментативные реакции на границе раздела фаз зависят от степени дисперсности нерастворимой фазы (рис. 6.12).

Липолитические ферменты растворимы в воде, однако воздействуют они на гидрофобные субстраты. Таким образом, катализ осуществляется на границе раздела мицелла—вода. К липолитическим ферментам относят гидролазы эфиров жирных кислот с длинной (не менее 12 атомов углерода) цепью — липазы, фосфолипазы и холестерол-эстеразы.

Липазы гидролизуют эфирные связи в триглицеридах. Для этих ферментов свойственна стереоспецифичность, т. е. способность гидролизовать сложноэфирную связь или в положении 1, или в положении 3. На скорость липолиза оказывают влияние соли натрия, кальция, желчных кислот. Третичная структура липазы предусматривает наличие гидрофобного сайта, при помощи которого она соединяется с липидами, и гидрофильного хвоста, локализованного в водной фазе. Активный центр фермента находится вблизи гидрофобной головки.

Холестерол-эстеразы являются сериновыми ферментами, содержащими в активном центре сульфгидрильные группировки. Они также имеют гидрофобные участки для связи с субстратом и гидрофильные сайты, локализованные в водной фазе.

Определение кинетических констант, таких, как K_M и V_{max} , для липолитических ферментов представляет значительные трудности. Необходимо делать ряд допущений, связанных со спецификой данных реакций. Например, при оценке K_M приходится учитывать адсорбцию фермента в суперсубстрат, в который включен субстрат на границе раздела фаз. В данном случае уравнение реакции будет выглядеть следующим образом:



где S_S — концентрация субстрата, сорбированного в липидной фазе.

6.7. Регуляция активности ферментов

Различают *экстенсивную* и *интенсивную* регуляцию активности ферментов в клетках и тканях организма. Экстенсивная регуляция обусловлена индукцией или репрессией генов, кодирующих синтез соответствующих ферментов. Увеличение или уменьшение числа активных молекул определяет суммарную активность пула данного фермента в каком-либо компартменте клетки, в ткани или целом органе. В физиологических условиях содержание того или иного фермента в клетке постоянно и регулируется двумя процессами: скоростью его синтеза и распада. Оба эти процесса взаимосвязаны и контролируются на генном уровне. Увеличение скорости синтеза ферментативного белка обуславливает активацию внутриклеточных протеиназ и ускоренный распад «старых» молекул фермента, а снижение скорости синтеза приводит к замедлению распада ферментативного белка.

Интенсивная регуляция связана с изменением активности зрелых, функционирующих молекул и определяется разнообразными молекулярными механизмами.

6.7.1. Аллостерические ферменты

Термин *аллостерический* образован от греческих слов: *аллос* — другой и *стереос* — пространственный. Существует ряд ферментов, имеющих в своем составе, кроме активного центра, так называемый аллостерический центр, присоединение к которому определенных химических веществ — эффекторов — приводит к изменению конформации белковой глобулы и, как следствие, модификации ферментативной активности. Молекулы аллостерических ферментов содержат наборы как активных, так и аллостерических центров, причем с аллостерическим центром может соединяться как субстрат, так и эффектор, отличающийся по строению от субстрата. В первом случае взаимодействие является *гомotropным*, во втором — *гетеротропным*. Пространственная обособленность активных и аллостерических центров обусловлена наличием четвертичной структуры, характерной для аллостерических ферментов. Аллостерические взаимодействия наиболее ярко проявляются в характере кривых зависимости скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата. Вместо гиперболической кривой, подчиняющейся закономерностям Михаэлиса—Ментен, для аллостерических ферментов характерна сигмоидная кривая, представленная на рис. 6.13. Как видно из рисунка, при малых концентрациях субстрата скорость ферментативной реакции гораздо ниже, чем для обычных ферментов в равных условиях.

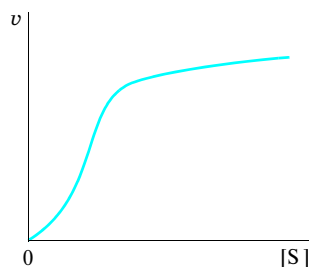


Рис. 6.13. Кривая зависимости скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата, характерная для аллостерических ферментов

Присоединение лиганда к аллостерическому центру фермента изменяет скорость реакции, причем если скорость реакции возрастает, то такой эффектор называют *положительным*, если снижается — *отрицательным*.

Аллостерические ферменты состоят как минимум из двух идентичных субъединиц, каждая из которых имеет один активный и один регуляторный (аллостерический) центры. При взаимодействии субстрата или эффектора с ферментом происходит изменение конформации одной из субъединиц, что вызывает модификацию высших структур второй субъединицы. Конформационные превращения обуславливают изменения каталитической активности молекулы фермента.

Механизм действия аллостерических ферментов имеет много общего с процессом присоединения кислорода к гемоглобину (гл. 3).

В обоих случаях присоединение лиганда приводит к изменению конформации белковых субъединиц и изменению скорости реакции.

6.7.2. Мультиферментные комплексы

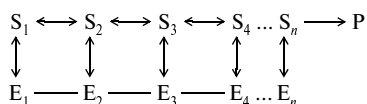
Наиболее эффективно происходит регуляция в так называемых мультиферментных комплексах. Эти комплексы представляют собой несколько ферментов, катализирующих ряд согласованных реакций, причем конечные продукты одной ферментативной реакции являются исходными субстратами для

следующей ферментативной реакции. Различают три типа мультиферментных комплексов:

- ферменты растворены в цитоплазме и контакт субстратов с ними осуществляется посредством диффузии;
- ферменты соединены друг с другом за счет белок-белковых взаимодействий;
- ферменты соединены друг с другом и иммобилизованы на внутриклеточных или цитоплазматических мембранах.

В каждом мультиферментном комплексе имеется, по крайней мере, один аллостерический фермент, осуществляющий регуляцию суммарной реакции всего ферментного ансамбля. Чаще всего этот фермент катализирует скорость первой (самой медленной) реакции, а его отрицательным модулятором является конечный продукт всего процесса в целом.

Ниже представлена схема, изображающая мультиферментную систему, в которой продукт последней реакции является отрицательным эффектором аллостерического фермента E_1 :



Мультиферментные системы могут включать в себя до 20 различных ферментов, функционирующих в определенной последовательности.

В настоящее время изучены многие мультиферментные комплексы, функционирующие на разных этапах метаболизма. Одним из таких комплексов является совокупность ферментов, катализирующих синтез пиримидинов из аспартата в бактериальных клетках. Аллостерическим ферментом в данном случае является аспартат-карбоамилаза, катализирующая первую стадию процесса, а именно превращение аспартата в карбоамилазаспартат.

Регуляция ферментативной активности может осуществляться за счет *ограниченного протеолиза*. Многие протеиназы, функционирующие вне клеток, например в крови или в пищеварительном тракте, синтезируются в виде неактивных предшественников. Активация их связана с гидролизом некоторых пептидных связей в полипептидной цепи. В качестве примера можно привести ферменты свертывания крови, а также такие ферменты пищеварительного тракта, как трипсин и химотрипсин и др.

Регуляция ферментативной активности может осуществляться за счет *ковалентной обратимой модификации* новосинтезированных белковых макромолекул. Это связано в первую очередь с ферментативным присоединением к ним низкомолекулярных химических группировок в результате фосфорилирования, гликозилирования, метилирования и т. д. Присоединение фосфатной группы к гидроксилу аминокислотного остатка полипептидной цепи может как увеличить, так и снизить ферментативную активность. Примером тому может служить гликогенфосфоорилаза — фермент, катализирующий отщепление остатков глюкозы от гликогена. В исходном состоянии он неактивен, но при фосфорилировании, осуществляемом посредством фермента протеинкиназы, происходит его активация и вовлечение в процесс метаболизма глюкозы. На-

против, фермент гликогенсинтаза активен в исходном состоянии, а при фосфорилировании его активность резко снижается.

❗ Эффективным инструментом регуляции каталитической активности является молекулярная гетерогенность ферментов, обусловленная как генетическими, так и эпигенетическими факторами.

В настоящее время около половины идентифицированных ферментов находятся в клетках и тканях в виде множественных молекулярных форм, имеющих единую субстратную специфичность, но отличающихся по физико-химическим или иммунологическим свойствам. Генетическая основа молекулярной гетерогенности обусловлена наличием нескольких генов, каждый из которых кодирует одну субъединицу фермента или одну его молекулярную форму. Кроме того, различные молекулярные формы одного и того же фермента могут кодироваться в одном генном локусе, имеющем множественные аллели. Генетически детерминированные молекулярные формы называются *изоэнзимами*. Посттрансляционные модификации ферментов, обусловленные локальным протеолизом, ковалентными модификациями, белок-белковыми взаимодействиями и т. д., являются причиной образования *множественных молекулярных форм*, не являющихся истинными изоэнзимами, но играющими существенную роль в метаболических процессах. Наиболее часто встречаются так называемые конформеры — молекулярные формы, имеющие одинаковую первичную структуру, но отличающиеся по своей конформации. Это возможно в том случае, если эти конформации достаточно устойчивы, т. е. соответствуют уровню свободной энергии, близкой к минимальной. Только такие конформационные варианты белков, которые воспроизводимо фиксируются посредством электрофоретических, хроматографических или иных методов, могут рассматриваться как конформеры.

6.7.3. Множественные молекулярные формы ферментов

Участие множественных молекулярных форм ферментов в регуляции метаболизма можно проиллюстрировать на примере синтеза аминокислот у бактерий. У *E. coli* аспараткиназная реакция предшествует синтезу трех аминокислот: треонина, лизина, метионина. Имеются три изоэнзима аспараткиназы (АК-1, АК-2 и АК-3), которые по принципу обратной связи ингибируются соответствующими аминокислотами. Вообще регуляция метаболизма изоферментами основана на различии их некоторых свойств, влияющих на скорости каталитического процесса (табл. 6.2).

Таблица 6.2. Различия свойств изоферментов, влияющих на скорости ферментных реакций

| Свойства (параметры) | Ферменты, функционирующие в виде множественных форм |
|-----------------------------|--|
| Константа Михаэлиса | Гексокиназа, пируваткиназа, глутаминаза, креатинкиназа |
| Аллостерические свойства | Гексокиназа, пируваткиназа, аспараткиназа |
| Субстрат и кофактор | Альдолаза, изоцитратдегидрогеназа |
| Внутриклеточная локализация | Аргиназа, малатдегидрогеназа |
| Влияние гормонов | Пируваткиназа, гексокиназа |

Известны случаи, когда два изоэнзима одного фермента катализируют разнонаправленную ферментативную реакцию. Например, один из изоэнзимов лактатдегидрогеназы катализирует реакцию образования лактата из пирувата, а другой — образование пирувата из лактата.

Глава 7

ПРИМЕНЕНИЕ ФЕРМЕНТОВ

7.1. Общая характеристика

Ферменты в течение многих лет применяются в различных областях практической деятельности человека: в кожевенной, пищевой, текстильной, фармацевтической и других отраслях промышленности, а также в медицине, сельском хозяйстве, химическом синтезе. Эффективность действия ферментов многократно выше по сравнению с химическими катализаторами, однако их промышленное применение затруднено из-за неустойчивости при хранении и температурных воздействиях. Кроме того, многократное применение ферментов практически невозможно в связи с технологическими трудностями их отделения от продуктов реакции.

7.2. Иммобилизованные ферменты

Новые возможности открылись перед прикладной энзимологией в связи с созданием иммобилизованных ферментов. Термин *иммобилизованные ферменты* был впервые применен в 1971 г. на первой конференции по инженерной энзимологии в США и в настоящее время получил повсеместное распространение. Иммобилизация означает взаимодействие ферментов или их активных фрагментов с растворимыми или нерастворимыми носителями, в результате чего происходит ограничение движения ферментов в пространстве. Иммобилизованные ферменты имеют ряд преимуществ при использовании их в практических целях. Основными из них являются:

- значительное увеличение стабильности ферментов;
- возможность остановки реакции в любой момент времени;
- многократное использование биокатализатора;
- получение продукта реакции, не загрязненного ферментом;
- проведение непрерывного процесса, например, в проточных колоннах;
- целенаправленное изменение свойств фермента (оптимуму pH и температуры, специфичности и др.) для оптимизации каталитического процесса.

Для получения иммобилизованных ферментов используют многочисленные носители различной природы. Носители должны быть устойчивы к воздействию химических и биологических факторов, иметь высокую проницаемость для ферментов и субстратов, а также легко переходить в активированное состояние.

Органические полимерные носители разделяют на природные и синтетические. К природным носителям относятся полисахариды, белки и липиды. Наиболее часто для иммобилизации на основе полисахаридов используют ага-

розу, целлюлозу, декстран и их производные. Целлюлоза, представляющая собой поли-1,4-β-D-глюкопиранозил-D-глюкопиранозу, высоко гидрофильна, легко активируется и поэтому часто используется в качестве носителя.

Нередко для целей иммобилизации используют хитин, представляющий собой целлюлозу, в которой CH₂ОН-группа заменена ацетамидным остатком. Из других носителей полисахаридной природы можно отметить декстран (поли-1,6-α-D-глюкопиранозил-D-глюкопираноза), представляющий собой разветвленный полисахарид микробного происхождения. Гели на основе декстрана, сшитые эпихлоргидрином, выпускаются под названием «сефадексы» и имеют самостоятельное значение в качестве носителей для выделения и очистки различных веществ.

Агароза (поли-β-галактопиранозил-3,6-ангидро-α-L-галактопираноза) также часто используется в качестве носителя для иммобилизации.

Белки как носители представляют наибольший интерес для использования в медицине, однако необходимо учитывать высокую иммуногенность и быструю их деградацию при применении *in vivo*.

Наиболее часто для иммобилизации ферментов применяют фибриллярные белки, например кератин и коллаген.

К синтетическим полимерным носителям относятся полимеры на основе стирола, производные акриловой кислоты, а также полиамидные носители.

Ферменты находят разнообразное применение в различных отраслях промышленности, а также в медицине, например:

- в медицине — в качестве противовоспалительных, тромболитических и фибринолитических препаратов;
- в химии — в качестве катализаторов при проведении различных технологических процессов;
- в фармации — при анализе лекарственных веществ белковой природы;
- в промышленности — в качестве активных компонентов стиральных и моющих средств, в дубильных процессах, в пищевых производствах, например при обработке мяса.

7.3. Применение ферментов в медицине

Белковая природа ферментов ограничивает их применение в медицинской практике. В организме, в частности в кровяном русле, находится значительное количество протеолитических ферментов, с большой скоростью гидролизующих чужеродные белки. Кроме того, большинство белков являются антигенами и при попадании в организм моментально блокируются соответствующими антителами. Несмотря на указанные ограничения, спектр применения различных ферментов в медицинской практике из года в год расширяется. Весьма эффективно использование гидролитических ферментов при болезнях желудочно-кишечного тракта, в качестве заместительной энзимотерапии (например, химотрипсина, трипсина, пепсина, амилазы и липазы). Чаще всего эти ферменты применяют в виде смесей, обладающих комбинированным действием (фестал, панзинорм и др.). При создании комплексных лекарственных форм на основе ферментов большое внимание уделяется соотношению отдельных компонентов. Авторы всемирно известного ферментного препарата WOBENZYM M. Вольф и К. Рансбергер считают, что основой полу-

чения эффективного препарата является оптимальная комбинация в нем отдельных ферментов.

Следует отметить, что при пероральном применении протеиназ в ряде случаев общая протеолитическая активность крови заметно повышалась. Это дало основание ряду авторов постулировать возможность всасывания и попадания экзогенных ферментов или их активных фрагментов в кровяное русло. Эффект более выражен при введении фермента не в водном, а в масляном растворе. Аппликационное применение ферментов при лечении гнойных ран и трофических язв давно уже вошло в медицинскую практику. Чаще всего в этих случаях применяют протеолитические ферменты, такие, как трипсин, химотрипсин и др. Фермент гиалуронидазу из семенников крупного рогатого скота используют для рассасывания рубцов и лечения суставов. Для лечения гнойных легочных заболеваний применяют ингаляционные формы химотрипсина или трипсина; дезоксирибонуклеазу — для лечения вирусных заболеваний глаз. Однако парантеральное применение ферментов по указанным выше причинам в определенной степени затруднено. Тем не менее и в этом случае некоторые ферменты с успехом используются для лечения ряда заболеваний. Достаточно эффективно применение стрептодеказы — фермента, гидролизующего тромбы в кровеносных сосудах. При многих заболеваниях сосудов, таких, как артериальный тромбоз и глубокий тромбофлебит, с успехом применяют протеолитические ферменты различного происхождения.

Особое место занимает энзимотерапия опухолевых заболеваний.

L-Аспарагиназу уже в течение многих лет применяют для лечения некоторых форм лейкоза. Механизм фармакологического действия основан на том, что лейкозные клетки не вырабатывают аминокислоту аспарагин, а получают ее из плазмы крови. Экзогенная L-аспарагиназа разрушает аспарагин в крови, и в условиях дефицита этой аминокислоты синтез белка в лейкозных клетках прекращается, что приводит к их гибели. В комплексной терапии рака используют различные нуклеазы, разрушающие нуклеиновые кислоты раковых клеток, однако до настоящего времени не решен вопрос адресной доставки ферментного препарата в опухолевые клетки. Как уже отмечалось, применение ферментов как лекарственных препаратов ограничено их иммуногенностью, аллергенностью и крайне малым временем нахождения в организме человека и животных. В этом отношении гораздо перспективнее применение *иммобилизованных* ферментов, которые более стабильны, обладают пролонгированным действием, меньшей иммуногенностью. Наиболее распространенным методом получения растворимых иммобилизованных ферментов является их ассоциация с гидрофильными полимерами, например с декстраном. Еще одним перспективным подходом применения ферментов в медицине является их *микрокапсулирование*, а также включение в *липосомы*. В этом случае ферменты защищены от действия эндогенных протеиназ, а сами липосомы, состоящие из фосфолипидных пузырьков, легко утилизируются в организме.

Следует отметить еще одну важную область применения иммобилизованных ферментов в медицине — использование их для перфузионной очистки крови и других биологических жидкостей.

В медицинской практике в качестве лекарственных средств широко применяются *ингибиторы ферментов*. К ним относятся тканевые ингибиторы про-

теиназ, такие, как трасилол (из околоушных желез), инипрол (из поджелудочной железы), кантрикал (из легких). Эти ингибиторы, способные ингибировать широкий круг протеолитических ферментов, находят применение при таких заболеваниях, как панкреатит, эмфизема легких, инфаркт миокарда и др.

7.3.1. Ферменты в клинической диагностике

Об эффективности и надежности диагностики с использованием ферментативных тестов можно судить по их чувствительности и специфичности. Чувствительность теста определяется достоверным отличием ферментативной активности в норме и при заболевании. Специфичность ферментативного анализа считается хорошей, если достоверное изменение ферментативной активности имеет место только при одном патологическом процессе.

Чаще всего в качестве диагностических и прогностических тестов применяют ферменты, циркулирующие в плазме крови. Ферменты, воздействующие на соответствующие субстраты и выполняющие специфические физиологические функции, называются *функциональными ферментами*. Кроме того, в кровь могут попадать внутриклеточные ферменты, что указывает на деструкцию тканей и клеток в результате какого-либо патологического процесса. Анализ таких ферментов наиболее важен для лабораторной диагностики, так как их появление в крови не только указывает на наличие патологического процесса, но и дает возможность определять орган, подверженный деструкции. Например, имеется три молекулярных формы альдолазы, локализованных в различных органах животного организма: А-форма — в мышцах, В-форма — в печени и С-форма — в ткани мозга. Появление в крови избыточного количества той или иной формы альдолазы дает возможность идентифицировать больной орган и определять степень деструкции его клеток.

Появление в крови большого количества α -амилазы или липазы свидетельствует о наличии острого панкреатита, а лактатдегидрогеназы — инфаркта миокарда. Увеличение в сыворотке крови активности кислой фосфатазы однозначно указывает на наличие рака предстательной железы, а повышенное содержание церулоплазмينا связано с наследственной патологией — гепатолентикулярной дегенерацией.

Специфичность ферментативных тестов можно значительно повысить, проводя анализ не общей ферментативной активности, а отдельных молекулярных форм или изоэнзимов. Для этого применяют такие методики, как электрофорез, ионообменную или гель-распределительную хроматографию, изоэлектрическое фокусирование. Еще одним методом анализа изоферментов может служить использование специфических к изоферменту антител. Этот метод обладает высокой чувствительностью и может быть легко автоматизирован. В последние годы получила распространение диагностика наследственных заболеваний при помощи рекомбинантных ДНК и метода полимеразной цепной реакции. В этой технологии большую роль играют ферменты рестриктазы (гл. 31).

7.3.2. Молекулярные основы энзимопатий

Ферменты имеют белковую природу, и их синтез находится под генетическим контролем. Если патологический процесс обусловлен временным дефицитом соответствующего фермента, то показана заместительная энзимотера-

пия. Однако нередко случаи, когда дефицит или полное отсутствие фермента связано с генетическими мутациями, вызывающими наследственные болезни.

Известны многочисленные случаи наследуемых нарушений синтеза белка, приводящих к тяжелым патологическим состояниям. Например, частичное подавление синтеза α - или β -цепей гемоглобина приводит к развитию гемолитических анемий или талассемий. В некоторых странах широко распространена β -талассемия, связанная с наличием дефектных генов, кодирующих синтез β -цепей гемоглобина. Мутации генов, кодирующих синтез α -цепей, приводят к тяжелым последствиям уже на уровне внутриутробного развития плода.

Наследственные болезни чаще всего связаны с недостатком одного или нескольких ферментов в результате подавления их синтеза. Это приводит к нарушениям тех или иных обменных процессов и, как следствие, развитию различных заболеваний. Из-за отсутствия какого-либо фермента определенные звенья метаболических путей, состоящих из последовательно протекающих реакций, оказываются блокированными. При этом метаболиты, образованные до дефектного звена, накапливаются в патологических количествах, а метаболиты, синтез которых связан с последующими этапами, не образуются вовсе. Это вызывает развитие физиологически не обоснованных биохимических реакций, затрагивающих многие жизненно важные функции живого организма. Рассмотрим отдельные примеры.

Нарушение углеводного обмена. В результате дефицита **фосфофруктокиназы** происходит снижение скорости гликолиза в мышцах и патологическое отложение гликогена. Гликолиз подавлен также в эритроцитах, что может быть причиной их хронического гемолиза.

Энзимопатия **гексокиназы** является причиной гемолитической анемии в результате преждевременного распада эритроцитов.

Галактоземия представляет собой врожденное нарушение углеводного обмена, связанное с дефицитом или полным отсутствием фермента, превращающего галактозу в глюкозу. В детском возрасте галактоза является весьма существенным компонентом питания, являясь составной частью лактозы — основного углевода молока. Галактоза в организме превращается в глюкозу-1-фосфат следующим образом:



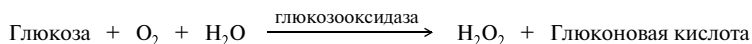
Превращение галактозо-1-фосфата в глюкозо-1-фосфат происходит при помощи фермента **галактозо-1-фосфатуридилтрансферазы**. Именно этот фермент отсутствует при врожденной галактоземии.

Нарушения обмена аминокислот. Фенилкетонурия является одним из наиболее распространенных заболеваний обмена фенилаланина и связана с отсутствием в организме фермента фенилаланин-4-гидроксилазы, которая катализирует превращение фенилаланина в тирозин. В организме при этом скапливается большое количество фенилаланина, вызывающее ряд вторичных биохимических реакций. Так, взаимодействие фенилаланина с пируватом приводит к образованию фенилпировиноградной кислоты, которая в больших количествах выводится с мочой. (Это и послужило основанием для названия данной патологии.) Фенилаланин или его производные поражают ткани мозга, что приводит к умственной отсталости — олигофрении.

7.4. Применение ферментов в фармацевтическом анализе

В фармации первостепенное значение имеет стандартизация и контроль качества лекарственных препаратов. В ряде случаев, применительно к лекарственным веществам природного происхождения, используют стандартизацию, основанную на биологической активности соответствующего вещества. Это связано с тем, что фармакологический эффект обусловлен именно биологической активностью того или иного препарата и не обязательно пропорционален его концентрации. Стандартизация и контроль качества ферментов — лекарственных препаратов также оцениваются по их каталитической активности.

Кроме того, ферменты применяют в качестве аналитических реагентов для оценки фармакологических препаратов. Широкое применение получил метод определения глюкозы в крови при помощи фермента глюкозооксидазы:



Количество поглощенного кислорода определяют при помощи кислородного электрода, что обеспечивает высокую точность анализа. Для аналитических целей чаще всего используют иммобилизованные ферменты в виде так называемых ферментных электродов. Они представляют собой комбинацию электрохимических датчиков и иммобилизованных ферментов. При взаимодействии фермента с анализируемым веществом продукт реакции изменяет окислительно-восстановительный потенциал, что является индикатором содержания исследуемого вещества в среде.

Одним из первых был сконструирован ферментный электрод, чувствительный к глюкозе (рис. 7.1).

В процессе ферментативной реакции кислород удаляется из среды со скоростью, пропорциональной содержанию глюкозы.

Для контроля содержания в ростовых средах пенициллина применяют пенициллиновый электрод с использованием рН-датчика, покрытого иммобилизованным ферментом пенициллазой, которая катализирует реакцию:

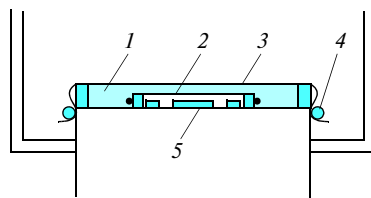
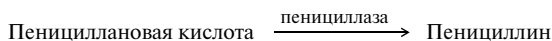


Рис. 7.1. Глюкозочувствительный ферментный электрод:
1 — тefлоновая пленка; 2 — иммобилизованная глюкозооксидаза;
3 — пленка из ацетата целлюлозы;
4 — платиновый кислородный электрод; 5 — насыщенный раствор KCl

Т а б л и ц а 7.1. Ферментные электроды (по М. Тривену)

| Тип | Чувствительный электрод | Стабильность | Диапазон, моль/л | Время ответа, мин |
|--------------|---------------------------------|----------------------------|------------------|--------------------|
| Мочевина | Катион pH NH ₃ | 1 мес. 3 нед. 4 мес. | $\cdot 10^{-5}$ | 1—2 5—10 2—4 |
| Глюкоза | Pt(O ₂) | 4 мес. | $\cdot 10^{-5}$ | 1 |
| Аминокислота | | 6 мес. | $\cdot 10^{-5}$ | 0,2 |
| Спирт | | 4 мес. | 1—100 мг/% | 0,5 |
| Пенициллин | pH | 2 нед. | $\cdot 10^{-4}$ | 1—2 |

На основе иммобилизованных ферментов получают электроды многократного действия. Электродом, изготовленным с помощью растворимого фермента, можно провести около 50 измерений, а с помощью химически иммобилизованного на нерастворимом носителе несколько сотен измерений.

Данные о характеристиках некоторых ферментных электродов представлены в табл. 7.1.

Определение оротовой кислоты можно проводить при помощи соответствующей дегидрогеназы оротовой кислоты. Фермент при помощи НАДН катализирует восстановление оротовой кислоты и образования НАД. Кокарбокксилаза в крови определяется при помощи *пирофосфатазы* из *Asp. niger*, расщепляющей ее с образованием тиамин, по количеству которого и определяют концентрацию кофермента.

7.5. Применение ферментов в производственных процессах

Многие ферменты используют в пищевой промышленности. В кондитерском производстве применяется **инвертаза** дрожжей, превращающая сахарозу в глюкозу и фруктозу, предотвращая кристаллизацию сахарозы при высоких ее концентрациях.

Глюкозоизомераза, иммобилизованная на целлюлозном носителе, применяется для получения глюкозо-фруктозных сиропов с преимущественным содержанием фруктозы. Крупномасштабным производством является получение глюкозы из крахмала с использованием иммобилизованной амилоглюкозидазы в проточных перемешиваемых реакторах.

Для просветления пива используют протеиназы, в частности папаин, иммобилизованный на хитине. В пивоварении для замены солода используют **амилазы**. Эти ферменты находят свое применение также при производстве патоки и растворимого крахмала. В хлебопечении амилазы на 30% ускоряют процесс созревания теста, улучшают качество хлеба, предотвращая процесс черствления.

При обработке молока ферменты используют в нескольких технологических процессах.

При производстве сыра одной из основных стадий является коагуляция молока, которая осуществляется при помощи реннина.

Для удешевления процесса в ряде случаев применяют бактериальные ренины, иммобилизованные на нерастворимых носителях. Вкусовые свойства сыра могут быть улучшены за счет укорочения цепи углеродных атомов в результате гидролиза под действием **липаз** микроорганизмов.

Отходом при производстве сыра является молочная сыворотка, содержащая большое количество лактозы. Последняя содержит галактозу и глюкозу, представляющую большую пищевую ценность. Однако получение глюкозы из лактозы при помощи растворимой лактазы нетехнологично, поэтому был разработан метод гидролиза лактозы при помощи иммобилизованной на триацетате целлюлозы лактазы.

Для стабилизации молока его обрабатывают протеиназами. Так, обработанное иммобилизованным **трипсином** молоко меньше подвержено окислению и в течение двух недель не утрачивает своего вкуса.

Целлюлазы используют при приготовлении растворимого кофе, а также при обработке цитрусовых. Кислая липаза применяется в хлебопечении; она катализирует процесс образования моноглицеридов, препятствующих черствлению хлеба.

В кожевенном производстве для обработки шкур применяют препараты протеиназ микробного происхождения, при этом качество сырья значительно улучшается, а время технологического процесса сокращается почти в два раза.

В текстильной промышленности пектолитические ферменты с успехом используют для переработки льносолумы и получения из нее льноволокна. Некоторые **протеиназы** применяют для обесклеивания шелка и высвобождения шелковых волокон.

Широкое применение нашли ферменты в тонком органическом синтезе. Чаще всего используют гидролитические ферменты, иммобилизованные на растворимых носителях. В частности, гидролазы применяют для модификации пенициллинов и цефалоспоринов. Биокаталитический процесс связан с модификацией боковой цепи антибиотика без изменения его ядра.

Примером может служить производство полусинтетических пенициллинов. Они являются производными 6-аминопенициллановой кислоты, деацилированной формы **бензилпенициллина**. В настоящее время известно много технологических процессов, в которых используется иммобилизованная пенициллинамидаза, осуществляющая это деацилирование. Полусинтетические пенициллины получают в реакторах периодического действия, иммобилизацию фермента проводят на триацетате целлюлозы.

Некоторые биотехнологи предпочитают иммобилизованным ферментам иммобилизованные клетки. Действительно, выделение, очистка и иммобилизация ферментов являются трудоемким и дорогостоящим процессом. Однако во многих случаях цель оправдывает средства, и иммобилизованные ферменты все больше находят применение в биотехнологии. Если клетки синтезируют ферменты, которые смогут повлиять на фермент или субстрат основной реакции, то применение иммобилизованных клеток нецелесообразно. И напротив, при отсутствии факторов, мешающих катализу основной реакции, иммобилизация микробных клеток возможна и целесообразна.

Глава 8

ВИТАМИНЫ

8.1. Общая характеристика

Витамины представляют собой группу разнообразных по строению химических веществ, принимающих участие во многих реакциях клеточного метаболизма. Они не являются структурными компонентами живой материи и не используются в качестве источников энергии. Большинство витаминов не синтезируется в организме человека и животных, но некоторые синтезируются микрофлорой кишечника и тканями в минимальных количествах, поэтому основным источником этих весьма важных для процессов жизнедеятельности веществ является пища. Потребность человека и животных в витаминах неодинакова и зависит от таких факторов, как пол, возраст, влияние среды обитания. Некоторые витамины нужны не всем животным, так, например, L-аскорбиновая кислота необходима для человека, обезьяны, морской свинки. Вместе с тем для многих животных, способных ее синтезировать, аскорбиновая кислота не является витамином.

Витамины были открыты в конце XIX столетия во многом благодаря работам русских ученых Н. И. Лунина и В. В. Пашутина, впервые показавших необходимость для полноценного питания кроме белков, углеводов, жиров и еще каких-то неизвестных веществ. В 1912 г. польский ученый К. Функ, изучая компоненты, входящие в состав шелухи риса и предохраняющие от болезни бери-бери, и полагая, что в их состав обязательно должны входить аминные группировки, предложил называть эти неизвестные вещества *витаминами*, т. е. аминами жизни. В дальнейшем было установлено, что многие из них аминных групп не содержат, но термин «витамин» прижился в науке и практике. В природе биосинтез витаминов осуществляется растениями и микроорганизмами, причем некоторые витамины в растениях также принимают участие в процессах биокатализа.

8.1.1. Классификация витаминов

По мере открытия отдельных витаминов их обозначали буквами латинского алфавита и называли в зависимости от их биологического действия. Например, витамин А — аксерофтол (от лат. *ксерофтальмия* — глазное заболевание), витамин Е — токоферол (от лат. *токос* — деторождение, *феро* — несущий) и т. д. Помимо буквенной классификации, применяется классификация витаминов, разделяющая их на две группы по признаку растворимости в воде или в жирах (табл. 8.1).

Кроме того, существуют *витаминоподобные вещества*, например убихинон, липоевая кислота, карнитин и др.

В ряде случаев в организм поступают предшественники витаминов, так называемые *провитамины*, которые в организме превращаются в активные формы витаминов. К провитаминам, в частности, относятся каротиноиды, широко распространенные в растительном мире. Большую группу провитаминов представляют стерины, при облучении ультрафиолетом переходящие в кальциферолы.

Таблица 8.1. Классификация витаминов

| Номенклатура | | | |
|---------------------------------|----------------------|--------------------------|----------------------------------|
| Буквенное обозначение | Наименование | Физиологическое действие | Химическая структура |
| Жирорастворимые витамины | | | |
| A | Ретинол | Антисклерофтальмический | Циклогексенилизо-преноидный |
| D | Эргокальциферол | Антирахитический | Циклогексанол-этиленгидринданный |
| E | Токоферол | Антистерильный | Хромановый |
| K | Филлохинон | Антигеморрагический | Нафтохиноновый |
| Водорастворимые витамины | | | |
| B ₁ | Тиамин | Антиневритный | Пиримидилметил-тиазолиевый |
| B ₂ | Рибофлавин | Витамин роста | Флавиновый |
| B ₃ | Пантотеновая кислота | Антидерматитный | Производный β-аминокислот |
| B ₅ (PP) | Никотинамид | Антипеллагрический | Производный β-аминокислот |
| B ₆ | Пиридоксин | Антидерматитный | Оксиметилпиридиновый |
| B ₉ | Фолиевая кислота | Антианемический | Птериновый |
| B ₁₂ | Цианкобаламин | Антианемический | Корриновый |
| H | Биотин | Антисеборейный | Гексагидроимидазолотиеновый |
| C | Аскорбиновая кислота | Антискорбутный | Производный полиокси-γ-лактонов |
| P | Рутин | Капилляроукрепляющий | Хромановый |
| U | S-Метилметионин | Противоязвенный | Аминокислота |

8.1.2. Нарушение баланса витаминов в организме

Потребность человека в витаминах зависит от пола, возраста, физиологического состояния и условий среды обитания. Помимо этого на потребность в витаминах оказывает влияние не только их количество в пище, но и способность организма их утилизировать (табл. 8.2).

При недостаточном поступлении витаминов в организм развивается первичный авитаминоз, связанный с отсутствием в организме одного или нескольких витаминов. Так как тот или иной продукт содержит в необходимом для человека количестве ограниченное число витаминов (морковь — витамин А, капуста — витамин С и т. д.), становится понятным необходимость сбалансированной диеты, включающей в себя разнообразные продукты растительного и животного происхождения. Авитаминозы в нормальных условиях питания являются редким явлением, чаще наблюдаются гиповитаминозы, связанные с недостаточным количеством того или иного витамина. Гиповитаминоз может развиваться не только из-за несбалансированного питания, а в результате нару-

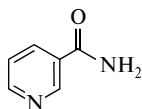
Таблица 8.2. Суточная потребность человека в некоторых витаминах

| Витамин | Суточная потребность, мг | Витамин | Суточная потребность, мг |
|------------|--------------------------|----------------------|--------------------------|
| Ретинол | 1,5 | Никотинамид | 19,2 |
| Токоферол | 15 | Пиридоксин | 3,4 |
| Тиамин | 2,5 | Аскорбиновая кислота | 90 |
| Рибофлавин | 2,2 | | |

шения всасывания витаминов при патологиях желудочно-кишечного тракта или печени, различных эндокринных или инфекционных заболеваниях. Некоторые витамины вырабатываются кишечной микрофлорой. Подавление их биосинтетических процессов в результате действия антибиотиков или сульфамидных препаратов также может привести к развитию гиповитаминоза. Отмечены случаи, когда авитаминозы не поддаются лечению даже большими количествами витаминных препаратов (витаминрезистентные состояния). Как правило, это врожденные болезни, протекающие очень тяжело и часто приводящие к летальному исходу. Напротив, чрезмерное потребление пищевых витаминных добавок, содержащих витамины, а также витаминных лекарственных форм может привести к патологическому состоянию — гипервитаминозу, чаще характерному для жирорастворимых витаминов.

8.1.3. Коферментная функция витаминов

О. Варбургу в 1935 г. при изучении окислительного распада углеводов впервые удалось получить в кристаллическом состоянии кофермент глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы. Было также установлено наличие в его составе амида никотиновой кислоты. В дальнейшем оказалось, что никотинамид является компонентом коферментов ряда ферментативных систем, участвующих во многих окислительно-восстановительных реакциях организма. Последующий период исследований ферментов ознаменовался открытием большого числа коферментов, содержащих в своем составе те или иные витамины. Например, никотинамид — антипеллагрический витамин, входящий в состав кофермента никотинамидадениндинуклеотида:



Анализ структуры коферментов позволяет выделить в них два функциональных участка, один из которых отвечает за связь с белком, а другой принимает участие непосредственно в каталитическом акте. Как правило, витамины принимают участие именно в катализе. Подавляющее число витаминов, входящих в состав коферментов, растворимы в воде (табл. 8.3).

Таблица 8.3. Функции некоторых витаминов в ферментативном катализе

| Витамин | Активная форма | Тип катализируемой реакции |
|---------------------------------|------------------------------|--|
| Водорастворимые витамины | | |
| Тиамин | Тиаминпирофосфат | Декарбоксилирование α-кетокислот |
| Рибофлавин | Флавиномононуклеотид | Окислительно-восстановительные реакции |
| Никотинамид | Никотинамидадениндинуклеотид | Окислительно-восстановительные реакции |
| Пиридоксин | Пиридоксальфосфат | Перенос аминогрупп |
| Пантотеновая кислота | Кофермент А | Перенос ацильных групп |
| Биотин | Биоцитин | Перенос CO ₂ |
| Жирорастворимые витамины | | |
| Ретинол | Ретиналь | Зрительный процесс |
| Витамин К | Филлохинон | Регуляция свертывания крови |

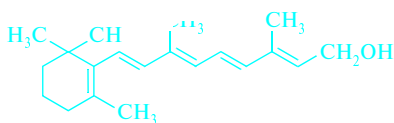
Глава 9

ВИТАМИНЫ, РАСТВОРИМЫЕ В ЖИРАХ

9.1. Витамины группы А

9.1.1. Общая характеристика

Витамин А был открыт Н. Друммондом в 1916 г. Этому открытию предшествовали наблюдения о наличии жирорастворимого фактора в пище, необходимого для нормального развития сельскохозяйственных животных. В дальнейшем было установлено, что имеется три витамина группы А: ретинол, или витамин А₁, неоретинол — стереоизомер А₁ и А₂. Этот витамин необходим не только животным, но и человеку, и при его дефиците у человека появляются заболевания глаз — ксерофтальмия и гемеролапия. Витамины группы А содержатся только в животных продуктах, таких, как печень, рыбий жир, сливочное масло и др. В растительной пище содержатся каротиноиды, способные предупреждать А-авитаминоз. При поступлении в организм человека или животных они под влиянием фермента каротиныазы превращаются в витамин А₁. Ретинол представляет собой неопредельный одноатомный спирт, состоящий из β-иононового кольца, а также боковой цепи, содержащей два остатка изопрена и первичную спиртовую группу:



витамин А₁ (ретинол)

Витамин А₂ отличается от ретинола наличием дополнительной двойной связи в β-иононовом кольце. Потребность человека в витамине А составляет примерно 1,5 мг.

Витамин А и соответствующие провитамины — каротиноиды широко распространены в природе и находятся в основном в животных организмах. Данные об их содержании в некоторых пищевых продуктах приведены в табл. 9.1 и 9.2.

Таблица 9.1. Содержание витамина А в животных пищевых продуктах

| Пищевой продукт | Содержание витамина, мкг/г |
|-----------------|----------------------------|
| Печень | 250 |
| Яйцо куриное | 100 |
| Масло сливочное | 75 |
| Молоко коровье | 1,0 |

Таблица 9.2. Содержание каротиноидов в растительных пищевых продуктах

| Пищевой продукт | Содержание витамина, мкг/г |
|-----------------|----------------------------|
| Морковь | 100 |
| Лук зеленый | 45 |
| Картофель | 40 |
| Лук репчатый | 35 |

9.1.2. Метаболизм витамина А

Витамин А поступает в организм как в свободном, так в эстерифицированном виде. Свободный ретинол сорбируется слизистой кишечника, а его эфиры сначала гидролизуются при помощи фермента гидролазы эфиров карбоновых кислот. На внутренней поверхности ворсинок кишечника происходит ресинтез эфиров ретинола, которые затем поступают в кровь или в лимфу. В лимфе более 90% витамина А находится в эстерифицированном состоянии. В крови витамин А связывается со специфическим ретинол-связывающим белком, а затем депонируется в печени. Благодаря этому концентрация витамина А в сыворотке крови более или менее постоянна даже при некотором дефиците этого витамина в пище.

В тканях ретинол окисляется в результате включения в его состав молекулярного кислорода. Окислительное расщепление осуществляется при помощи ферментов β -каротин-15,15'-диоксигеназ. Эти ферменты, выделенные из различных тканей человека, обладают сходными свойствами (табл. 9.3).

Таблица 9.3. Некоторые свойства β -каротин-15,15'-диоксигеназ кишечника и печени

| Свойства ферментов | Источник фермента | |
|-----------------------|-------------------|------------------|
| | кишечник | печень |
| pH-оптимум | 7,5—8,0 | — |
| K_M | $3 \cdot 10^6$ М | $2 \cdot 10^6$ М |
| N-Этилмалемид | Ингибитор | Ингибитор |
| Иодацетат | | |
| n-Хлормеркурийбензоат | | |

Одним из известных метаболитов витамина А является 11-цис-ретиаль. Выведение ретинола и его метаболитов происходит с желчью в виде глюкуронидов.

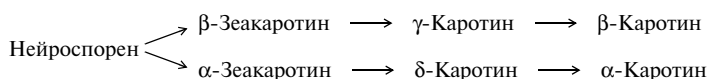
9.1.3. Биохимические функции

Витамин А в организме осуществляет разнообразные функции. Вскоре после открытия была установлена его необходимость для нормального роста, а также для процесса сперматогенеза. В дальнейшем было показано, что витамин А необходим для нормального эмбрионального развития, а его окисленная форма — ретиноевая кислота — контролирует ростовые процессы. Биохимическая основа действия витамина А чаще всего связана с влиянием на проницаемость клеточных мембран. С помощью радиоизотопной техники было установлено также, что витамин А сорбируется на мембранах эндоплазматического ретикулума, влияя на созревание и транспорт секреторных белков. Велика роль витамина А в фотохимических процессах зрения. В зрительном акте можно выделить изменение конформации пигментов под действием кванта света, формирование нервного импульса, а также релаксацию пигмента в исходное состояние. Пигмент, состоящий из ретиналя и белка опсина, называется родопсином, при замене ретиналя на гидроретиаль образуется порфиropsин. Пигменты локализованы в колбочках, расположенных в мембране сетчатки. При фотохимической реакции происходит поглощение квантов света-

вой энергии зрительным пигментом — родопсином. Родопсин, который в качестве хромофора содержит 11-*цис*-ретиаль, под действием света превращается в нестабильный продукт лумиродопсин. При этом происходит изменение конформации молекулы родопсина, которое инициирует формирование нервного импульса, передающегося в мозг. Затем в результате фотоизомеризации образуется полный *транс*-ретиаль, который в конечном счете распадается на *транс*-ретиаль и белок опсин. В результате действия фермента ретинальизомеразы полный *транс*-ретиаль изомеризуется в 11-*цис*-ретиаль, который в темноте взаимодействует с опсином и регенерирует родопсин.

9.1.4. Биосинтез

Предшественником витамина А является изопентилпирофосфат, из которого и образуется молекула каротиноида. Синтез изопентилпирофосфата происходит через синтез мевалоновой кислоты, которая образуется в результате присоединения друг к другу трех молекул ацетил КоА. Мевалоновая кислота при помощи АТФ превращается сначала в 5-дифосфомевалоновую кислоту, а затем в изопентилпирофосфат. Следующим этапом является изомеризация изопентилпирофосфата в диметилаллилпирофосфат (гл. 23.5). В результате последующих реакций образуется циклический интермедиант нейроспорен, из которого и получают каротины:



Многие микроорганизмы продуцируют каротиноиды. Например, культура *Blakeslea trispora* продуцирует β -каротин в количестве до 20 мг на 1 г сухой биомассы. Растения, синтезирующие каротины в значительных количествах, являются источниками промышленного получения витамина А. Принцип извлечения каротиноидов из растительных тканей основан на экстракции сухого измельченного сырья органическими растворителями с дальнейшим разделением каротиноидов хроматографическими методами. β -Каротин в кристаллическом виде получают из люцерны, моркови и тыквы.

9.1.5. Химический синтез

Имеется много технологических схем химического синтеза витамина А. Одна из них связана с конденсацией β -иона с эфирами хлоруксусной кислоты. Схематически процесс можно представить следующим образом.

Сначала синтезируется альдегид- β -C₁₄ в присутствии алкоголятов высших спиртов, который затем превращается в альдегид- β -C₁₆. Далее получают альдегид- β -C₁₉, взаимодействие которого с циангидрином ацетона и последующая дегидратация оксинитрила приводят к нитрилу кислоты витамина А, восстановление которого и последующий гидролиз дают *транс*-ретиаль. На последней стадии ретиаль восстанавливается натрийборгидридом и образуется витамин А.

9.1.6. Авитаминоз

Недостаток витамина А приводит к замедлению роста и, в частности, нарушению процесса костеобразования. Общим нарушением, возникающим при недостатке витамина А, является кератинизация кожи, слизистых оболочек

чек и эпителиальных клеток. При гиповитаминозе А отмечены повреждения репродуктивной системы и органов дыхания. Одним из специфических признаков недостатка витамина А является нарушение процесса зрения, в частности снижение способности глаз к темновой адаптации. Авитаминоз приводит к возникновению ксерофтальмии и разрушению роговицы (кератомилия). Последний процесс необратим и характеризуется полной потерей зрения. Гипервитаминоз А приводит к воспалению глаз и нарушению волосяного покрова, потере аппетита и полному истощению организма.

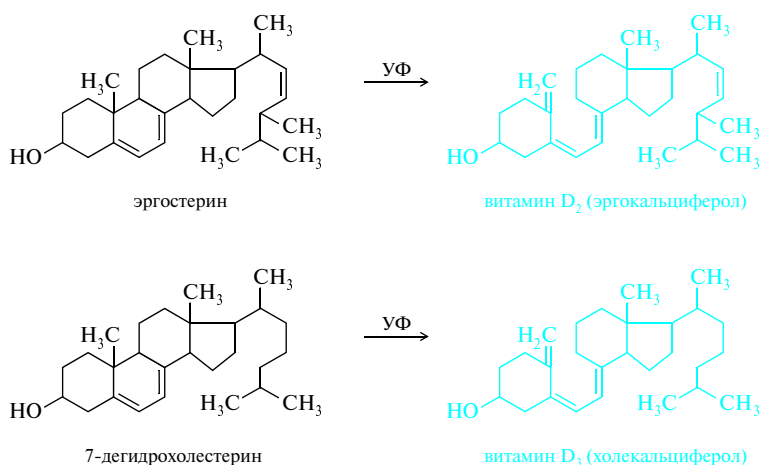
9.1.7. Практическое применение

В качестве лекарственных препаратов используют как природные витаминные группы А, так и полученные методом химического синтеза. В лечебных целях витамин А используют при инфекционных заболеваниях, ослаблении зрения, нарушениях функций желудочно-кишечного тракта. Витамин А показан в комплексной терапии сердечно-сосудистых заболеваний, а также при воздействии на организм токсических химических веществ. Препарат вводится per os в капсулах.

9.2. Витамины группы D

9.2.1. Общая характеристика

Еще в XVII столетии было известно, что детское заболевание рахит излечивается некоторыми продуктами питания, в частности рыбьим жиром. Позднее ученые обнаружили влияние солнечного света на это заболевание. В 1924 г. было сформулировано заключение о том, что в пище под действием ультрафиолетового облучения происходит активация каких-то антирахитических факторов. Смеси этих веществ были выделены и идентифицированы как стеринны. И наконец, в 1932 г. А. Виндаус после облучения эргостерина из дрожжей получил индивидуальное вещество, обладающее антирахитическим действием и названное эргокальциферолом или витамином D₂. Четыре года спустя из рыбьего жира был выделен препарат, названный витамином D₃, причем предшественником его являлся не эргостерин, а холестерин.



Витамины группы D имеют сходное строение и свойства. Витамины D₂ и D₃ представляют собой бесцветные кристаллы, они оптически активны, хорошо растворимы в ацетоне и нерастворимы в воде. Температура их плавления 120 и 90 °С соответственно, максимум поглощения в ультрафиолете при $\lambda = 265$ нм. При недостатке витамина D у детей развивается заболевание рахит, связанное с нарушением обмена кальция и фосфора. Провитамины группы D широко распространены в природе. Особенно много их в печени рыб и животных. Из других продуктов, содержащих в большом количестве витамины D, являются сливочное масло, яйца, молоко (табл. 9.4). Суточная потребность детей в этом витамине составляет 20—25 мкг, а взрослых — в 2—3 раза меньше.

Т а б л и ц а 9.4. Содержание витамина D в продуктах питания

| Пищевой продукт | Содержание витамина, мкг/г | Пищевой продукт | Содержание витамина, мкг/г |
|-----------------|-------------------------------|-----------------|-------------------------------|
| Печень скумбрии | 1400 | Печень быка | 0,025 |
| Печень камбалы | 80 | Яйцо куриное | 0,05 |
| Печень трески | 3,0 | Масло сливочное | 0,03 |

9.2.2. Метаболизм

В организме животных после введения витаминов D были обнаружены их гидроксилированные производные, причем процесс гидроксилирования осуществлялся в печени и в почках. Эти метаболиты являются основной частью группы активных витаминов D и гораздо более эффективны в отношении регуляции кальциевого и фосфорного обмена. Одним из них является 1,25-дигидрокси-витамин D. Образование метаболитов зависит от пола, возраста, гормонального статуса человека или животных, а также от содержания кальция в крови. Транспорт витаминов D осуществляется специальными белками крови с молекулярной массой 18—20 kDa. Выведение витамина D и его метаболитов из организма происходит с желчью в виде глюкуронидов.

9.2.3. Биохимические функции

Исходный витамин D₃ является регулятором образования гидроксилированной формы 25-(ОН) D₃, ингибируя активность фермента 1- α -гидроксилазы. Как уже было отмечено, биологические функции витамина D в основном связаны с действием его метаболитов. Физиологические концентрации кальция в крови поддерживаются системой, составной частью которой являются гидроксилированные формы D₃. Идентифицирован механизм активации щелочной фосфатазы и кальций-зависимой АТФ-азы посредством метаболита витамина D₃, а именно 1,25-(ОН)₂ D₃. Этот метаболит, локализованный в ядрах, принимает участие в регуляции генной активности. Гидроксилированные формы витамина D₃ способствуют минерализации тканей, а также нормальному функционированию паращитовидных желез.

9.2.4. Синтез

Предшественники витамина D — вещества стероидной природы — синтезируются в дрожжах, растительных и животных тканях. Исходными веществами синтеза являются ацетил-КоА и малонил-КоА (гл. 23).

Провитамин D_2 поступает в организм в готовом виде, а провитамин D_3 синтезируется в животных тканях. Холестерол превращается в витамин D_3 при помощи фермента оксидоредуктазы холестерина и НАДФ. Этот процесс, в частности, протекает в коже, где провитамин превращается в активную форму под действием солнечного света.

В настоящее время разработано много схем химического синтеза витаминов D_2 и D_3 . Одна из них заключается в следующем. В полном синтезе прекальциферола сначала получают 9α -хлор- $9,10$ -секохолест- $5(10)$ -ен- 6 -ин- $3\beta,8\beta$ -дион. Далее получают диенин, который превращается в прекальциферол. Термической изомеризацией в бензоле прекальциферол превращается в холекальциферол.

9.2.5. Авитаминоз

Несбалансированная по кальцию и фосфору пища, недостаточность солнечного воздействия, а также дефицит витамина D в рационе питания приводят к заболеванию рахитом. Это заболевание связано с замедлением процессов минерализации и нарушением костеобразования у детей. D -авитаминоз взрослых характеризуется развитием остеопороза вследствие удаления кальция из костной ткани. Гипервитаминоз D приводит к избыточному отложению кальция в тех органах, в которых в физиологических условиях он не депонируется (стенки сосудов, почки, легкие).

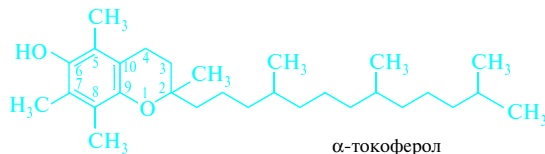
9.2.6. Практическое применение

Лекарственная форма витамина D_3 представляет собой масляный раствор, применяемый пер ос или парантерально для профилактики рахита, при спазмофилии, гипокальциемии, остеомалации и остеопорозе. В дозах, превышающих 15 — 20 мкг в день, витамин D_3 оказывает токсическое действие на почки и сердечно-сосудистую систему.

9.3. Витамины группы E

9.3.1. Общая характеристика

В 1922 г. Г. Эванс и А. Бишо открыли жирорастворимый витамин, названный ими токоферолом (дословно — способствующий родам). Позднее он получил название витамина E. Будучи производным хромана, токоферол имеет следующую химическую формулу:



Имеется три группы токоферолов, отличающихся по степени метилирования хроманового ядра и биологической активности: α -токоферол, или 5,7,8-триметилтокол; β -токоферол, или 5,8-диметилтокол и γ -токоферол, или 5-монометилтокол. Наибольшей биологической активностью обладает α -токоферол, активность β -токоферола почти вдвое меньше.

Токоферолы представляют собой маслянистую жидкость; они термостабильны и хорошо растворимы в органических растворителях. Для токоферолов характерна оптическая активность, обусловленная наличием асимметричного углеродного атома. Суточная потребность человека составляет 13—20 мг витамина Е.

Витамины группы Е в большом количестве содержатся в растительных и животных маслах, пшенице, моркови, яйцах и молоке (табл. 9.5).

Т а б л и ц а 9.5. Содержание витамина Е в некоторых пищевых продуктах

| Пищевой продукт | Содержание витамина, мг % | Пищевой продукт | Содержание витамина, мг % |
|--------------------|---------------------------|-----------------|---------------------------|
| Растительное масло | 20 | Яйцо куриное | 0,5 |
| Маргарин | 6,0 | Морковь | 0,45 |
| Сливочное масло | 2,1 | Пшеница | 1,1 |

9.3.2. Метаболизм

Всасыванию токоферола в кишечнике предшествует его растворение в липидах и эмульгирование при помощи желчных кислот. В комплексе с хиломикронами витамин Е попадает в кровь и с током крови — в клетки и ткани организма. Большая часть его встраивается в мембраны клеток жировой ткани и печени. Избыток исходного токоферола выводится с калом, а его метаболиты, в частности 4-метил-4-окси(3,5,6-триметил-бензохинонил) гексакрбонвая кислота, после конъюгации с глюкуроновой кислотой выводятся с мочой.

9.3.3. Биохимические функции

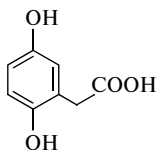
Механизм действия витамина Е в первую очередь связан с его антиоксидантными свойствами. Предотвращая процесс пероксидного окисления липидов, этот витамин поддерживает целостность биологических мембран, структурным компонентом которых он является. Витамин Е, будучи своеобразной ловушкой для свободных радикалов, играет существенную роль в функционировании антиоксидантной защиты всего организма. Имеются данные об участии витамина Е в синтезе гема — простетической группы ряда гемопотеинов. В отсутствии этого витамина нарушается синтез дегидротазы δ -аминолевулиновой кислоты — предшественника синтеза гема. Гемсодержащие ферменты являются важными компонентами тканевого дыхания, которое нарушается при дефиците витамина Е. Установлена связь между витамином Е и селеном, причем повышение содержания селена в пище сокращает потребность организма в витамине Е.

9.3.4. Синтез

Токоферол был синтезирован из триметил-*n*-гидрохинона и фитилбромида в среде бензола. Реакция конденсации связана с образованием ряда промежуточных продуктов, одним из которых является аллиловый эфир.

В промышленности используют метод получения более активного α -токоферола из низкоактивных β - и γ -токоферолов. Процесс связан с хлорметилированием и последующим восстановлением полученного продукта.

Биосинтез токоферолов осуществляется только зелеными растениями, причем предшественником является гомогентизиновая кислота, а донором метильных группировок — метионин.



ГОМОГЕНТИЗИНОВАЯ КИСЛОТА

9.3.5. Авитаминоз

Дефицит витамина Е приводит к нарушениям эмбриогенеза и репродуктивных органов. Кроме того, недостаток токоферола является причиной дегенерации спинного мозга и легочной дистрофии. Животные реагируют на авитаминоз Е по-разному. У крыс в первую очередь наблюдаются нарушения репродуктивных органов, а у морских свинок — дегенеративные изменения в мышечной ткани.

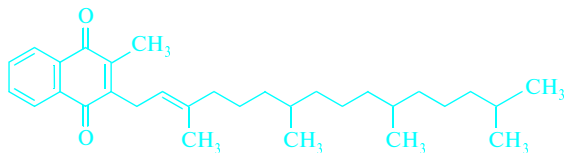
9.3.6. Практическое применение

Производство витамина Е основано на выделении его из зародышей пшеницы методом спиртовой экстракции и отгонкой растворителя при низких температурах. В медицинской практике используют как природные, так и синтетические препараты α-токоферола ацетата в растительном масле, заключенные в капсулы. Препараты витамина Е используются в качестве антиоксидантов при облучении и других патологических состояниях, связанных с повышенным содержанием в организме активных форм кислорода. Кроме того, витамин Е назначают беременным женщинам, а также в комплексной терапии бесплодия. Показан этот витамин при мышечной дистрофии и некоторых заболеваниях печени.

9.4. Витамины группы К

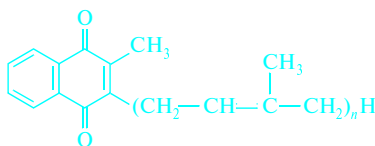
9.4.1. Общая характеристика

Витамины группы К обладают выраженным антигеморрагическим действием. Витамин К₁ был впервые выделен из люцерны в лаборатории П. Каррера в 1939 г. Немного позднее из рыбьей муки был получен геморрагический фактор со свойствами, отличными от витамина, выделенного из люцерны. Этот фактор получил название витамин К₂. Оба витамина являются производными 2-метил-1,4-нафтохинона, в котором в третьем положении водород замещен на спирт фитол или на изопреноидную цепь.



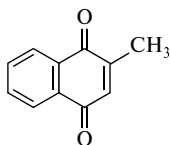
витамин К₁, или филлохинон (фитохинон)

Витамин К₂ существует в нескольких формах, в зависимости от длины изопреноидной цепи.

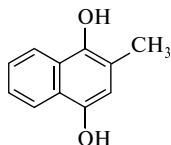


витамин К₂, или менахинон ($n = 4, 6, 7$)

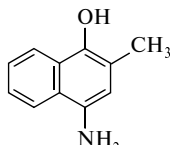
Кроме природных витаминов, ряд активных производных нафтохинона получены методом химического синтеза.



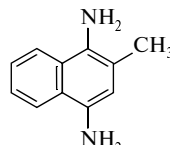
витамин К₃



витамин К₄



витамин К₅



витамин К₆

Витамин К₁ (филлохинон) — вязкое маслянистое вещество желтого цвета, хорошо растворимое в органических растворителях. Витамин К₂ (менахинон) — кристаллический порошок желтого цвета, с температурой плавления около 54 °С. Источником витамина К₁ являются зеленые части растений. Из животных тканей и органов наиболее богатой витамином К является печень свиньи (табл. 9.6).

Т а б л и ц а 9.6. Содержание витамина К₁ в пищевых продуктах

| Пищевой продукт | Содержание витамина, мг % | Пищевой продукт | Содержание витамина, мг % |
|-----------------|---------------------------|-----------------|---------------------------|
| Печень свиньи | 0,8 | Морковь | 3,2 |
| Шпинат | 4,4 | Томаты | 0,6 |

Суточная потребность человека в этом витамине не установлена из-за наличия эндогенного источника его синтеза, а именно кишечной микрофлоры.

9.4.2. Метаболизм

Подобно другим жирорастворимым витаминам, витамин К всасывается в тонком кишечнике с помощью эмульгаторов — желчных кислот. В комплексе с хиломикронами через лимфатические протоки он поступает в кровь, а затем депонируется в селезенке и в печени. В результате биотрансформации большинство витаминов группы К превращаются в менахинон — МК-4 (число 4 обозначает количество изопреновых единиц в боковой цепи). Метаболит МК-4 является наиболее активным производным витаминов К. Выведение метаболитов этого витамина осуществляется с калом в виде конъюгатов с глюкуроновой кислотой.

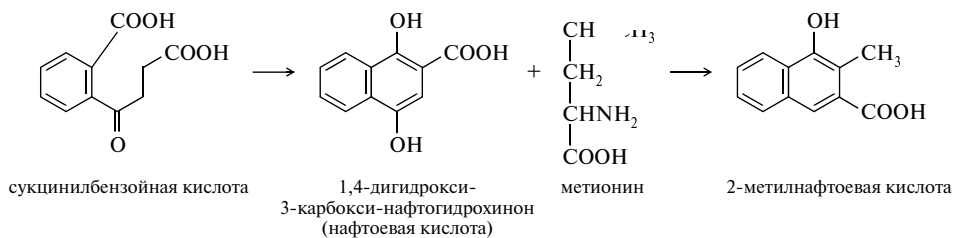
9.4.3. Биохимические функции

Витамин К является одним из регуляторов системы свертывания крови. Одним из этапов многостадийного процесса формирования тромба является образование белка протромбина, который затем превращается в тромбин. Механизм этого превращения зависит от способности протромбина связывать ионы Ca^{2+} при помощи остатков γ -карбоксиглутаминовой кислоты. Карбоксилирование последней в составе белка осуществляется микросомальной карбоксилазой, коферментом которой является 2,3-эпоксид — окисленная форма витамина К. Окисление протекает за счет внедрения кислорода в положение 2,3-нафтохинона.



9.4.4. Синтез

Многие клетки синтезируют витамин К и его производные. Одним из предшественников менахинонов является сукцинилбензойная кислота:



При присоединении к 2-метилнафтоевой кислоте пирофосфорного эфира изопrenoида получается менахинон, или витамин K_2 .

Химический синтез фитохинона (K_1) осуществляют методом конденсации 2-метил-1,4-нафтогидрохинона с фитолом в среде диоксана, при этом образуется 2-метил-3-фитил-1,4-нафтогидрохинон. После очистки от исходного 2-метил-нафтогидрохинона выделяют K_1 -гидрохинон и в результате окисления получают фитохинон.

Синтез менахинонов осуществляется по принципу, описанному выше, а именно посредством конденсации 1-моноацетата 2-метил-1,4-нафтогидрохинона и соответствующего ненасыщенного изопренового спирта в среде циклогексана.

В качестве катализатора используют фторид бора(III) или хлорид алюминия. Образовавшееся соединение окисляют оксидом серебра и получают менахинон.

9.4.5. Авитаминоз

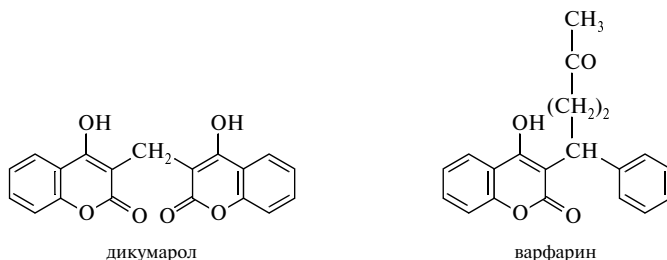
Количества витамина К, поступающего с пищей и синтезируемого микрофлорой кишечника, вполне достаточно для предотвращения авитаминоза у здорового человека. При патологических состояниях, таких, как нарушение

всасывания жиров в кишечнике, заболевания печени и желчного пузыря, подавление микроорганизмов в кишечнике в результате антибиотикотерапии, возможен дефицит витамина К, который проявляется в кровоизлияниях, а в ряде случаев — и в обильном кровотечении.

9.4.6. Практическое применение

Нарушение процессов свертывания крови является основанием для лекарственной терапии посредством витамина К. Лечебные дозы превышают среднесуточную потребность и составляют 12—15 мг в сутки. Лекарственные формы — таблетки и ампулы.

Повышенное свертывание крови и образование тромбов иногда являются причиной тяжелых заболеваний сердечно-сосудистой системы. Ряд химических соединений, блокирующих процессы свертывания крови, называют антагонистами витамина К и используют в качестве лекарственных веществ. К этим веществам относятся **дикумарол** и **варфарин**:



Оба препарата блокируют образование протромбина и используются для лечения острых кровотечений, тромбофлебитов, инфаркта миокарда.

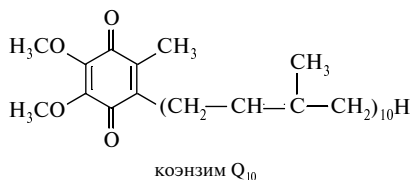
9.5. Витамин Q (убихинон)

9.5.1. Общая характеристика

В 1955 г. было открыто вещество, по строению близкое витаминам К и Е. Оно получило название **убихинон** или **коэнзим Q**. Некоторые исследователи относят его к витаминам, другие — к витаминоподобным жирорастворимым веществам, однако витаминная активность убихинона была доказана в опытах на многих видах животных. Убихиноны широко распространены в растительных, микробных и животных клетках. Правда, что касается последних, то существует мнение, что боковая, изопреноидная цепь синтезируется в животном организме, а хиноидная поступает с пищей. Убихинон представляет собой растворимое в жирах масло желтого цвета с максимумом поглощения при 275 нм. Все убихиноны являются производными коэнзима Q₀ (2,3-диметокси-5-метил-1,4-бензохинона).



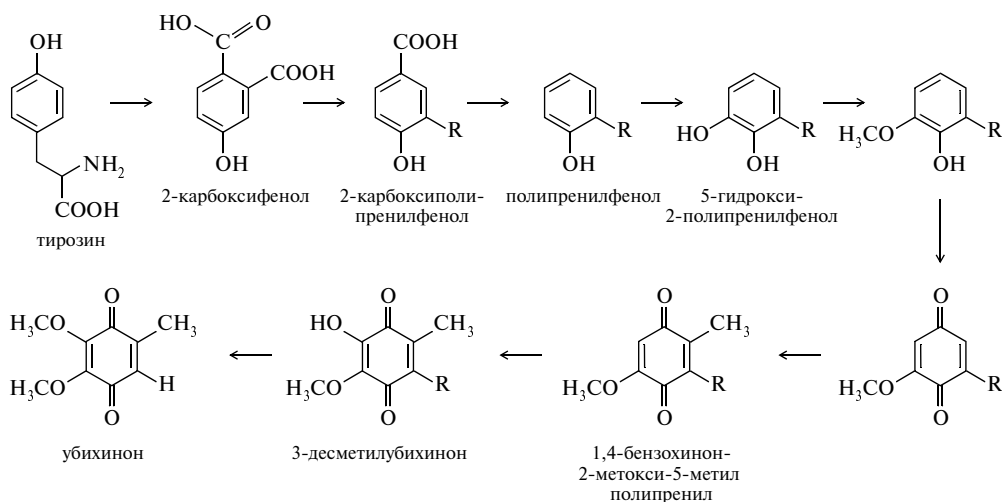
Убихиноны отличаются друг от друга длиной изопреноидной цепи, которая присоединяется в шестом положении к бензохиноновому ядру.



Убихиноны — гидрофобные вещества, хорошо растворимые в неполярных органических растворителях.

9.5.2. Синтез

Хорошо изучены пути синтеза убихинона из тирозина в животных клетках. Из тирозина в результате ряда превращений получают следующие соединения:



где R — изопреноидная цепь с числом углеродных атомов от шести до десяти. В растениях и микроорганизмах убихинон синтезируется из шикимовой кислоты.

9.5.3. Биохимические функции

Убихиноны переносят электроны через липидные слои мембран. Они играют важную роль в процессах тканевого дыхания, являясь компонентами дыхательной цепи (гл. 15).

9.6. Витамин F

9.6.1. Общая характеристика

Витамин F — комплексный витамин, состоящий из незаменимых ненасыщенных жирных кислот: из линолевой, линоленовой и арахидоновой. Линолевая и линоленовая кислоты входят в состав растительных и животных жиров, а арахидоновая кислота найдена только в животном жире.

Ненасыщенные жирные кислоты являются предшественниками фосфолипидов, простагландинов, нейтральных жиров, составными компонентами биологических мембран.

9.6.2. Авитаминоз

Недостаток ненасыщенных жирных кислот в рационе приводит к болезням кожи, подавлению функций репродуктивных органов.

Кроме того, у человека при гиповитаминозе F развивается гиперхолестеринемия и возникает склероз сосудов.

Глава 10

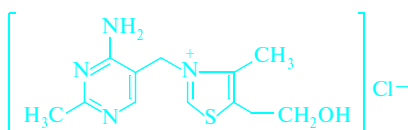
ВИТАМИНЫ, РАСТВОРИМЫЕ В ВОДЕ

10.1. Витамин В₁ (тиамин)

10.1.1. Общая характеристика

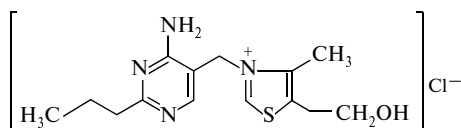
К. Функ в 1912 г. из отрубей риса получил частично очищенный тиамин, однако понадобилось еще около 15 лет для получения кристаллического витамина В₁. Кристаллы его бесцветные, горьковатые на вкус, хорошо растворимы в воде.

Тиамин найден как в растительных, так в микробных клетках. Особенно много его в зерновых культурах и дрожжах. Термическая обработка пищевых продуктов и различные пищевые добавки разрушают тиамин. Потребность человека в этом витамине 2—3 мг в сутки. В основе формулы витамина В₁ находятся тиазол и пиримидин, соединенные друг с другом метиленовой группой:



витамин В₁ (тиаминхлорид)

Замена метильных групп в пиримидиновом кольце резко снижает его биологическую активность. Более того, замена метильной группы на пропильную приводит к образованию антивитамина В₁:



гидрокситиамин (антивитамин В₁)

В табл. 10.1 приведено содержание витамина В₁ в различных пищевых продуктах.

Таблица 10.1. Содержание витамина В₁ в пищевых продуктах

| Пищевой продукт | Содержание витамина, мг % | Пищевой продукт | Содержание витамина, мг % |
|-----------------|------------------------------|-------------------|------------------------------|
| Печень быка | 0,4 | Злаковые растения | 0,6 |
| Мозг | 0,2 | Капуста | 0,22 |
| Яйцо куриное | 0,3 | Морковь | 0,15 |

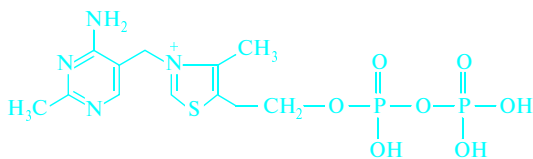
10.1.2. Метаболизм

В кишечнике часть поступившего с пищей тиамина всасывается методом простой диффузии. Далее в печени при помощи фермента тиаминфосфокиназы происходит его фосфорилирование и образование моно-, ди- и трифосфатов тиамина, причем наиболее активен тиаминпирофосфат (ТПФ) — кофермент ряда окислительно-восстановительных ферментов. После деградации ТПФ тиамин подвергается биотрансформации, в частности происходит деметилирование пиримидинового кольца и конъюгация с цистеином. Образовавшиеся конъюгаты выводятся с мочой.

10.1.3. Биохимические функции

Функциональная значимость витамина В₁ во многом определяется его участием в окислительно-восстановительном катализе. Кофермент ТПФ соединяется с соответствующими апоферментами и образует тиаминовые ферменты, участвующие в углеводном обмене. Эти ферменты, в частности, принимают участие в осуществлении следующих реакций:

- декарбоксилирования α -кетокислот с образованием соответствующих альдегидов;
- окислительного декарбоксилирования α -кетокислот с образованием кислот;
- перенос гликоальдегидного остатка между кетосахарами и альдегидами.



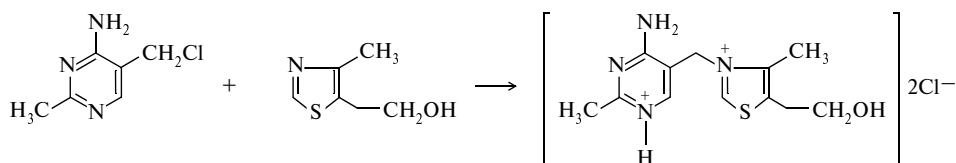
тиаминпирофосфат (ТПФ)

Одним из примеров ферментативных реакций с участием ТПФ является декарбоксилирование пирувата с отщеплением CO₂ и образованием уксусного альдегида и в конечном счете ацетилкоэнзима А. Кроме того, тиаминпирофосфат в составе активного фермента способен осуществлять прямое окисление углеводов, катализируя транскетолазную реакцию (гл. 18).

10.1.4. Синтез

Учитывая особенности строения витамина В₁, его синтез может быть осуществлен тремя путями: конденсацией пиримидинового и тиазольного компонентов, на основе пиримидинового компонента и на основе тиазольного компонента.

Рассмотрим первый вариант. Оба компонента синтезируются параллельно, а затем соединяются в молекулу тиамина. Конкретно 2-метил-4-амино-5-хлорметилпиримидин взаимодействует с 4-метил-5-оксиэтилтиазолом, образуя четвертичную тиазольную соль:



Конденсация проходит при температуре 120 °С в толуоле или бутиловом спирте. Далее полученный тиамин выделяют из реакционной смеси осаждением ацетоном и очищают перекристаллизацией из метанола.

10.1.5. Авитаминоз

Прямым следствием недостаточности витамина В₁ является дефицит его коферментных форм. Это приводит к блокированию реакций декарбоксилирования и накопления избыточных количеств пировиноградной кислоты, что может привести к нейротоксикозам. Весьма вероятно, что в условиях дефицита тиамин, а значит, и снижения скорости транскетолазной реакции снижается синтез НАДФН и рибозо-5'-фосфата — продуктов пентозофосфатного пути. Метаболические нарушения приводят к развитию различных патологических состояний, например болезни бери-бери. При этом заболевании имеют место патологии нервной, сердечно-сосудистой и пищеварительной систем. Кроме того, недостаток тиамин приводит к нарушениям водного обмена и функций кроветворения.

10.1.6. Практическое применение

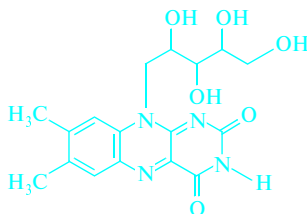
Витамин В₁ широко применяется в медицинской практике для лечения различных нервных заболеваний (полиневрита, неврозов), сердечно-сосудистых расстройств (гипертонии, склерозов коронарных сосудов) и др. Фосфорилированная форма витамина В₁ — кокарбоксилаза — применяется при патологических состояниях, связанных с нарушением углеводного обмена, почечной недостаточности, нарушениях коронарного кровообращения.

В хлебопечении тиамин в комплексе с рибофлавином и никотиновой кислотой применяется для витаминизации хлебобулочных изделий. Тиамин применяют также для витаминизации комбикормов в животноводстве и птицеводстве.

10.2. Витамин В₂ (рибофлавин)

10.2.1. Общая характеристика

Витамин В₂ впервые был выделен из молока и получен в кристаллическом состоянии Р. Кунном в 1933 г. Вскоре была расшифрована его химическая формула; оказалось, что рибофлавин состоит из изоаллоксазина и спирта рибитола.



витамин В₂

Рибофлавин кристаллизуется в виде игл желтого цвета с температурой плавления 290 °С. В отличие от витамина В₁ рибофлавин более термостабилен, вместе с тем он весьма чувствителен к свету, под действием которого возможен его распад. Источником витамина В₂ являются растительные и микробные клетки. Животный организм не способен к синтезу рибофлавина и получает его или с пищей, или в результате синтеза кишечной микрофлорой. Рибофлавин в значительных количествах находится в таких пищевых продуктах, как печень, молоко, яйца, дрожжи, зерновые культуры (табл. 10.2). В свободном состоянии рибофлавин находится в основном в молоке, в микробных клетках — в виде флавиномононуклеотида (ФМН), а в животных клетках — в виде флавинадениндинуклеотида (ФАД). Физиологическая потребность человека в этом витамине — 2—2,5 мг в сутки.

Таблица 10.2. Содержание витамина В₂ в пищевых продуктах

| Пищевой продукт | Содержание витамина, мг % | Пищевой продукт | Содержание витамина, мг % |
|-----------------|------------------------------|-----------------|------------------------------|
| Коровья печень | 1,5 | Пшеница | 0,3 |
| Куриное яйцо | 0,6 | Капуста | 0,2 |
| Молоко | 0,2 | Морковь | 0,05 |

10.2.2. Метаболизм

При поступлении с пищей в слизистый тонкого кишечника рибофлавин частично всасывается в кровь методом простой диффузии. В процессе транспорта через мембраны он под действием фермента флавокиназы и АТФ превращается в ФМН, а в печени в результате действия ФАД-зависимой пиррофосфорилазы и АТФ — в ФАД.

ФМН и ФАД являются коферментами ряда ферментов дегидрогеназ, участвующих в процессах тканевого дыхания. По истечении срока функционирования в организме рибофлавин освобождается из коферментной формы и подвергается биотрансформации, причем одним из его метаболитов является α-оксиэтилфлавин. Выводятся метаболиты рибофлавина с мочой.

10.2.3. Биохимические функции

Витамин В₂ и его активные формы ФМН и ФАД являются ростовыми факторами. ФМН и ФАД — коферменты около 30 ферментов, осуществляющих перенос водорода на различные субстраты. Имеется несколько типов таких реакций:

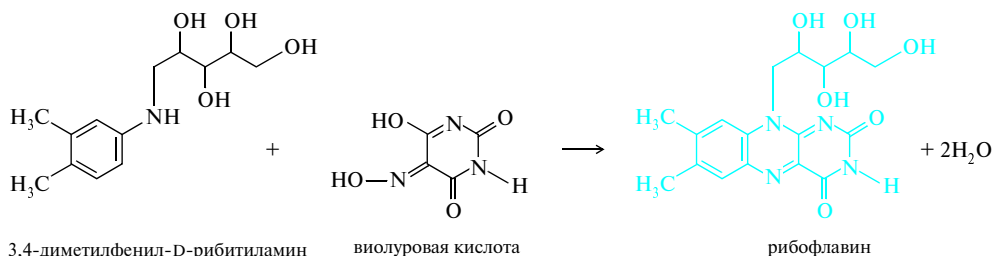
- оксидазы D- и L-аминокислот, окисляющие их посредством молекулярного кислорода;
- дегидрогеназы, переносящие электроны на цитохромные системы;
- дегидрогеназы, восстанавливающие никотиновые коферменты.

Особое значение имеют эти ферменты в процессах тканевого дыхания, переноса электронов и протонов. Витамин В₂ принимает участие в механизмах зрения, являясь его своеобразным сенсibilизатором.

10.2.4. Синтез

Биологический синтез рибофлавина осуществляют растения, дрожжи, грибы и бактерии. Фосфорилирование рибофлавина у бактерий, например у *E. coli*, происходит под действием фосфорилазы, а донором фосфатных групп является глюкозо-1-фосфат. Промышленное значение имеет технология получения рибофлавина из грибов, например *Sarcina lutea*, из которых продуцируется более 5 мг витамина в 1 мл среды.

Химический синтез рибофлавина можно осуществлять конденсацией ароматического моноамина и виолуровой кислоты:



Конденсацию проводят в диоксановой среде при температуре до 100 °С.

10.2.5. Авитаминоз

Недостаток витамина В₂ приводит к остановке роста организмов, мышечной слабости, воспалениям слизистой. Заболеваниями кожи, характерными для гиповитаминоза В₂, являются себорейный дерматит, облысение, нарушение эпителия кожи. Часто наблюдаются заболевания глаз, проявляющиеся в воспалении роговицы, кератитах. Авитаминоз В₂ является причиной образования катаракты и помутнения хрусталика.

10.2.6. Практическое применение

В медицинской практике применяют как витамин В₂, так и его коферментные формы. Исходный рибофлавин показан при гипо- и авитаминозах В₂, при конъюнктивитах, язвах роговицы и катаракте. Рибофлавин-моноклеотид применяют при различных кожных заболеваниях, таких, как дерматозы, ней-

родермиты, себорея, фолликулярная волчанка. Флавионат (ФАД) также применим при указанных выше заболеваниях, кроме того, при отравлениях и токсикозах. Совместно с тиамин и никотиновой кислотой рибофлавин применяют для витаминизации хлебобулочных изделий. Он входит в рацион при бройлерном разведении цыплят для стимулирования роста, а также является компонентом комбикормов для сельскохозяйственных животных.

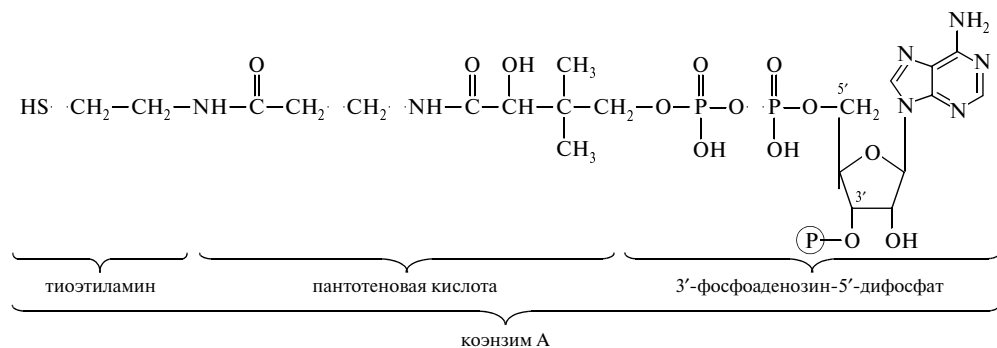
10.3. Витамин В₃ (пантотеновая кислота)

10.3.1. Общая характеристика

Витамин В₃ был впервые идентифицирован Р. Вильямсом в 1933 г., он же 6 лет спустя получил его в кристаллическом состоянии. Пантотеновая кислота состоит из остатков D_{α,γ}-диокси-β,β-диметилмасляной кислоты и β-аланина и имеет химическую формулу



Наличие асимметрического углеродного атома обуславливает оптическую активность этого соединения, причем биологической активностью обладает только правовращающий D-изомер. Пантотеновая кислота является желтой маслянистой жидкостью с хорошей растворимостью в воде и этиловом спирте. Она легко гидролизует по месту пептидной связи на β-аланин и пантоат. Пантотеновая кислота синтезируется микробными и растительными клетками. Наибольшее ее содержание найдено в печени, яичном желтке, дрожжах и картофеле (табл. 10.3). Все животные организмы нуждаются в пантотеновой кислоте, причем суточная потребность в ней человека около 2 мг. Активная форма пантотеновой кислоты — коэнзим А, или КоА:



0.3. Содержание пантотеновой кислоты в некоторых пищевых продуктах

| Пищевой продукт | Содержание витамина, мкг/г | Пищевой продукт | Содержание витамина, мкг/г |
|-----------------|-------------------------------|-----------------|-------------------------------|
| Куриное яйцо | 100 | Картофель | 24 |
| Печень | 100 | Пшеница | 11 |
| Рыба | 46 | | |

Антивитаминные свойства применительно к пантотеновой кислоте проявляет ω-метил-пантотеновая кислота, которая, встраиваясь в пантотеновые коферменты, ингибирует соответствующие ферментативные реакции.

10.3.2. Метаболизм

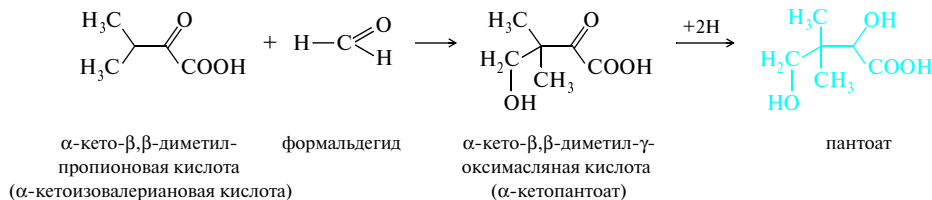
Как и для других водорастворимых витаминов, всасывание пантотеновой кислоты происходит в тонком кишечнике методом простой диффузии. В печени и некоторых других тканях образуются активные формы витамина В₃ — КоА и дефосфо-КоА. По окончании функционирования КоА гидролизуется и свободная пантотеновая кислота и ее метаболиты (пантетин и β-аланин) выводятся с мочой.

10.3.3. Биохимические функции

Биохимические функции пантотеновая кислота выполняет в форме КоА, который переносит кислотные радикалы на различные субстраты. КоА участвует в липидном обмене (окисление жирных кислот, синтез холестерина), углеводном обмене (образование цитрата, окисление пирувата), принимает участие в таких синтетических реакциях, как образование δ-аминолевуленовой кислоты, ацетилхолина, кетоновых тел.

10.3.4. Синтез

Пантотеновая кислота синтезируется в микробных и растительных клетках, и в зависимости от типа клеток условия ее биосинтеза могут различаться. В клетках *E. coli* синтез витамина В₃ протекает следующим образом:



10.3.5. Авитаминоз

Дефицит пантотеновой кислоты в крови людей является причиной развития периферического неврита. Кроме того, авитаминоз В₃ приводит к потере веса, повреждению кожи, облысению, а также нарушениям функций желудочно-кишечного тракта.

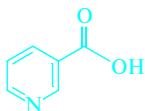
10.3.6. Практическое применение

В медицинской практике пантотеновая кислота используется в виде пантотената кальция при нарушениях обменных процессов, полиневритах, язвенных процессах, токсикозах.

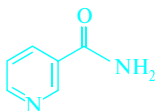
10.4. Витамин В₅ (РР, никотинамид, ниацин)

10.4.1. Общая характеристика

Открытие витамина РР связано с изучением пеллагры — заболевания кожи. Модель экспериментальной пеллагры была предложена в 1917 г., и с этого времени начались поиски препаратов, обладающих лечебным действием при этом заболевании. Таким препаратом оказалась никотиновая кислота, которая в 1937 г. была отнесена к витаминам. Никотиновая, или β-пиридинкарбоновая, кислота фактически является провитамином, а антипеллагрическим действием обладает ее амид. Кристаллы никотиновой кислоты представляют собой бесцветные иглы с температурой плавления 235 °С. Амид никотиновой кислоты также кристаллизуется в виде игл, но с температурой плавления 132 °С.

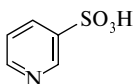


никотиновая кислота



амид никотиновой кислоты

Молекула никотиновой кислоты очень специфична. Замена карбоксильной группы на другую группировку приводит не только к подавлению витаминных свойств, но и образованию соединений с антивитаминным (РР) действием. К таким соединениям относится β-пиридинсульфоновая кислота и 6-аминоникотинамид.



β-пиридинсульфоновая кислота

Большое количество витамина РР находится в рисовых и пшеничных отрубях, печени, дрожжах (табл. 10.4). Суточная потребность человека в этом витамине составляет 15—22 мг. Некоторые животные, например крысы, способны синтезировать никотиновую кислоту из триптофана и не нуждаются в получении его с пищей.

Таблица 10.4. Содержание витамина РР в некоторых пищевых продуктах

| Пищевые продукты | Содержание витамина, мкг/г | Пищевые продукты | Содержание витамина, мкг/г |
|------------------|----------------------------|------------------|----------------------------|
| Печень | 1800 | Пшеница | 180 |
| Рыба | 85 | Картофель | 14 |
| Молоко | 9 | Морковь | 5 |

10.4.2. Метаболизм

Никотиновая кислота и никотинамид, поступившие в организм с пищей, всасываются в тонком кишечнике методом простой диффузии. Далее они поступают в печень и другие ткани организма, где происходит синтез никотинамидных коферментов — никотинамидадениндинуклеотида (НАД) и никотинамидадениндинуклеотид фосфата (НАДФ). Синтез никотинамидадениндинуклеотида (НАД) из никотиновой кислоты находится под жестким контролем гормонов гипофизадреналовой системы.

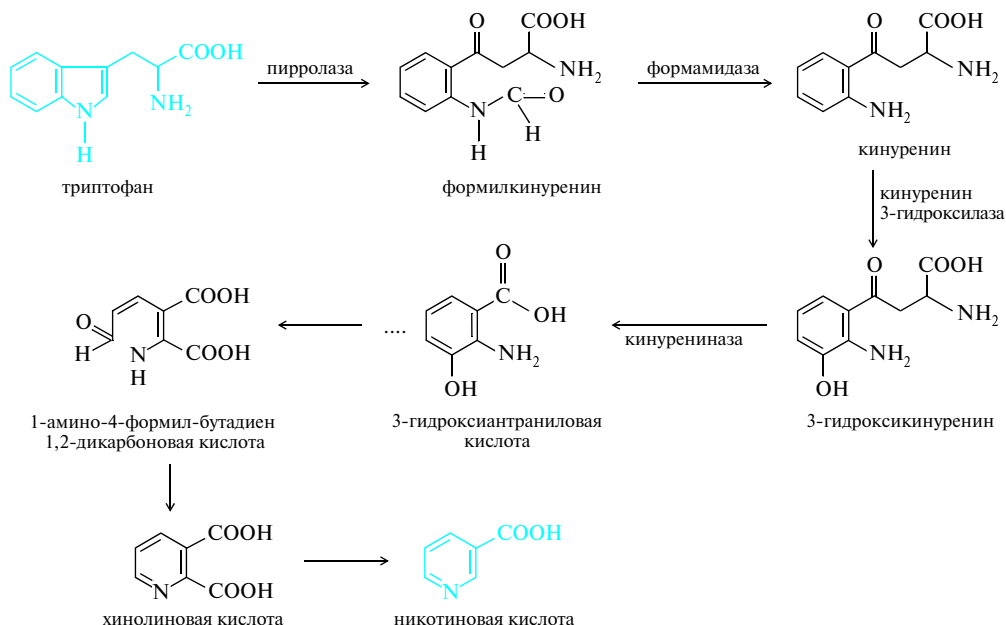
По истечении срока функционирования распад их осуществляется при помощи НАД- и НАДФ-зависимых гликогидролаз, в результате чего кофермент распадается на никотиновую кислоту и АДФ-рибозу. Никотиновая кислота и ее амид образуют конъюгаты с глюкуронидами и метильными группировками и с мочой выводятся из организма.

10.4.3. Биохимические функции

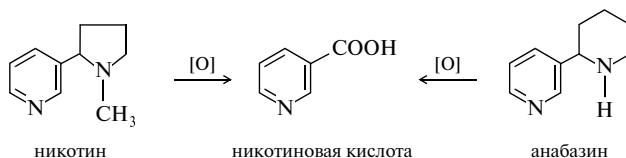
Никотинамид осуществляет биохимические функции в составе коферментов НАД и НАДФ, которые, в свою очередь, являются составной частью окислительно-восстановительных ферментов — дегидрогеназ. Участвуя в различных обменных процессах, они катализируют более 100 биохимических реакций: окисления спиртов в альдегиды и кетоны, альдегиды и кетоны в органические кислоты, амины в имины с последующим образованием окисоединений и др. Коферменты связаны с белками слабыми связями, и возможна диссоциация активного фермента на кофермент и апофермент. Дегидрогеназы катализируют некоторые реакции окисления углеводов и липидов. Кроме того, НАД и НАДФ являются аллостерическими эффекторами, регулирующими скорости ряда жизненно важных биохимических процессов, например цикла Кребса.

10.4.4. Синтез

Никотиновая кислота является жизненно важной структурой для многих живых организмов. Некоторые из них способны синтезировать ее из аминокислоты триптофана. Биосинтез никотиновой кислоты — многостадийный процесс, основные этапы которого заключаются в следующем: из триптофана образуется кинуренин, затем, после ряда промежуточных стадий, хинолиновая кислота, декарбоксилирование которой приводит к образованию никотиновой кислоты:



Имеется много схем химического синтеза никотиновой кислоты. Наиболее простой из них является использование в качестве предшественников никотина или анабозина. В обоих случаях это одностадийный процесс, связанный с каталитическим окислением никотина или анабазина серной кислотой в присутствии металлического селена при температуре 100 °С:



10.4.5. Авитаминоз

Дефицит витамина РР приводит к развитию пеллагры, которая проявляется в виде различных дерматитов с обострением после солнечного воздействия. При пеллагре отмечены также нарушения функций пищеварения и нервной системы.

10.4.6. Практическое применение

В медицинской практике используют исходные никотиновую кислоту и ее амид, а также в комплексе с другими химическими соединениями. Никотинамид применяют при атеросклерозе, в частности при гиперхолестеринемии, для нормализации функций печени, почек, головного мозга. Среди комплексных препаратов, в состав которых входит никотиновая кислота, можно отметить никошпан, содержащий кроме никотиновой кислоты но-шпу (сосудорасширяющее и спазмолитическое средство), а среди производных никотиновой кислоты широкое применение в медицинской практике получил кордиамин (стимуляция функций нервной системы и дыхания).

Никотиновая кислота и никотинамид являются ростовыми факторами для микроорганизмов, в том числе и имеющих промышленное значение. Витамин РР применяется для витаминизации хлебобулочных изделий, а также входит в рацион сельскохозяйственных животных (на 1 т комбикорма — 40—60 г витамина РР).

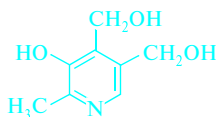
10.5. Витамин В₆

(пиридоксин, пиридоксамин, пиридоксаль)

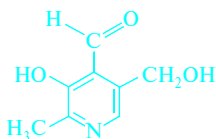
10.5.1. Общая характеристика

Витамин В₆ был открыт П. Дьерди в 1934 г., а через четыре года выделен в кристаллическом состоянии. Различают три индивидуальных вещества, обладающих свойствами витамина В₆: пиридоксамин, пиридоксин и пиридоксаль. Кристаллы пиридоксамина бесцветные с температурой плавления 160 °С, хорошо растворимы в воде и некоторых органических растворителях. Аналогичными свойствами обладает и пиридоксаль. Кристаллы пиридоксина

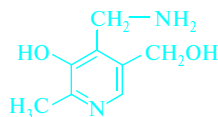
плавятся при температуре 195 °С и почти не растворяются в органических растворителях.



пиридоксин



пиридоксаль



пиридоксамин

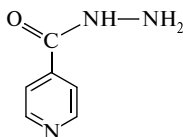
Все три формы витамина В₆ легко превращаются друг в друга, однако наибольшую биологическую значимость имеет фосфорилированная форма пиридоксала.

Витамин В₆ синтезируется растительными и микробными клетками. Наибольшее количество его в печени, яйцах, дрожжах, моркови (табл. 10.5). Суточная потребность человека в этом витамине 3—4 мг.

Таблица 10.5. Содержание витамина В₆ в некоторых пищевых продуктах

| Пищевой продукт | Содержание витамина, мкг/г | Пищевой продукт | Содержание витамина, мкг/г |
|-----------------|----------------------------|-----------------|----------------------------|
| Яйцо куриное | 10 | Пшеница | 2,0 |
| Молоко коровье | 7 | Морковь | 3,2 |
| Печень | 0,85 | | |

Из авитаминов В₆ наибольшее значение имеет изониазид, так как он оказывает антибактериальное действие на туберкулезные микобактерии и используется в качестве противотуберкулезного препарата.



изониазид

10.5.2. Метаболизм

Витамин В₆ после поступления в организм с пищей всасывается в тонком кишечнике методом простой диффузии. С током крови он транспортируется к тканям и достаточно легко проникает вовнутрь клеток. В клетках происходит фосфорилирование всех трех форм витамина В₆, однако наибольшую значимость имеет фосфопиридоксаль. Фосфорилирование осуществляется при помощи фермента пиридоксалькиназы, при этом образуется активная форма витамина В₆ или кофермент фосфопиридоксаль. Катаболизм фосфопиридоксала начинается с дефосфорилирования, которое катализируется различными фосфатазами. Далее происходит окисление и образуется 4-пиридоксильная кислота, которая выводится из организма с мочой.

10.5.3. Биохимические функции

Основная функция витамина В₆ состоит в том, что он в составе различных ферментов принимает участие в метаболизме аминокислот. Его активная фор-

ма — фосфопиридоксаль является коферментом многих ферментов аминокислотного обмена. Фосфопиридоксаль входит в состав аминотрансфераз, катализирующих перенос аминогрупп ряда аминокислот (гл. 24). Кроме того, идентифицировано более 50 пиридоксальфосфатных ферментов, катализирующих разнообразные реакции, такие, как декарбоксилирование аминокислот, рацемизация, дегидротирование, гидролитическое расщепление субстратов. Фосфопиридоксальные ферменты катализируют синтез сфингозина, а также реакции β -замещения.

Витамин B_6 влияет на активность ряда ферментов углеводного обмена, в частности его дефицит является причиной снижения активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы. Кроме того, установлено влияние витамина B_6 на метаболизм жирных кислот.

10.5.4. Синтез

Химический синтез пиридоксина осуществляется посредством конденсации этоксиацетилацетона и цианацетамида. Синтез пиридоксина возможен через производные хинолина и изохинолина, а также через производные фурана. Пиридоксамин получают из метилового эфира пиридоксина посредством аминирования аммиаком в метиловом спирте при 140°C . Пиридоксаль получают из гидрохлорида пиридоксина окислением посредством дихромата калия в серной кислоте при 60°C .

10.5.5. Авитаминоз

Признаком авитаминоза B_6 являются кожные заболевания (эритемы, эдемы), нарушения центральной нервной системы и кроветворения. Дефицит витамина B_6 у человека проявляется более отчетливо в младенческом возрасте и сопровождается конвульсиями и эпилептическими припадками.

10.5.6. Практическое применение

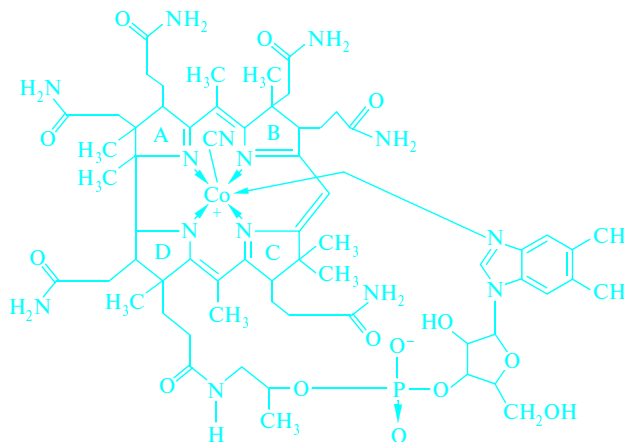
В медицинской практике используют как витамин B_6 , так и его коферментные формы. Пиридоксин применяют при токсикозах у беременных, атеросклерозе, нервных и кожных заболеваниях. Пиридоксальфосфат более эффективен, особенно при кожных заболеваниях.

10.6. Витамин B_{12} (цианкобаламин)

10.6.1. Общая характеристика

Цианкобаламины представляют собой группу веществ, обладающих активностью витамина B_{12} . Впервые этот витамин был получен в кристаллическом состоянии в 1948 г. Е. Рикетсом и Е. Смитом. Кристаллы его темно-красного цвета, хорошо растворимы в воде и нерастворимы в органических растворителях. Витамин B_{12} чувствителен к действию света, при световом воз-

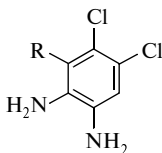
действии цианкобаламин превращается в оксикобаламин. Из всех известных витаминов цианкобаламин имеет самую сложную химическую структуру:



витамин B₁₂ (цианкобаламин)

Обнаружено много природных аналогов витамина B₁₂, кроме того, ряд его аналогов получен методом химического синтеза (более 30 соединений).

Антивитамины B₁₂ имеют различную химическую структуру. Например, 1,2-дихлордиаминобензол подавляет синтез витамина B₁₂, псевдовитамин B₁₂ блокирует процесс всасывания витамина в тонком кишечнике.



1,2-дихлордиаминобензол

Потребность людей в витамине B₁₂ достаточно мала и составляет всего около 1 мкг в сутки. В пищевых продуктах содержание B₁₂ также меньше по сравнению с другими витаминами. Данные представлены в табл. 10.6.

Таблица 10.6. Содержание витамина B₁₂ в некоторых пищевых продуктах

| Пищевой продукт | Содержание витамина, мкг/г | Пищевой продукт | Содержание витамина, мкг/г |
|-----------------|----------------------------|-----------------|----------------------------|
| Печень быка | 1,2 | Рыба | 0,12 |
| Сердце | 0,5 | Яйцо куриное | 0,015 |

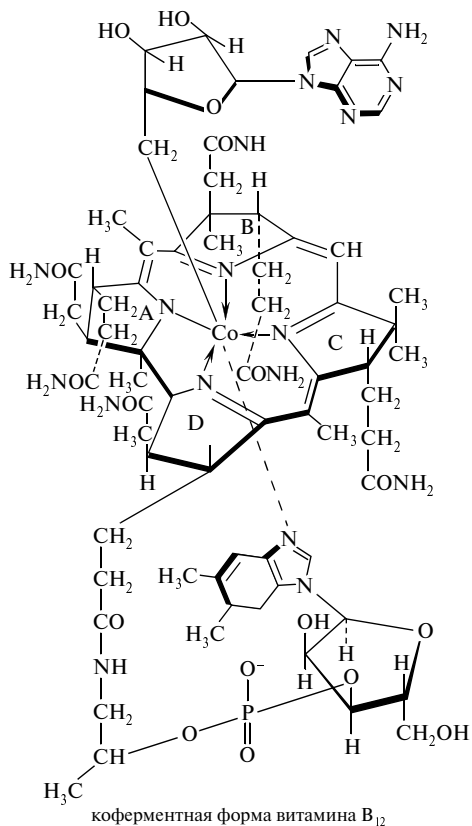
10.6.2. Метаболизм

Витамин B₁₂ в свободном состоянии не может всасываться в желудочно-кишечном тракте, а усваивается организмом только в комплексе со специфическим белком. Этот белок представляет собой гликопротеин с молекулярной массой 90 kDa и называется внутренним фактором или фактором Кастла (по фамилии открывшего его ученого). Комплекс витамина B₁₂ с фактором

Кастла легко всасывается в тонком кишечнике. После поступления в кровь этот комплекс распадается, и внутренний фактор разрушается протеиназами крови. Свободный кобаламин образует комплексы с α - и β -глобулинами, которые и транспортируют его к тканям. В тканях кобаламин превращается в свои активные формы — метилкобаламин (Мет-К) и дезоксиаденозилкобаламин (ДОАК) — коферменты ряда кобамидных ферментов. Распад их осуществляется в печени и почках, а кобаламин выводится из организма с мочой.

10.6.3. Биохимические функции

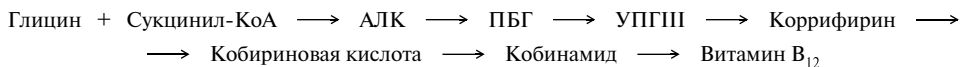
Биологическая значимость витамина B_{12} определяется его участием (как в свободном виде, так и в составе коферментов) в тех или иных биохимических реакциях. ДОАК, являясь коферментом метилмалонил-КоА-мутазы, катализирует реакции превращения малонил-КоА в сукцинил-КоА, а также в составе метиласпартатмутазы изомеризацию глутаминовой кислоты в β -метиласпарагиновую кислоту. Витамин B_{12} вовлекается в процесс образования форменных элементов крови, а также в обмен жиров в качестве протектора КоА.



10.6.4. Синтез

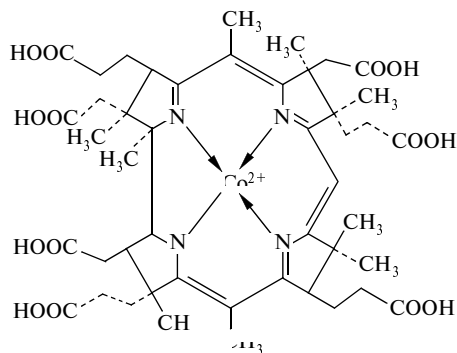
Витамин B_{12} синтезируется в основном микроорганизмами с использованием таких предшественников, как сукцинил-КоА и глицин, с образованием δ -аминолевулината с последующим образованием кобириновой кислоты.

Предшественником других компонентов витамина B_{12} являются треонин и бензимидазол.



где АЛК — аминолевуленовая кислота; ПБГ — порфобилиноген; УПГIII — уропорфириноген III.

Первые этапы синтеза витамина B_{12} аналогичны таковым при синтезе других тетрапирролов, например гема. Из глицина и сукцинил-КоА под действием фермента аминолевулинатсинтазы образуется δ -аминолевулиновая кислота (АЛК). Далее, при действии АЛК-дегидратазы, конденсация двух молекул АЛК приводит к образованию порфобилиногена (ПБГ), а в результате конденсации четырех молекул ПБГ — уропорфириногена (УПГIII). Последняя реакция проходит под действием фермента порфобилигеназы. При метилировании УПГ образуется коррифин, а дальнейшее метилирование, декарбоксилирование при С-12 и включение Со приводит к образованию кобириновой кислоты:



кобириновая кислота

Амидирование кобириновой кислоты, включение аминокпропанола и аденилирование приводят к образованию кобинамида. Затем включение нуклеотида дает конечный продукт — витамин B_{12} .

Впервые полный химический синтез цианкобаламина был осуществлен в 1972 г., причем сначала были синтезированы его отдельные «блоки», такие, как аминокпропанол, α -рибозол и кобировая кислота.

10.6.5. Авитаминоз

Гиповитаминоз B_{12} может иметь как экзогенный, так и эндогенный характер. Первый связан с недостатком его в пище, второй обусловлен неполноценным синтезом кишечной микрофлорой, а также дефицитом внутреннего фактора, или фактора Кастла. Недостаток витамина B_{12} приводит к нарушениям эритропоэза и лейкопоэза, с последующим развитием анемии.

10.6.6. Практическое применение

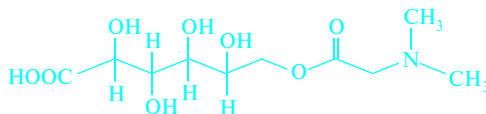
Витамин B_{12} в свободном состоянии и в составе коферментов обеспечивает кроветворную функцию организма. Его применяют для лечения некоторых видов анемий, причем наибольший эффект проявляется при сочетанном его

применении с фолиевой кислотой. Кроме того, витамин В₁₂ показан при патологиях печени, нервной системы, кожных заболеваниях.

В сельском хозяйстве комбинированные корма обогащают витамином В₁₂. В состав сухого экстракта, помимо витамина (100 мг на 1 кг препарата), входят ростовые факторы, а также в малых дозах антибиотики.

10.7. Витамин В₁₅ (пангамовая кислота)

Витамин В₁₅ был впервые выделен Р. Томияма в 1950 г. из печени быка, а год спустя — Е. Кребсом из ядер абрикосовых косточек. По своему химическому строению пангамовая кислота является эфиром глюконовой кислоты и диметилглицина.



пангамовая кислота

Кристаллы пангамовой кислоты белого цвета, растворимы в воде, но не в органических растворителях. Температура их плавления 185 °С.

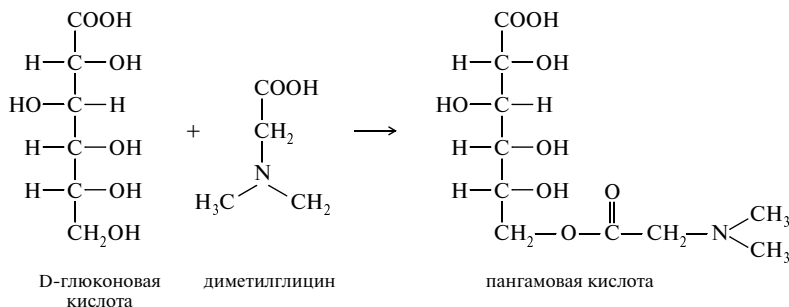
10.7.1. Биохимические функции

Достоверно установлено липотропное действие пангамовой кислоты на организм животных и человека. Это связано с процессами деметилирования и переметилирования в организме. Фосфолипиды, поступающие в клетки печени и других тканей, теряют метильные и фосфатные группы и превращаются в нейтральные жиры. Снижение липотропных свойств является причиной их отложения в печени, стенках кровеносных сосудов и т. д. Доказано, что пангамовая кислота является эффективным метилирующим агентом, а переметилирование нейтральных жиров способствует их выводу из клеток в кровь.

Для пангамовой кислоты характерно детоксицирующее действие, которое, по мнению некоторых авторов, связано с усилением процессов окисления некоторых токсичных продуктов промежуточного обмена.

10.7.2. Синтез

Имеется несколько способов синтеза пангамовой кислоты. Наиболее простой из них заключается во взаимодействии D-глюконовой кислоты и диметилглицина с образованием конечного продукта:



D-глюконовая
кислота

диметилглицин

пангамовая кислота

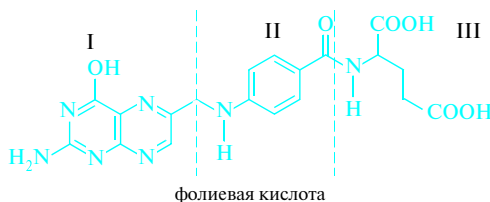
10.7.3. Практическое применение

В медицинской практике применяют пангамат кальция, содержащий четыре подвижных метильных группы. Препарат используют в комплексной терапии при лечении ишемической болезни сердца, атеросклерозе, патологиях печени и почек.

10.8. Витамин В_с (фолиевая кислота, фолацин)

10.8.1. Общая характеристика

В 1940 г. Н. Хоган и А. Перро показали, что у цыплят, выращиваемых на искусственной диете, развивается анемия, которая проходит при полноценном питании. Через год был выделен витамин, являющийся фактором, предотвращающим это заболевание. Он был назван витамином В_с или антианемическим витамином. Оказалось, что это группа производных птерицинов, одним из которых является фолиевая кислота, состоящая из трех блоков: птерина, *p*-аминобензойной кислоты и глутаминовой кислоты. Фолиевая кислота представляет собой кристаллы светло-желтого цвета, плохо растворимые в воде.



Фолиевая кислота и другие производные птерицинов объединены общим названием — **фолацин**. Замена некоторых функциональных групп в молекуле витамина В_с приводит не только к потере витаминной, но и к приобретению антивитаминной активности.



Фолиевая кислота и родственные соединения синтезируются микробными и растительными клетками. Основными источниками фолатов являются дрожжи, бобовые растения, салат, капуста (табл. 10.7).

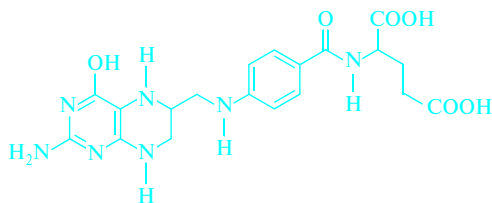
Потребность человека в витамине В_с, равная 0,5—1,0 мг в сутки, в основном восполняется за счет синтеза его микрофлорой кишечника.

Таблица 10.7. Содержание фолиевой кислоты в некоторых пищевых продуктах

| Источник | Содержание, мг/г | Источник | Содержание, мг/г |
|----------|------------------|------------------|------------------|
| Дрожжи | 14,0 | Зеленый лук | 0,10 |
| Фасоль | 1,5 | Черная смородина | 0,15 |
| Петрушка | 1,16 | Печень свиньи | 1,5 |

10.8.2. Метаболизм

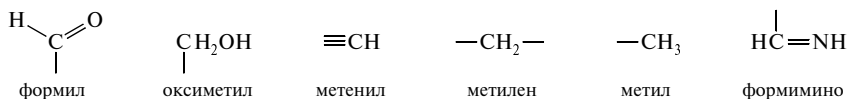
Фолатин и его производные, поступающие с пищей или синтезированные кишечной микрофлорой, всасываются в тонком кишечнике, при этом в слизистой ферментативным путем происходит превращение витамина в его коферментную форму — 5,6,7,8-тетрагидрофолиевую кислоту. Этот процесс происходит в две стадии. Вначале посредством дигидрофолатдегидрогеназы и кофермента НАДН образуется дигидрофолиевая кислота, которая затем при помощи тетрафолатдегидрогеназы восстанавливается до тетрагидрофолиевой кислоты (ТГФК). При поступлении в кровь большая часть (до 80%) ТГФК локализуется в эритроцитах и оставшаяся — в плазме. Тканями-депо фолатина являются печень и почки. Выведение фолиевой кислоты происходит с мочой.



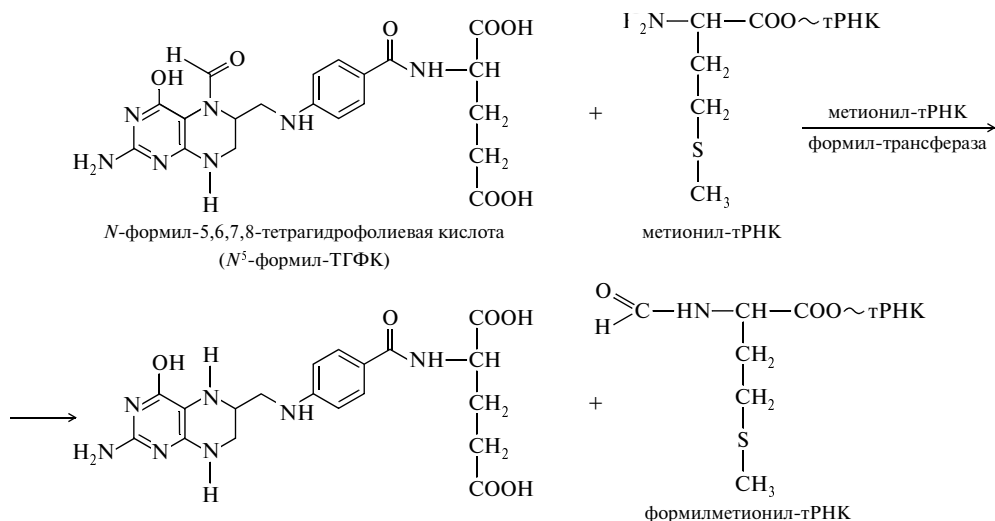
тетрагидрофолиевая кислота

10.8.3. Биохимические функции

Основная биохимическая функция витамина B_c в составе кофермента ТГФК связана с переносом одноуглеродных фрагментов различных метаболитов:



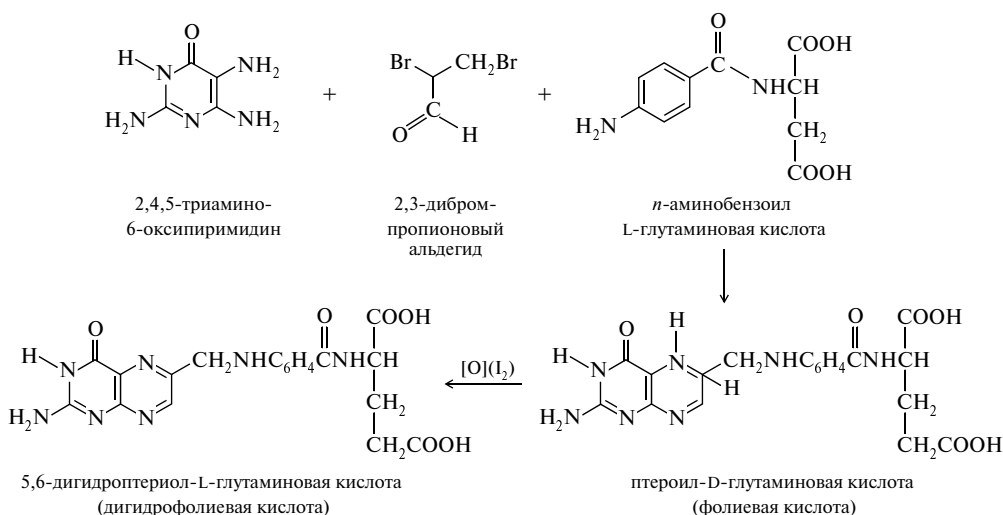
Например, при биосинтезе метионина ТГФК в комплексе с соответствующим апоферментом переносит метильную группу, при биосинтезе серина из глицина — оксиметильную группу, при биосинтезе пуриновых оснований — формильную. Перенос формильной группы при образовании формилметионил-тРНК является необходимым условием инициации синтеза белка.



Приведенные примеры показывают важную роль, которую играет этот витамин в обмене белков и нуклеиновых кислот. Кроме того, идентифицированы более 20 реакций, в которых принимает участие фолиевая кислота и ее производные, причем одной из наиболее важных из них является синтез пуриновых оснований. Биологическую значимость имеют также отдельные фрагменты молекулы фолиевой кислоты. Так, аминобензол-*L*-глутаминовая кислота обладает высокой ростовой активностью по отношению к культуре *Streptobacterium plantarum*. Существенную роль в метаболических процессах играет *n*-аминобензойная кислота, являющаяся ростовым фактором для многих микроорганизмов, водорослей и высших растений. *n*-Аминобензойная кислота участвует в пигментации волос у млекопитающих, ее дефицит приводит к поседению волос у лабораторных животных. Кроме того, она необходима для биосинтеза витаминов группы B_c , в состав которых она входит.

10.8.4. Синтез

Витамин B_c синтезируется в микробных и растительных клетках. Предшественником биосинтеза одного из фрагментов фолиевой кислоты — птеридина — является гуанидинтрифосфат (ГТФ). В результате раскрытия кольца и присоединения *n*-аминобензойной кислоты образуется дигидроптероевая кислота, которая затем при участии глутамата трансформируется в дигидрофолиевую кислоту:



Химический синтез фолиевой кислоты можно провести в одну стадию посредством тройной конденсации: 2,4,5-триамино-6-оксипиримидина, 2,3-дибромпропионового альдегида и *n*-аминобензоил-*L*-глутаминовой кислоты.

10.8.5. Авитаминоз

Авитаминоз витамина B_c у многих видов животных и человека вызывает анемию, проявляющуюся в уменьшении числа эритроцитов и лейкоцитов. Имеются указания на то, что недостаток фолиевой кислоты приводит к замедлению скорости синтеза нуклеиновых кислот в клетках костного мозга. Следует

отметить, что большая часть необходимого для процессов жизнедеятельности витамина B_c синтезируется микрофлорой кишечника и факторы, подавляющие ее развитие (недостаток белковой пищи, антибиотики, сульфамидные препараты и др.), косвенно могут быть причиной развития макроцитарной анемии.

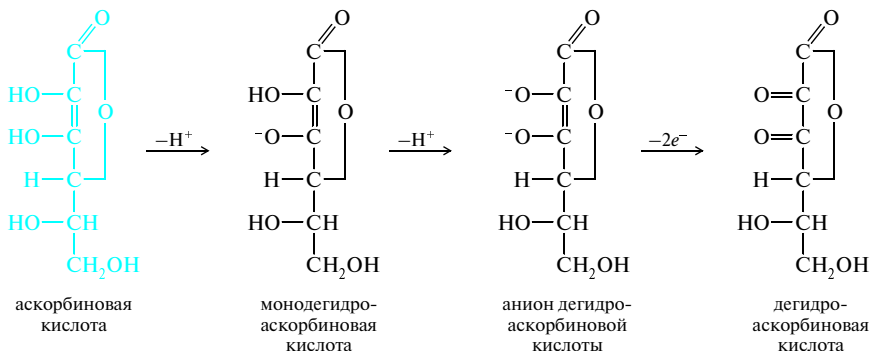
10.8.6. Практическое применение

Применение витамина B_c и его антагонистов в клинической практике достаточно многообразно. Фолиевая кислота в сочетании с витамином B_{12} применяется для стимуляции эритропоэза, при отравлении тяжелыми металлами, развитии лучевой болезни. Антивитамины фолиевой кислоты, например 4-аминоптерин, применяют в комплексной терапии онкологических заболеваний для подавления синтеза ДНК в опухолевых клетках, а также при лейкозах для ингибирования лейкопоэза.

10.9. Витамин С (аскорбиновая кислота)

10.9.1. Общая характеристика

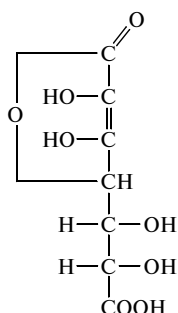
Открытие витамина С связано с лечением цинги — заболевания, обусловленного дефицитом свежих овощей в пищевом рационе. Еще в конце XIX в. В. В. Пашутин опроверг мнение ряда врачей о том, что цинга является инфекционным заболеванием, и отметил разительное целебное действие полноценной диеты, содержащей, например, лимоны, свежий картофель, капусту, чеснок и другие овощи. Это навело ученых на мысль о наличии в этих пищевых продуктах особого антицинготного витамина. И действительно, такой витамин был идентифицирован и получил название витамина С. Оказалось, что многие животные (жвачные, крысы, птицы) способны синтезировать аскорбиновую кислоту, другие — морские свинки, обезьяны получают ее только с пищей. К млекопитающим, неспособным синтезировать витамин С, относится и человек. Витамин С в кристаллическом виде был получен С. Зильва, а затем А. Сент-Дьерди в 1923 г. Бесцветные кристаллы его имеют температуру плавления около 190°C , они хорошо растворимы в воде и почти не растворяются в органических растворителях. Легко отдавая протоны, аскорбиновая кислота участвует во многих восстановительных реакциях, причем восстановительные свойства ее усиливаются под действием фермента аскорбиноксидазы. При окислении аскорбиновой кислоты (АК) образуется дегидроаскорбиновая кислота (ДАК), причем реакция протекает с образованием интермедиантов:



Обратный процесс восстановления ДАК в АК катализируется дегидроаскорбинредуктазой в присутствии глутатиона и НАДФН.

Обратимое окисление АК в ДАК вносит существенный вклад в формирование окислительно-восстановительного потенциала клеток.

Аскорбиновая кислота имеет два асимметричных атома углерода и является оптически активным соединением, образуя четыре оптических изомера и два рацемата. Наиболее активным стереоизомером является L-аскорбиновая кислота, остальные стереоизомеры витаминными свойствами обладают в меньшей степени. Число антивитаминов С довольно ограничено. Выраженным антивитаминным действием обладает D-глюкоаскорбиновая кислота



D-глюкоаскорбиновая кислота

Витамин С присутствует во многих тканях животного организма, в растительных и микробных клетках. Его содержание в некоторых растениях представлено в табл. 10.8.

Суточная потребность в витамине С составляет для взрослого человека около 80—100 мг, для детей до 10 лет — вдвое меньше.

Таблица 10.8. Содержание витамина С в различных растениях

| Источник | Содержание витамина С, мг % | Источник | Содержание витамина С, мг % |
|------------------|--------------------------------|-----------|--------------------------------|
| Шиповник | 2100 | Клюква | 100 |
| Облепиха | 500 | Капуста | 70 |
| Черная смородина | 300 | Картофель | 30 |
| Перец красный | 250 | Помидоры | 25 |
| Хрен | 200 | | |

10.9.2. Метаболизм

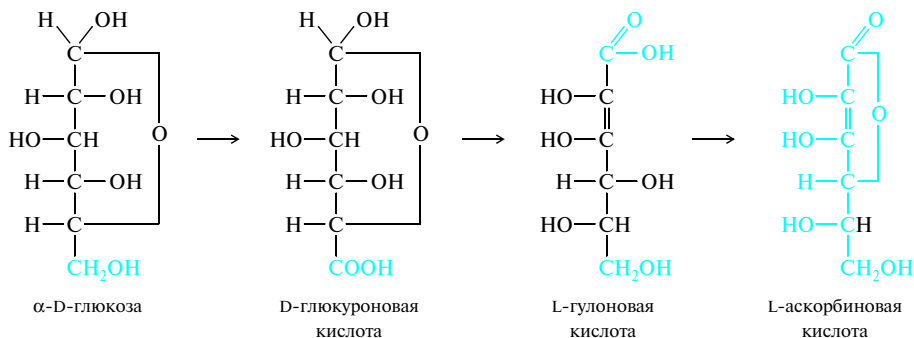
Аскорбиновая кислота всасывается в тонком кишечнике посредством простой диффузии. Для нее характерно связывание с белками как в кровяном русле, так и в клетках. В организме в результате окислительных превращений из аскорбиновой кислоты образуется щавелевая кислота, которая затем вовлекается в различные реакции метаболизма. При необратимом окислении аскорбиновая кислота превращается также в 2,3-дикетогулоновую и треоновую кислоты. Частично аскорбиновая кислота выводится из организма с мочой в неизменном виде.

10.9.3. Биохимические функции

Витамин С в природных условиях активен в трех формах: аскорбиновая кислота, дегидроаскорбиновая кислота и аскорбиген (комплекс аскорбиновой кислоты с белком), и все они участвуют во многих биохимических реакциях клеточного метаболизма. Витамин С является одним из компонентов антиоксидантной системы организма. Этот витамин участвует в монооксигеназных реакциях при смешанном НАДН и НАДФН гидроксировании. Доказано участие аскорбиновой кислоты в метаболизме тирозина и триптофана, а также в образовании коллагена, причем ее роль заключается в гидроксировании пролина и лизина. При участии витамина С и АТФ происходит транспорт железа и включение его в состав ферритина тканей. Аскорбиновая кислота выполняет также коферментную функцию в составе фермента тиоглюкозидазы.

10.9.4. Синтез

Аскорбиновую кислоту синтезируют растительные и большинство животных клеток, причем в животном организме местом синтеза являются печень и почки. Биологический синтез связан с образованием аскорбиновой кислоты из D-глюкозы без разрыва углеродного скелета по следующей схеме:



Местом синтеза витамина С являются микросомы печени, причем у человека, морской свинки и других животных витамин С не образуется из-за отсутствия L-гулонооксидазы — фермента, катализирующего превращение гулоновой кислоты в аскорбиновую.

10.9.5. Авитаминоз

Недостаточность витамина С может быть экзогенной из-за дефицита аскорбиновой кислоты в пище и эндогенной, обусловленной нарушениями процессов всасывания и функционирования ее в организме. Основными признаками С-авитаминоза являются нарушения белкового обмена, особенно фибриллярных белков. В результате возможны изменения межклеточных взаимодействий, патологическое увеличение проницаемости сосудов, кровоточивость десен, разрушение и выпадение зубов. Отмечены нарушения углеводного обмена, в частности в результате подавления каталитической активности ферментов обмена глюкозы. Что касается липидного обмена, то при С-авитаминозе снижен синтез желчных кислот из холестерина и отмечено увеличение его концентрации в плазме крови. При дефиците витамина С у че-

ловека развивается цинга, основными признаками которой являются поражения кровеносной системы, воспаление ротовой полости, осложненное кровоточивостью десен и выпадением зубов.

10.9.6. Практическое применение

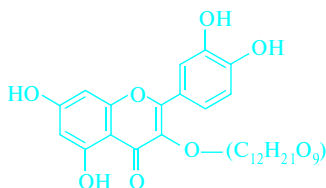
В медицинской практике витамин С применяется для лечения гиповитаминозов С, при кровотечениях, инфекционных заболеваниях, болезнях печени и почек. Аскорбиновая кислота обладает детоксицирующим действием при отравлениях анилином или оксидом углерода. Витамин С применяется индивидуально или в составе различных поливитаминных препаратов.

10.10. Витамины группы Р (биофлавоноиды)

10.10.1. Общая характеристика

Витамин Р представляет собой группу биофлавоноидов, нормализующих проницаемость сосудов, т. е. обладающих сходным с витамином С биологическим действием. Один из них был впервые выделен А. Сент-Дьерди в 1936 г. из кожуры лимона и получил название **рутин**. Другие биофлавоноиды, а их более 100, как и рутин, являются производными флавона и по структуре незначительно отличаются друг от друга. К ним относятся также **гесперидин**, **кумарины**, **антоцианы** и др.

Кристаллы рутина — светло-желтого цвета, плохо растворимы в воде.



рутин

Биофлавоноиды содержатся только в растительных клетках, причем содержание их в тех или иных растениях различно (табл. 10.9).

Потребность человека в витамине Р не установлена.

Т а б л и ц а 10.9. Содержание витамина Р в некоторых растительных продуктах

| Источник | Содержание витамина Р, мг/100 г | Источник | Содержание витамина Р, мг/100 г |
|-----------|------------------------------------|-----------|------------------------------------|
| Шиповник | 680 | Клюква | 330 |
| Апельсины | 500 | Петрушка | 157 |
| Лимоны | 500 | Морковь | 100 |
| Виноград | 430 | Картофель | 36 |

10.10.2. Метаболизм

Биофлавоноиды всасываются в тонком кишечнике и в организме превращаются в фенольные кислоты. Выводятся биофлавоноиды как в неизменном виде, так и в виде метаболитов с мочой.

10.10.3. Биохимические функции. Биосинтез

Подобно аскорбиновой кислоте, биофлавоноиды участвуют в регуляции синтеза коллагена. Они ингибируют фермент гиалуронидазу, что приводит к стабилизации межклеточной соединительной ткани и стенок сосудов. Кроме того, биофлавоноиды защищают адреналин от окисления и обладают детоксицирующим действием, связывая тяжелые металлы в комплексы. Шикимовая кислота является исходным продуктом синтеза биофлавоноидов в растительных клетках.

10.10.4. Авитаминоз

Недостаточность витамина Р сопровождается ломкостью сосудов, мелкими внутрикожными кровоизлияниями, кровоточивостью десен. Гиповитаминоз сопровождается мышечными болями, общей слабостью и быстрой утомляемостью.

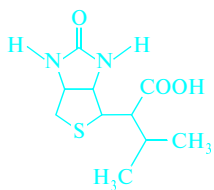
10.10.5. Практическое применение

Индивидуальные биофлавоноиды, такие, как рутин, кверцетин, гесперидин, а также комплексные препараты, например сумма флавоноидов из рябины черноплодной, применяют в медицинской практике при гиповитаминозе Р, геморрагических диатезах, кровоизлияниях в сетчатку глаз, ревматизме, некоторых инфекционных заболеваниях.

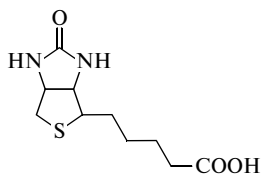
10.11. Витамин Н (биотин)

10.11.1. Общая характеристика

Еще в начале XX в. было найдено вещество, стимулирующее рост дрожжей. Оно было названо **биотином**. В 1936 г. Р. Кегль выделил из яичного белка и получил биотин в кристаллическом состоянии. В 1939—1940 гг. вышла серия работ П. Гиорги, посвященная пищевому фактору, необходимому для защиты от токсичного действия сырого яичного белка, а также от дерматита. Этот фактор оказался витамином, который был назван витамином Н. Структура его была идентифицирована в 1942 г. А. Дю Виньо, который получил этот витамин в кристаллическом состоянии, после чего выяснилось, что биотин идентичен витамину Н. Кристаллы биотина бесцветны, имеют форму игл и температуру плавления 220 °С. Биотин хорошо растворим в спирте и в воде. Молекула биотина состоит из имидазольного и тиофенового колец, боковая же цепь представлена остатком валерьяновой кислоты. Биотин в продуктах встречается в виде α - и β -форм. Витамин Н, выделенный из яичного желтка, является α -биотином, а из молока или печени — β -биотином.



α -биотин



β -биотин

Таблица 10.10. Содержание биотина в некоторых пищевых продуктах

| Источник | Содержание витамина Н, мг/100 г | Источник | Содержание витамина Н, мг/100 г |
|-----------------------|---------------------------------|-----------------|---------------------------------|
| Печень говяжья | 200 | Зеленый горошек | 35 |
| Яйца куриные (желток) | 30 | Шампиньоны | 16 |
| Молоко | 40 | Лук зеленый | 28 |
| Бобы соевые | 60 | Капуста цветная | 17 |

Биотин широко распространен в природе и находится в продуктах и растительного, и животного происхождения (табл. 10.10).

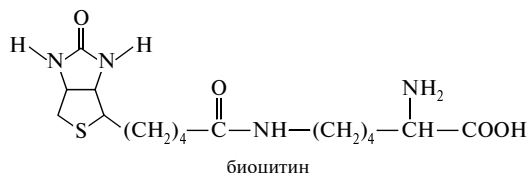
В продуктах животного происхождения биотин связан с белками, а в растениях — находится в свободном состоянии. Потребность человека в этом витамине — 250 мг в сутки, причем часть его поступает с пищей, а часть синтезируется кишечной микрофлорой.

10.11.2. Метаболизм

Биотин, связанный с белками, при помощи протеиназ переходит в свободное состояние и всасывается в тонком кишечнике. При поступлении в кровь он вновь соединяется с белками (в основном с альбумином), затем большая его часть депонируется в печени. Коферментной формой витамина Н является N^5 -карбоксибиотин. Выведение витамина Н из организма происходит с мочой.

10.11.3. Биохимические функции

Биохимическая роль биотина в основном проявляется в составе биотиновых ферментов — карбоксилаз. Биотин первоначально связывается с ϵ -аминогруппой аминокислоты лизина, при этом образуется биоцитин — коферментная форма витамина Н:



Биотин, связываясь с апоферментами, образует ряд активных карбоксилаз, катализирующих две группы биохимических реакций:

- реакции, протекающие с участием АТФ и связанные с образованием карбоксилированного биотина — донора карбоксильных групп. К этим карбоксилазам относятся: ацетил-КоА-карбоксилаза, пропионил-КоА-карбоксилаза, пироваткарбоксилаза;
- реакции транскарбоксилирования, протекающие без участия АТФ и заключающиеся в том, что биотиновые ферменты переносят карбоксильную группу от донора к акцептору (метилмалонил-КоА-карбоксилаза).

Витамин Н принимает участие в синтезе пуринов, при переносе CO_2 , а также играет существенную роль в обмене жирных кислот, катализируя образование малонил-КоА из ацетил-КоА.

Одной из основных реакций свободного биотина является его способность образовывать комплекс с токсическим белком куриных яиц — авидином, осуществляя таким образом его детоксикацию.

10.11.4. Синтез

Биотин широко распространен в живой природе. Он синтезируется зелеными растениями, грибами, бактериями. Образование биотина происходит на основе пимелиновой кислоты. При взаимодействии пимелил-КоА с цистеином через ряд промежуточных реакций образуется биотин.

10.11.5. Авитаминоз

Недостаточность витамина Н проявляется в депигментации шерсти у животных. Развитие авитаминоза Н связано с воспалением кожи, выпадением волос, появлением экссудативного дерматита, параличом. Авитаминоз Н у взрослых людей не проявляется. Гиповитаминоз Н был воспроизведен у волонтеров, получавших с пищей большое количество белка яиц — авидина. В первый же месяц развился дерматит, сопровождавшийся мышечными болями, повышением уровня холестерина в крови, рвотой. Эти симптомы устранялись посредством биотина.

Биотин входит в состав ряда поливитаминных препаратов. Отдельно в медицинской практике не применяется.

Глава 11

ГОРМОНЫ. МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ

11.1. Общая характеристика

Для нормального функционирования животных и растительных клеток помимо обмена веществ и энергии необходима интеграция функций, осуществляемая, в частности, гормонами — веществами, способными контролировать различные стороны клеточного метаболизма. Термин гормон (от греч. — *возбуждать*) был впервые предложен Э. Старлингом в 1905 г. применительно к секретину, образуемому в клетках двенадцатиперстной кишки и воздействующему на функции поджелудочной железы. В настоящее время открыто несколько десятков различных гормонов животного и растительного происхождения. Наука, изучающая действие гормонов на живые системы, называется эндокринологией. Это один из наиболее интересных разделов биохимии, так как, с одной стороны, он связан с регуляцией и интеграцией метаболизма, а с другой — изучает молекулярные механизмы различных эндокринных заболеваний. В последние годы широкое развитие получила токсоендокринология в связи с выявлением действия токсикантов не только на эндокринную, но и на репродуктивную систему организма, что приводит к образованию рака молочной железы и половых желез, а также различных генетических нарушений у потомства.

11.2. Гормоны животных и человека

Гормоны животных представляют собой вещества различной природы, которые синтезируются в специальных (эндокринных) железах, выделяются в межклеточную жидкость (кровь, лимфа) и переносятся к клеткам-мишеням. Последние зачастую находятся на значительном удалении от места синтеза гормонов. Вместе с тем существуют тканевые и нейрогормоны, которые, минуя кровяной поток, воздействуют на клетки-мишени, расположенные в непосредственной близости от места их синтеза. Эндокринные железы в основном развиваются из эпителиальной ткани. Исключение составляют половые железы и секреторные клетки гипофиза. Гормонпродуцирующие железы локализованы в различных участках организма в условиях жесткой иерархии, обуславливающей контроль одних гормонов за синтезом других.

Образование и созревание гормонов. Эти процессы связаны с различными внутриклеточными механизмами. Предшественниками гормонов могут быть стероиды, ароматические аминокислоты или белки. Некоторые гормоны синтезируются в активном состоянии, для других необходимо постсинтетическое созревание. К первым относятся *кортикостероиды*, ко вторым — белковые гормоны, например **инсулин**, который синтезируется в виде белка-предшественника проинсулина, а затем превращается в активный инсулин. Прогормоны после завершения их синтеза, как правило, локализуются в секреторных гранулах и по мере надобности ферментативным путем превращаются в активные гормоны. Активация гормонов возможна и в периферических тканях. Например, гормон щитовидной железы тироксин в печени превращается в более активный 3-иод-тиронин.

11.2.1. Клетки-мишени

Фактически все клетки животного организма являются мишенями для тех или иных гормонов. Истинная клетка-мишень — это такая клетка, в которой при гормональном воздействии стимулируется специфическая биохимическая реакция клеточного метаболизма. Реализация эффекта зависит от концентрации гормона, взаимодействующего с клеткой, которая, в свою очередь, определяется скоростью биосинтеза гормона, созревания и условиями ассоциации-диссоциации с белком-переносчиком в плазме крови.

Конечный биохимический эффект зависит также от синергизма или антагонизма гормональных воздействий на клетки-мишени. Так, адреналин — гормон мозгового слоя надпочечников и глюкагон — гормон поджелудочной железы обладают сходным биохимическим действием: активацией распада гликогена в печени. Примером антагонистического действия могут служить эстрогены и прогестерон — женские половые гормоны, причем эстрогены усиливают сокращение матки, а прогестерон тормозит ее.

11.2.2. Рецепторы

Под рецептором следует понимать конкретные химические структуры клеток-мишеней, содержащие комплементарные участки связывания с гормоном. В результате этого взаимодействия инициируются последующие биохимические процессы.

мические реакции, приводящие к конечному биохимическому эффекту. Рецептор любого гормона является белком и имеет не менее двух структурно и функционально различных доменов. Функции рецепторов белковых гормонов заключаются в следующем: один из доменов рецептора связывает гормон, а другой генерирует сигнал применительно к соответствующему внутриклеточному процессу. У стероидных же гормонов их рецепторы также содержат не менее двух доменов, причем один из них связывает гормон, а другой ассоциируется с определенным участком ДНК. Во многих клетках имеются резервные рецепторы, не участвующие в индукции биологического ответа.

Число рецепторов в клетке не является постоянным и может изменяться в соответствии с метаболическими потребностями клетки. Синтез рецепторов и их сродство (аффинность) к соответствующему гормону регулируются на уровне генома, а также на стадиях созревания и транспорта белка-рецептора.

11.2.3. Классификация гормонов

Имеется несколько вариантов классификации гормонов, например по месту их синтеза. Таким путем можно выделить гормоны гипоталамуса, гипофиза, щитовидной железы, надпочечников, поджелудочной железы, половых желез и др. Такое разделение гормонов имеет ряд недостатков, так как некоторые гормоны могут синтезироваться в нескольких железах, например половые гормоны частично могут синтезироваться в надпочечниках.

Более оправданной является классификация гормонов по химическому строению. По этой классификации их можно разделить на три группы: *белково-пептидные гормоны*, *гормоны, производные ароматических аминокислот*, и *стероиды*. Первая группа представлена гормонами гипоталамуса, гипофиза, парашитовидной и поджелудочной желез. Во вторую группу входят гормоны щитовидной железы и мозгового слоя надпочечников, а в третью — гормоны коры надпочечников и половых желез.

11.2.4. Биологические свойства гормонов

Гормоны отличаются необычайно высокой биологической активностью. Биологический эффект проявляется при концентрации гормона порядка 10^{-9} — 10^{-12} М.

Гормоны обладают высокой специфичностью, индуцируя строго специфичную клеточную реакцию клеток-мишеней.

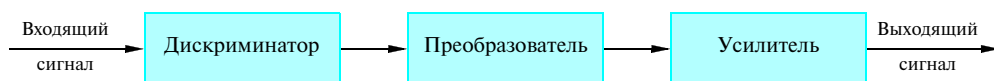
Большинство гормонов проявляет дистантное действие, связываясь с клетками-мишенями на значительном расстоянии от места образования гормона.

11.2.5. Механизмы действия гормонов

В последние десятилетия достигнуты большие успехи в расшифровке молекулярных механизмов действия гормонов. Этому в немалой степени способствовали такие важные события, как открытие вторичных внутриклеточных посредников (цикло-АМФ, цикло-ГМФ, фосфоинозитидов и ионов кальция),

разработка радиоизотопных методов исследования гормональных рецепторов, а также открытие ГТФ-связывающих белков, обеспечивающих передачу сигналов вовнутрь клетки. Несмотря на большое количество гормонов, обладающих к тому же разнообразными функциями и имеющих различные структуры, механизмы их действия в значительной мере унифицированы. Можно выделить два основных механизма действия гормонов на клетки-мишени: мембрано-опосредованный, характерный для водорастворимых гормонов, не проникающих в клетку, а также цитозольный, по которому функционируют липофильные, водонерастворимые гормоны, легко пересекающие плазматические мембраны.

Мембрано-опосредованный механизм. Основные циклы первого этапа передачи гормонального сигнала протекают в плазматической мембране. Они связаны с узнаванием и трансформацией гормонального сигнала и осуществляются при помощи сложной надмолекулярной системы в несколько этапов. М. Родбелл, формализуя проблему с точки зрения кибернетики, так обозначил эти этапы: дискриминатор (рецептор) узнает сигнал, далее происходит преобразование его при помощи соответствующего преобразователя и, наконец, усилитель усиливает его на несколько порядков уже внутри клетки. Ниже приведена схема передачи информационного сигнала (по Rodbell).

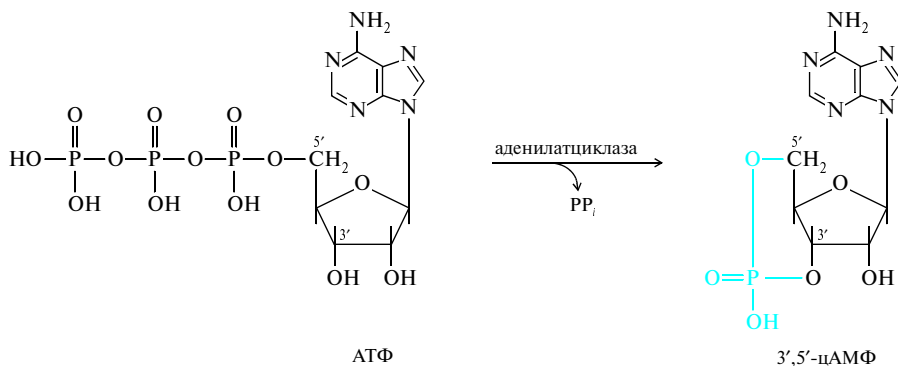


Рецептор (дискриминатор). Он селекционирует и узнает соответствующий гормон и создает условия для каскадного усиления гормонального сигнала. Рецептор представляет собой гликопротеин, причем гликозидная часть его принимает непосредственное участие в связывании гормона.

Фермент аденилатциклаза (усилитель). Это компонент рецепторной системы, который воспринимает и многократно усиливает гормональный сигнал. Это гликопротеин с молекулярной массой около 150 kDa, локализованный в цитоплазматической мембране. Аденилатциклаза имеет две активные SH-группы и несколько аллостерических центров.

Регулятор (преобразователь). Он представляет собой белки, связанные и с рецептором, и с аденилатциклазой. Фактически это два белка, имеющие сродство к ГТФ, поэтому их называют G-белки. Один из этих белков является активатором (стимулятором) аденилатциклазы (G_{st}), другой — ингибитором (G_{ing}). Каждый G-белок состоит из трех полипептидных цепей (α , β и γ). В состоянии «покоя» тример G-белка ассоциирован с ГДФ. Молекулярные механизмы, связанные с трансляцией и усилением сигнала, заключаются в следующем. Гормон, взаимодействуя с рецептором, изменяет его конформацию, при этом происходит диссоциация комплекса G_{st} -белок-ГДФ. Кроме того, сам G-белок диссоциирует на β, γ -димер и α -субъединицу, к которой присоединяется ГТФ. Этот комплекс взаимодействует с сульфгидрильной группой аденилатциклазы и активирует данный фермент. Активная аденилатциклаза катализирует процесс синтеза цАМФ из АТФ. Ингибиторное действие G_{ing} -белка

обусловлено тем, что его β, δ -димер препятствует взаимодействию ГТФ с α -субъединицей G_{st} -белка (рис. 11.1).



Активация аденилатциклазы сопровождается распадом ГТФ, при этом происходит ассоциация полипептидных цепей G-белка в тример в комплексе с ГДФ. В процессе активации аденилатциклазы участвуют Mg^{2+} , Ca^{2+} и Mn^{2+} , способствующие регуляции активности фермента.

Циклические аденинмононуклеотиды в цитоплазме взаимодействуют с ферментом протеинкиназой А или С, которая в отсутствие цАМФ находится в неактивном состоянии. **Протеинкиназа** представляет собой тетрамер, состоящий из двух каталитических (C_2) и двух регуляторных (R_2) субъединиц, который под действием цАМФ диссоциирует на два димера (рис. 11.2).

После диссоциации протеинкиназы ее каталитические субъединицы осуществляют процесс фосфорилирования белков. Присоединение фосфатной группировки происходит по ОН-группам аминокислотных остатков тирозина, треонина или серина, при этом структура и биологическая активность фосфорилированного белка может существенно изменяться. В качестве примера можно привести активацию фосфорилhазы *b*, которая под действием киназы фосфорилhазы *b* фосфорилируется и превращается в активную фосфорилhазу *a*,

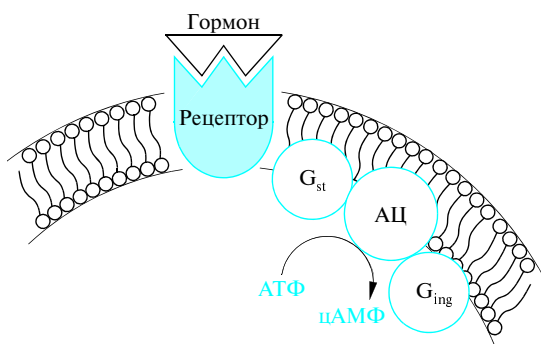


Рис. 11.1. Аденилатциклазный путь передачи гормонального сигнала:

АЦ — аденилатциклаза; G_{st} — белок, стимулирующий активацию аденилатциклазы; G_{ing} — белок, ингибирующий действие аденилатциклазы

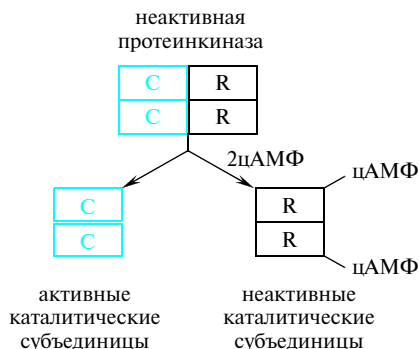


Рис. 11.2. Схема активации протеинкиназы

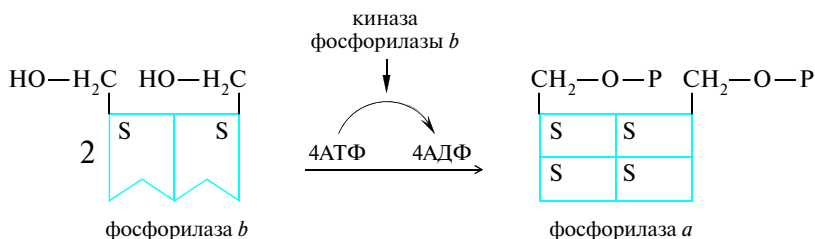
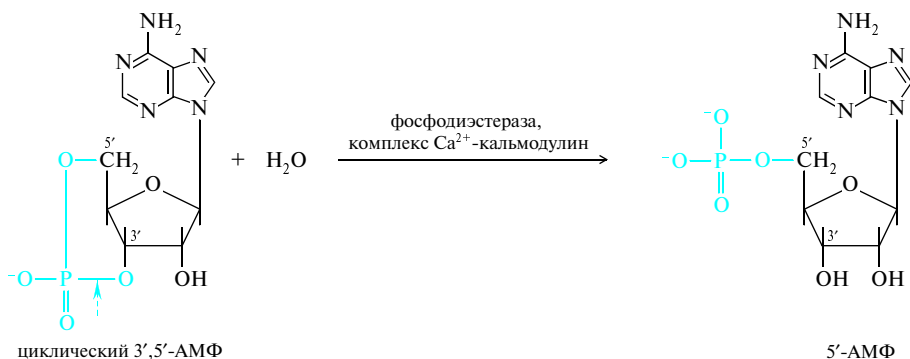


Рис. 11.3. Схема активации фосфорилазы

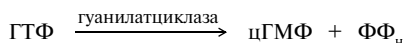
катализирующую процесс отщепления от гликогена и фосфорилирования глюкозы (рис. 11.3).

Процесс дефосфорилирования белков происходит под действием ферментов группы фосфопротеинфосфатаз. Фосфорилирование белков цАМФ-зависимыми протеинкиназами не ограничивается цитоплазмой. С-Каталитические субъединицы протеинкиназ способны пересекать ядерные мембраны и, фосфорилируя ядерные белки — гистоны, регулировать генную активность клеток.

Избыточное количество цАМФ разрушается под действием фосфодиэстеразы. Имеются две формы этого фермента: растворимая, активируемая ионами Ca^{2+} , и мембраносвязанная, каталитическое действие которой не связано с Ca^{2+} . Для активации растворимой фосфодиэстеразы кроме ионов кальция необходим специальный кальций-связывающий белок — кальмодулин. Комплекс Ca^{2+} -кальмодулин присоединяется к фосфодиэстеразе и активирует ее:



Гуанилатциклазная система, подобно вышеописанной, основана на активации гуанилатциклазы и образовании цГМФ. Обнаружены две изоформы гуанилатциклазы — растворимая и мембранно-связанная. Последняя в результате гормонального сигнала или действия специфичных пептидов активируется и катализирует синтез цГМФ по схеме:



Имеется семейство цГМФ-зависимых протеинкиназ (протеинкиназы G), которые осуществляют фосфорилирование белков, подобно протеинкиназам А или С. Однако цАМФ- и цГМФ-зависимое фосфорилирование белков стро-

го специфично, обусловлено различными ферментными системами и реализует различные биологические эффекты.

Ca^{2+} -внутриклеточный посредник гормонов. Поступление Ca^{2+} в цитоплазму клетки регулируется гормонами, селективно изменяющими проницаемость мембран, $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ -АТФ-зависимым насосом, а также освобождением Ca^{2+} , депонированного в митохондриях и эндоплазматическом ретикулууме. Белок кальмодулин присоединяет четыре иона Ca^{2+} , что приводит к резкому изменению его конформации в основном за счет увеличения степени α -спирализации. В результате кальмодулин-зависимые ферменты могут активироваться (инактивироваться) и изменять скорость зависимых биохимических процессов в клетке (рис. 11.4).

Из множества ферментов, регулируемых Ca^{2+} , следует отметить протеинкиназы С, фосфорилирующие растворимые белки цитозоля, фосфодиэстеразы и аденилатциклазы, которые, в свою очередь, являются регуляторами процессов фосфорилирования белков. Связь Ca^{2+} с гормонами очевидна, так как при его дефиците действие гормонов прекращается. В приведенном выше примере фосфорилирования фосфоорилазы *b* и перевода ее в активную форму существенную роль играет Ca^{2+} -кальмодулин.

Цитозольный механизм. Он характерен для липофильных гормонов, легко проникающих в клетку. К ним относятся стероидные гормоны и некоторые гормоны, производные ароматических аминокислот. Рецепторы этих гормонов локализованы в цитоплазме или в ядре и представляют собой первый молекулярный элемент, воспринимающий внеклеточный информационный сигнал посредством специфического связывания и включающий цепь последующих событий.

Внутриклеточные рецепторы относятся к сложным глобулярным белкам — гликопротеинам с молекулярной массой от 60 до 250 kDa. Они имеют трехдоменную структуру (рис. 11.5).

Неактивированные рецепторы или апорецепторы в своем составе содержат белки теплового шока: hsp 90, hsp 70 и hsp 56, которые также присоединя-

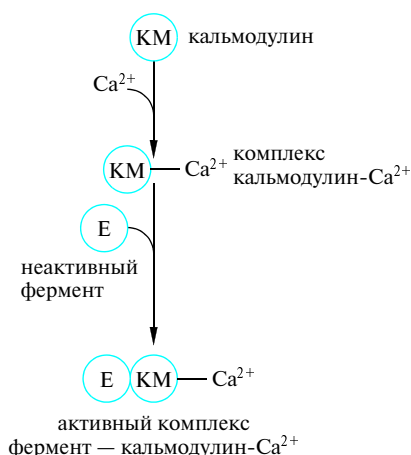


Рис. 11.4. Образование активного комплекса фермент — кальмодулин- Ca^{2+}

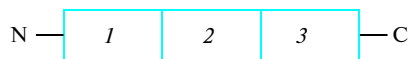


Рис. 11.5. Доменная структура цитозольного рецептора:
1 — N-концевой домен, связывающий рецептор с определенными участками ДНК; 2 — центральный ДНК-связывающий домен; 3 — C-концевой гормон — связывающий домен

Таблица 11.1. Степень аффинности активированных рецепторов к компонентам ядра

| Связь с ядерными структурами | Рецепторы |
|--|---|
| Прочная связь с ядром без лиганда | Рецепторы гормонов щитовидной железы |
| Локализованы в цитоплазме. В отсутствие лиганда могут образовывать слабую связь с ядром. Под действием гормона аффинитет к ядру резко возрастает | Рецепторы стероидных и половых гормонов |
| Локализованы в цитоплазме. В присутствии лиганда аффинитет к ядру более слабый | Рецепторы витамина D |

ются к С-концевому домену и в отсутствие лиганда поддерживают рецептор в неактивном состоянии. Белок теплового шока hsp 90 увеличивает аффинность связывания рецептора с гормоном, подавляя вместе с тем его сродство к компонентам ядра клетки. Присоединение к рецептору комплементарного гормона приводит к диссоциации белков теплового шока, после чего гормон-рецепторный комплекс фосфорилируется и приобретает аффинность к ядрам, т. е. активируется (табл. 11.1).

Механизм передачи и трансформации гормонального сигнала осуществляется в несколько этапов (рис. 11.6).

- Транспорт гормона в клетку. Широко распространенное ранее мнение о том, что липофильные гормоны проходят через бислойные мембраны клеток посредством простой диффузии, подвергается сомнению из-за наличия гидрофильного слоя гликопротеинов на клеточной поверхности. Более вероятным

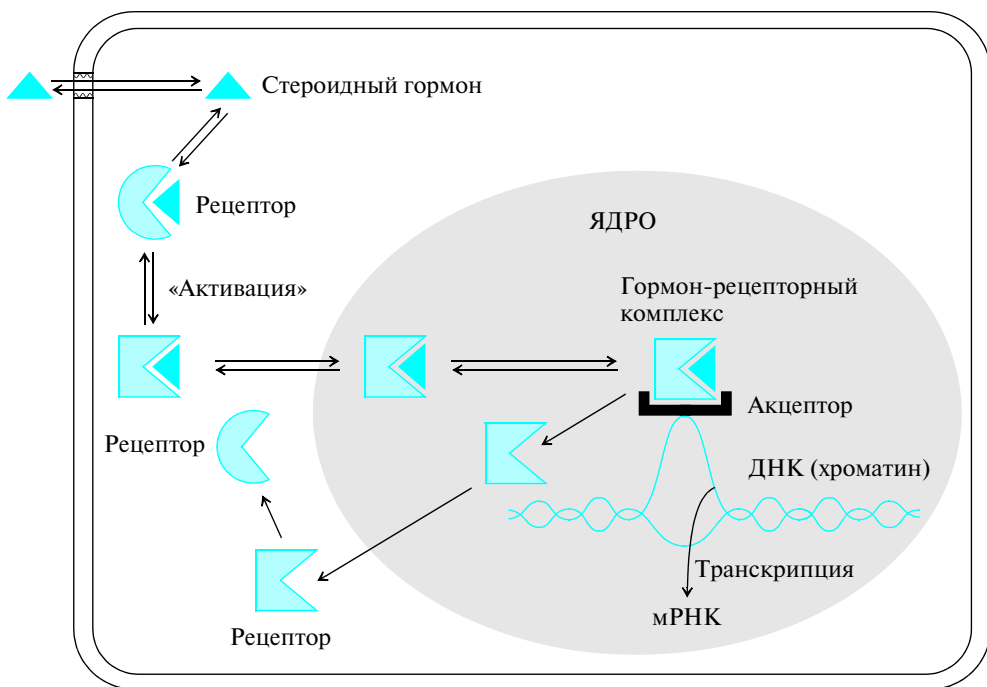


Рис. 11.6. Цитозольный механизм действия гормонов

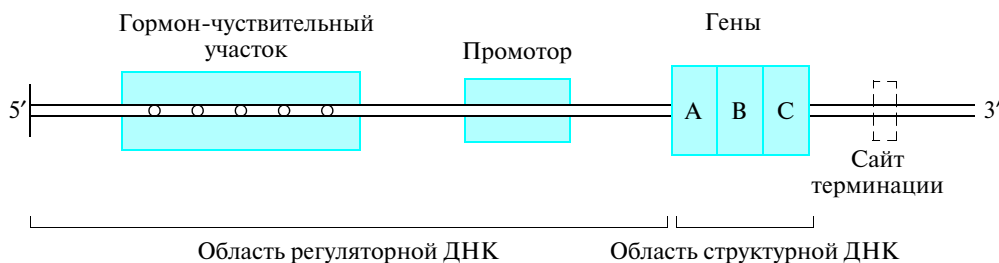


Рис. 11.7. Участок взаимодействия гормон-рецепторного комплекса с ДНК

представляется наличие специальных переносчиков гормонов, переносящих их вовнутрь клетки методом облегченной диффузии.

- **Образование гормон-рецепторного комплекса.** Гормон присоединяется к своему рецептору, при этом происходит фосфорилирование рецептора и отделение от него белков теплового шока.

- **Транслокация комплекса в ядро.** Активированный гормон-рецепторный комплекс связывается с ядерными мембранами и перемещается в ядро клетки.

- **Взаимодействие гормон-рецепторного комплекса с ядерными структурами.** После перемещения в ядро активный гормон-рецепторный комплекс взаимодействует с регуляторными последовательностями структурных генов ДНК в области промотора, что приводит к увеличению транскрипционной активности (рис. 11.7).

- **Отделение гормон-рецепторного комплекса от хроматина.** После освобождения гормон-рецепторного комплекса и его дефосфорилирования ядерными фосфопроteinфосфатазами происходит диссоциация комплекса на гормон и рецептор, последний перемещается в цитоплазму, ассоциируется с белками теплового шока и включается в следующий цикл передачи гормонального сигнала. Этот процесс называется *рециклизацией* гормонального рецептора. В некоторых случаях рециклизация не происходит, так как рецептор после поступления из ядра в цитоплазму подвергается протеолитическому расщеплению.

11.3. Гормоны растений (фитогормоны)

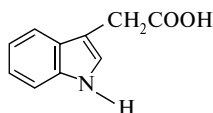
Координирующие и регулирующие функции в процессах роста и развития растений выполняют растительные гормоны или фитогормоны. Различают пять групп фитогормонов: ауксины, гиббереллины, цитокинины, абсцизовая кислота и этилен.

В отличие от гормонов животных, фитогормоны гораздо менее специфичны, что проявляется в однотипном действии на одни и те же метаболические процессы различных фитогормонов.

Ауксины — вещества, производные индола. Наиболее распространенным из них является индолилуксусная кислота (ИУК), которая образуется из триптофана через шикимовую кислоту.

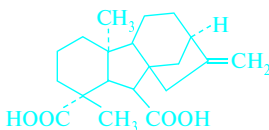
В большинстве растений этот гормон находится в связанной форме, образуя соответствующие сложные эфиры. Ауксины инициируют растяжение растительных клеток в результате интенсификации транспорта протонов из цито-

плазмы в клеточную стенку. Кроме того, они активируют биосинтез РНК и белка.



индолилуксусная кислота

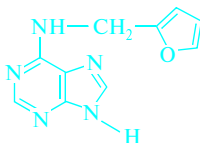
Гиббереллины представляют собой дитерпеноиды, состоящие из четырех изопреновых остатков. Предшественником их биосинтеза является ацетил КоА, из которого затем через мевалоновую и шикимовую кислоту образуется активный гормон. Наиболее распространенным гормоном этого класса является гибберелловая кислота:



гибберелловая кислота

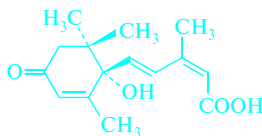
Механизм действия гиббереллинов связан с индукцией синтеза или активацией некоторых ферментов, в частности α -амилазы, а также с изменением проницаемости мембран растительных клеток.

Цитокинины представляют собой производные 6-аминопурина. Основным из них является кинетин



Характерной и, по-видимому, уникальной особенностью образования цитокининов является то, что они представляют собой фрагмент сириновой и тирозиновой тРНК и освобождаются при распаде последних. Цитокинины стимулируют процессы клеточного деления, а в некоторых растениях — растяжение клеток в листьях. Эти гормоны регулируют активность ряда ферментов, а также влияют на процессы биосинтеза РНК и белка.

Абсцизовая кислота (АБК) относится к ингибиторам роста растительных тканей:



Образуется из ацетил КоА через мевалоновую кислоту.

Этот гормон является антагонистом других фитогормонов. АБК представляет собой своеобразный стресс-гормон, физиологическое действие которого проявляется в экстремальных условиях и связано с изменением проницаемости клеточных мембран, а также активацией или ингибированием тех или иных биосинтетических процессов. Различают быстрые и медленные реакции, контролируемые этим фитогормоном. К быстрым реакциям, вызываемым

АБК и проявляющимся уже через несколько минут, относят растяжение клеток и подавление их роста за счет торможения ионного транспорта. Реакции, протекающие с более длительной лаг-фазой, по-видимому, связаны с влиянием АБК на процессы синтеза ферментов или на их активность. В условиях стресса концентрация АБК в растениях резко возрастает.

Этилен — бесцветный газ, хорошо растворимый в воде. Из всех форм живой материи только грибы и высшие растения способны синтезировать этот фитогормон. Он образуется из метионина через *S*-аденозилметионин. По мере старения ткани синтез этилена увеличивается. Этилен является регулятором роста и развития растений. Этот гормон стимулирует процессы опадания плодов и листьев и оказывает заметное влияние на проницаемость мембран клеток.

11.3.1. Практическое применение фитогормонов

Эффективное влияние фитогормонов на рост и развитие растений явилось предпосылкой для интенсивного их использования в растениеводстве и сельском хозяйстве. Наиболее активно используются синтетические ауксины, гиббереллины и этилен. Ауксины способны стимулировать образование корневой системы у черенков. Это их свойство широко используется в практических целях. Обычно применяют не ИУК, а ее производные, например нафтилуксусную кислоту (НУК). Это вещество используют при пересадках плодовых деревьев, для восстановления поврежденной корневой системы. НУК находит применение также для удаления избыточных завязей у яблонь и других плодовых деревьев. Химически модифицированные ауксины широко используются для уничтожения сорняков, сопутствующих росту зерновых культур.

Гиббереллины применяют для повышения урожайности некоторых сортов винограда, а также для защиты ягод от токсического действия фитопатогенных грибов.

Этилен и его производные используют в качестве факторов ускоренного созревания плодов. Летучесть этилена сужает возможности его применения, поэтому был разработан препарат **эстрел**, который при попадании в растение выделяет этилен. Наиболее часто эстрел применяют для регуляции созревания томатов, вишен и других овощей и фруктов.

Глава 12

ГОРМОНЫ ЦЕНТРАЛЬНЫХ ЖЕЛЕЗ

12.1. Гормоны гипоталамуса

Гипоталамус играет важнейшую роль в регуляции различных функций организма. В этом органе происходит взаимодействие центральной нервной и эндокринной систем. Под влиянием нервного импульса в гипоталамусе образуются пептидные факторы, или релизинг-факторы. Эти пептиды по системе порталных капилляров попадают в гипофиз и стимулируют синтез и секре-

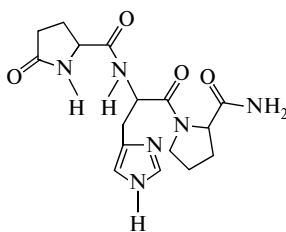
Т а б л и ц а 12.1. Гормоны гипоталамуса и зависимые гормоны гипофиза

| Гормоны гипоталамуса | Сокращение | Высвобождаемый гормон гипофиза |
|----------------------|------------|--------------------------------|
| Кортиколиберин | КрЛ | АКТГ (ЛПГ, МСГ, эндорфины) |
| Тиреолиберин | ТрЛ | ТТГ |
| Гонадолиберин | ГнЛ | ЛГ |
| Фоллилиберин | ФЛ | ФСГ |
| Соматолиберин | СЛ | ГР |
| Соматостатин | СС | ГР (ТР, ФСГ, АКТГ) |
| Пролактилиберин | ПлЛ | Пролактин |
| Пролактостатин | ПлС | Пролактин |
| Меланолиберин | МлЛ | Меланин |
| Меланостатин | МлС | Меланин |

П р и м е ч а н и е. АКТГ — аденокортикотропный гормон, ЛПГ — липотропин, КрЛ — кортиколиберин, ТрЛ — тиреолиберин, ТР — тиреотропин, ГнЛ — гонадолиберин, ЛГ — лютеинизирующий гормон, лютропин, ФСГ — фолликулостимулирующий гормон, фоллитропин, СЛ — соматолиберин, ГР — гормон роста.

цию гормонов гипофиза. Кроме пептидов стимулирующего действия, которые называются либеринами, в гипоталамусе синтезируются пептиды, ингибирующие синтез гормонов гипофиза, так называемые статины. В настоящее время известны семь либеринов и три статина гипоталамуса. Название того или иного либерина или статина связано с соответствующим гормоном гипофиза, например, либерин, стимулирующий синтез и секрецию гормона, воздействующего на щитовидную железу, называется тиреолиберином и т. д. (табл. 12.1).

Представленные в табл. 12.1 гормоны гипоталамуса влияют на синтез и секрецию гормонов передней доли гипофиза. Все гормоны гипоталамуса являются низкомолекулярными пептидами, и структура некоторых из них в настоящее время полностью установлена. Например, гормон тиреолиберин представляет собой трипептид, состоящий из пироглутаминовой кислоты, гистидина и пролинамида, причем концевые группировки NH_2 и COOH отсутствуют.

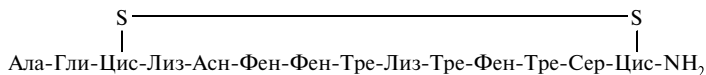


тиреолиберин

Гонадолиберин состоит из десяти аминокислотных остатков, расположенных в следующей последовательности:

Пиро-Глу-Гис-Трп-Тир-Гли-Лей-Арг-Про-Гли- NH_2

Соматостатин имеет более сложную структуру; он состоит из 14 аминокислотных остатков, причем цепь стабилизирована дисульфидной связью:



Другие полипептиды имеют более сложное строение. Так, **кортиколиберин** состоит из 42 аминокислотных остатков, **соматолиберин** — из 44 и т. д.

Синтез. Биосинтез гормонов гипоталамуса индуцируется посредством нервного импульса. Наиболее полно исследован этот процесс на примере тиреолиберина. По-видимому, данный гормон синтезируется нерибосомальным путем, так как его образование *de novo* наблюдалось при полной блокаде синтеза белка пуромицином. Райклин предположил, что образование ТрЛ происходит при помощи ТрЛ-синтетазы, SH-фермента, способного катализировать образование пептидных связей при участии АТФ. Регуляция биосинтеза гормонов гипоталамуса происходит по принципу обратной связи при помощи биогенных аминов и гормонов периферических желез. Химический синтез гормонов гипоталамуса возможен по схеме, описанной в гл. 3.

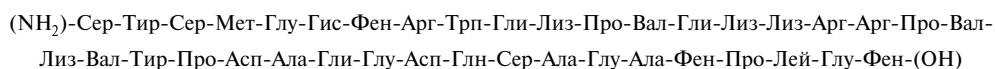
Биохимические функции. Гормоны гипоталамуса не имеют видовых различий и отличаются высокой биологической активностью. Воздействуя на гипофиз, они индуцируют синтез и секрецию гормонов гипофиза, так называемых тройных гормонов. Эффект реализуется, достигает максимума и затем исчезает в течение 40—60 мин. Влияние на синтез гипофизарных гормонов происходит по мембрано-опосредованному механизму, через стимуляцию аденيلاتциклазной системы клеток гипофиза (гл. 11). На поверхности клеток гипофиза найдены специфические рецепторы либеринов и статинов гипоталамуса. Влияние гормонов гипоталамуса на секрецию новосинтезированных гипофизарных гормонов может реализовываться на уровне аппарата Гольджи или упаковки в секреторные гранулы.

12.2. Гормоны гипофиза

Передняя доля гипофиза является местом синтеза ряда гормонов, действующих на клетки-мишени в периферических тканях и контролирующих в них различные биохимические процессы (рис. 12.1).

12.2.1. Адrenокортикотропный гормон (АКТГ)

Этот гормон получен в чистом виде в 1953 г., хотя влияние сырых экстрактов гипофиза на кору надпочечников было установлено гораздо ранее. АКТГ является пептидным гормоном, состоящим из 39 аминокислотных остатков. Ниже приведена структура человеческого АКТГ:



Оказалось, что биологическая активность этого гормона зависит от наличия свободной аминной группировки на N-конце полипептидной цепи,

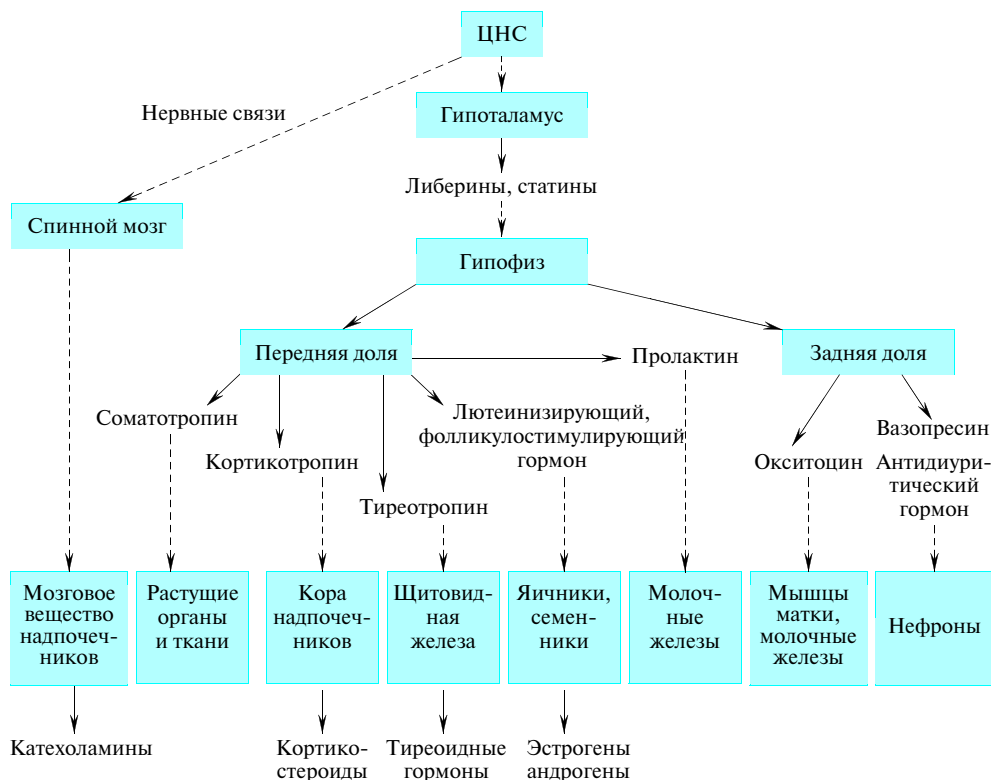


Рис. 12.1. Гормоны гипоталамо-гипофизарной системы

а также от находящихся во втором и в третьем положении серина и тирозина. Вместе с тем отщепление с С-конца от одного до 14 аминокислотных остатков не оказывает заметного влияния на биологическую активность АКТГ. Связывание с рецепторами на мембране клеток надпочечников обеспечивается ϵ -аминогруппами лизина, находящимися в 11, 15 и 16 положениях, а также остатком тирозина во втором положении полипептидной цепи.

Синтез. Биологический синтез. Образование аденокортикотропина стимулируется пептидным фактором гипоталамуса кортиколиберином, который воздействует на рецепторы плазматической мембраны гипофиза в присутствии ионов Ca^{+} . Передача сигнала на синтез АКТГ осуществляется через аденилатциклазную систему и цАМФ. Глюкокортикоиды по принципу обратной связи могут тормозить синтез АКТГ на уровне как гипофиза, так и гипоталамуса, кроме того, сам аденокортикотропин способен подавлять образование кортиколиберина. АКТГ синтезируется в виде прогормона с дополнительной аминокислотной последовательностью, которая удаляется посредством экзопроотеиназ с образованием активного гормона.

Химический синтез. В начале 60-х гг. XX в. был осуществлен синтез АКТГ и его активных фрагментов. Р. Буассона в 1966 г. синтезировал фрагмент данного гормона, состоящий из 25 аминокислотных остатков и обладающий более высокой активностью, чем природный аденокортикотропин. В этом фрагмен-

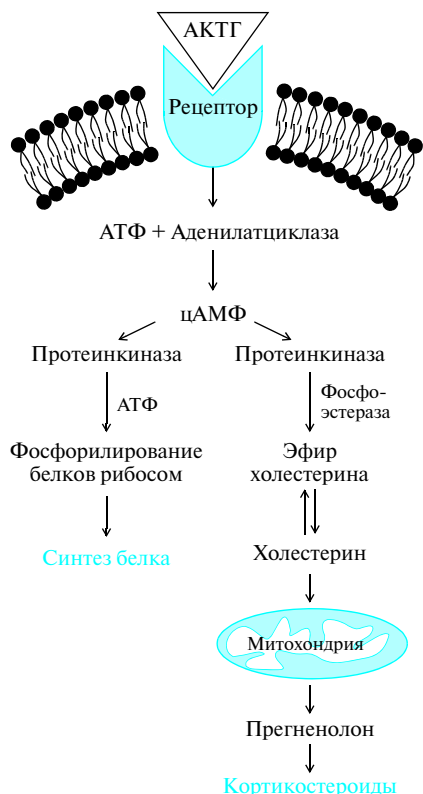


Рис. 12.2. Механизм действия АКТГ

Практическое применение. В медицинской практике применяют кортикотропин для инъекций. Препарат показан при ревматизме, полиартритах, аллергических заболеваниях. Может применяться для предупреждения атрофии коры надпочечников.

12.2.2. Липотропин

Липотропин представлен двумя формами: β -ЛПГ и γ -ЛПГ, причем наибольшее биологическое значение имеет β -ЛПГ. Этот гормон был впервые выделен в 1965 г. Он состоит из 91 аминокислотного остатка и, обладая самостоятельной биологической активностью, является предшественником β -эндорфина. Последний представляет собой фрагмент липотропина, содержащий с С-конца 31 аминокислотный остаток. Отщепление от С-конца β -эндорфина 15 и 14 аминокислотных остатков приводит к образованию α - и γ -эндорфинов соответственно. Эндорфины являются нейромедиаторами и имеют общие рецепторы с морфиновыми опиатами. В этом качестве они играют существенную роль в регуляции болевых ощущений.

Изучение первичной структуры β -липотропина различных животных показало, что видовые различия касаются только N-конца, в то время как С-конец в значительной степени консервативен. Специфический протеолиз β -липотропина, кроме упомянутых выше эндорфинов, приводит к образова-

те N-концевой L-серин был заменен на его стереоизомер D-серин, а С-концевая глутаминовая кислота — на валин.

Биохимические функции. Адренокортикотропин воздействует на клетки надпочечников по мембрано-опосредованному механизму, вызывая стимуляцию синтеза и секреции кортикостероидов. Активация аденилатной системы и образование вторичного посредника цАМФ приводят к образованию активных протеинкиназ и фосфорилированию ряда цитоплазматических белков. Например, фосфорилирование эстераз приводит к их активации и освобождению холестерина. Кроме того, фосфорилирование белков рибосом приводит к интенсификации процессов трансляции и синтезу белка, в том числе и транспортера свободного холестерина в митохондрии, где и осуществляется синтез кортикостероидов (рис. 12.2).

Из вне надпочечниковых эффектов можно отметить фосфорилирование липазы в жировой ткани, что приводит к ее активации и усилению процессов липолиза, а также увеличение секреции инсулина из поджелудочной железы.

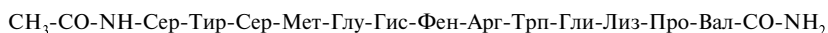
нию гормонов. Так, первые 58 аминокислотных остатков (с *N*-конца) образуют γ -липотропин, а 41—58 остатков — β -МСГ.

Биологическая роль самого β -липотропина связана с фосфорилированием и активацией липазы, расщепляющей нейтральные жиры. Механизм действия этого гормона, как и других пептидных гормонов, связан с активацией аденилатциклазы и генерированием вторичных посредников гормонального сигнала. Для осуществления биологического действия β -липотропин контактирует с рецептором на поверхности жировой клетки, индуцирует образование цАМФ и активацию соответствующей протеинкиназы.

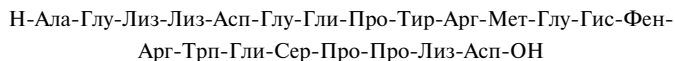
β -Липотропин обладает выраженной видовой специфичностью. Гормон из гипофиза овцы активен в жировой ткани кролика, но полностью неактивен у мышей. Что касается β -липотропина человека, то он проявляет жиромобилизирующее действие только у людей.

12.2.3. Меланоцит-стимулирующий гормон (МСГ)

Третьим гормоном гипофиза, образование которого вместе с АКТГ и β -ЛПГ происходит из единого полипептидного предшественника, является меланоцит-стимулирующий гормон (МСГ). Выделяют два типа МСГ: α и β ; α -МСГ более консервативен, независимо от вида животного он состоит из 13 аминокислотных остатков. Ниже приведена аминокислотная последовательность α -МСГ обезьяны:



β -МСГ у многих животных состоит из 18 аминокислотных остатков, а у человека — из 22. Ниже приведена аминокислотная последовательность β -МСГ человека:



Биохимические функции β -МСГ. Они связаны с контролем биосинтеза пигмента кожи — меланина, а также влиянием на размер и число клеток-меланоцитов. β -МСГ обладает адренорегуляторной активностью, однако гораздо меньшей по сравнению с АКТГ.

12.2.4. Пролактин

Пролактин — один из наиболее древних гормонов гипофиза, так как он кроме млекопитающих содержится у животных, не имеющих системы лактации. Это белок с молекулярной массой 23 kDa, состоящий из 199 аминокислотных остатков, его первичная структура была расшифрована в 1969 г. Б. Ли и М. Диксоном. Оказалось, что *N*-концевой участок этого гормона достаточно консервативен и имеет много общих аминокислот у различных видов животных и человека. Пролактин обладает устойчивой третичной структурой, имеющей форму α -спирали (рис. 12.3).

Биохимические функции. Пролактин стимулирует процессы лактации у млекопитающих. Следует отметить, что эффект действия пролактина проявля-

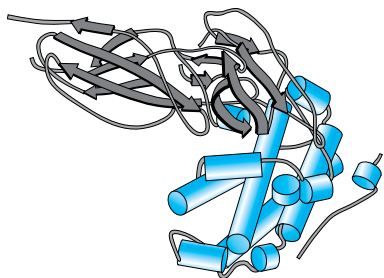


Рис. 12.3. Структура пролактина: цилиндры — спирализованные участки белковой макромолекулы (по PDB-2001) (Somers, W., Ultsch, A., De Vos, A. M., Nature, 372, p. 448, 1994)

ется в сочетании с женскими половыми гормонами. Кроме того, пролактин влияет на секреторную активность желтого тела, а также на эритропоэз. У пресмыкающихся этот гормон контролирует рост органов и их регенерацию, у рыб — стимулирует функции щитовидной железы и семенных пузырьков. Молекулярные механизмы действия пролактина проявляются через вторичные посредники и заключаются в фосфорилировании и регуляции активности соответствующих ферментов.

Практическое применение. В медицинской практике применяют препарат **лактин**. Его получают из передней доли гипофиза крупного рогатого скота. Препарат усиливает лактацию в период кормления ребенка.

12.2.5. Гормон роста (соматотропин, СТГ)

СТГ состоит из одной полипептидной цепи, содержащей 191 аминокислотный остаток (у человека). Его молекулярная масса равна 22 kDa. Биосинтез гормона роста индуцируется действием гормона гипоталамуса — соматолиберина. После синтеза в клетках гипофиза полипептидного предшественника в результате локального протеолиза образуется активный СТГ. Секреция соматотропина регулируется биогенными аминами, опиоидными пептидами и глюкагоном. Независимая регуляция его синтеза осуществляется инсулиноподобными факторами роста, которые ингибируют секрецию соматолиберина и стимулируют секрецию соматостатина.

Биохимические функции. Соматотропин контролирует синтез белка, влияя на транспорт аминокислот из крови в мышечные ткани. Кроме того, показано влияние СТГ на процессы транскрипции и образование зрелой РНК. Действие на липидный обмен проявляется в активации липаз за счет их фосфорилирования и, как следствие, в стимуляции липолиза. Отмечено многоплановое влияние СТГ на углеводный обмен. Активация глюконеогенеза, а также ингибирование транспорта глюкозы в клетки под действием этого гормона приводят к гипергликемии и повышенному синтезу гликогена. Соматотропин регулирует процессы роста всего организма. Гипофункция гипофиза, приводящая к снижению синтеза и секреции СТГ, является причиной пропорционального уменьшения роста всех органов человека и животных.

Практическое применение. В медицине применяют генноинженерный препарат под названием **соматотропин** или **генотропин** при дефиците гормона роста в организме. Увеличивает рост и вес тела, стимулирует белковый и минеральный обмены веществ.

12.2.6. Тиреотропный гормон (ТТГ)

Первичная структура ТТГ была расшифрована в 1971 г., а вскоре были идентифицированы и его высшие структуры. ТТГ является гликопротеином; это гетерополимер, содержащий две (α - и β -) неравнозначные полипептидные

цепи с молекулярной массой около 30 kDa. α -Субъединица, содержащая 96 аминокислотных остатков, ТТГ весьма консервативна и почти не имеет межвидовых различий. Биологическая активность ТТГ, как и других гликопротеиновых гормонов, определяется строением β -субъединицы (112 аминокислотных остатков), которая обеспечивает взаимодействие гормона с рецептором. Вместе с тем свободная β -субъединица неактивна и проявляет биологическую активность только в комплексе с α -субъединицей. По мнению ряда авторов, α -субъединица является не только активатором, но и протектором β -субъединицы от действия протеиназ.

Синтез. Образование ТТГ контролируется гормонами гипоталамуса тиреолиберин и тиреостатином. Тиреолиберин является трипептидом, состоящим из глутаминовой кислоты, гистидина и пролина. Этот гормон стимулирует синтез и секрецию ТТГ в кровяное русло. Тиреостатин блокирует секрецию ТТГ, а также снижает уровень цАМФ в гипофизе. Кроме того, регуляторами синтеза ТТГ являются гормоны щитовидной железы.

Биохимические функции. Тиреотропин контролирует синтез и секрецию гормонов щитовидной железы тироксина и трийодтиронина. Воздействуя по мембрано-опосредованному механизму на клетки щитовидной железы, он стимулирует образование тиреоглобулина — предшественника тиреоидных гормонов.

12.2.7. Гонадотропные гормоны

К гонадотропным относятся фолликулостимулирующий (фоллитропин, ФСГ) и лютеинизирующий (лютропин, ЛГ) гормоны. Оба гормона являются гликопротеинами и представляют собой димеры, состоящие из α - и β -неравнозначных субъединиц. α -Субъединицы состоят из мало варьируемых от вида к виду 89—95 аминокислотных остатков, соединенных с двумя углеводными цепями. β -Субъединицы менее консервативны. Они содержат 119 аминокислотных остатков, соединенных с одной углеводной цепью. Структура α -субъединиц ЛГ у многих видов животных совпадает, а β -субъединиц — имеет ряд индивидуальных особенностей.

Биохимические функции. Каждая субъединица ФСГ и ЛГ биологически неактивна, при образовании же димеров отмечена выраженная гормональная активность. ФСГ, связываясь с мембранными рецепторами фолликулярных клеток яичников и клеток Сертоли семенников, стимулирует у самок созревание фолликулов и секрецию эстрогенов, а у самцов — сперматогенез.

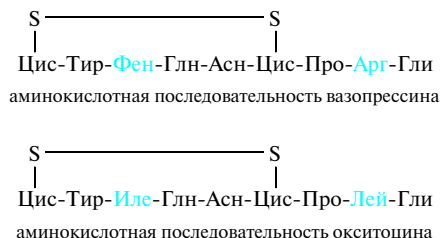
ЛГ является индуктором синтеза прогестерона в клетках желтых тел. Он стимулирует овуляцию у самок, а также регулирует выработку тестостерона и интенсивность сперматогенеза у самцов.

Практическое применение. На основе ЛГ в медицине применяют препарат для инъекций **гонадотропин хорионический (гопабиол, прегнил)**. Он показан при атрофии или понижении функций половых желез у мужчин и у женщин в связи с патологией гипофиза, а также при бесплодии у женщин.

На основе ФСГ применяется **гонадотропин менопаузный (гопал Ф, пурегон)** для инъекций. Показан при бесплодии у мужчин и женщин.

12.2.8. Вазопрессин и окситоцин

Вазопрессин и окситоцин синтезируются в гипоталамусе, перемещаются в заднюю долю гипофиза, а затем секретируются в кровяное русло. Они представляют собой нонапептиды, причем у обоих гормонов между первым и шестым цистеинами имеются дисульфидные мостики.



Как видно из схем, оба гормона незначительно отличаются друг от друга, а именно различными аминокислотными остатками в третьем и восьмом положениях полипептидной цепи.

В настоящее время получено много синтетических производных окситоцина, причем дезаминирование по цистеину в первом положении приводит к увеличению биологической активности препарата в четыре раза. Это, возможно, объясняется тем, что при отсутствии *N*-концевой группы облегчается образование водородной связи между пептидной СО-группой аспарагина и аминной группой тирозина. Образовавшаяся водородная связь способствует стабилизации пространственной структуры окситоцина.

Для пептидных гормонов характерно наличие двух сайтов, отвечающих за биологический эффект: участка связывания с рецептором и участка, ответственного за формирование и передачу сигнала. Для **окситоцина** сайтом связывания с рецептором является аминокислотный остаток изолейцина в третьем положении. Участок формирования и передачи сигнала соответствует тирозину во втором положении.

Метаболизм окситоцина происходит при помощи специфичной протеазы — окситоциназы, причем степень протеолиза различна в тех или иных тканях.

Биохимические функции. Окситоцин оказывает стимулирующее действие на гладкую мускулатуру матки, а также способствует сокращению миоэпителиальных клеток в районе альвеол молочной железы. Расслабляюще действует на гладкие мышцы сосудов, вызывая временную артериальную гипотонию. Молекулярные механизмы эффектов обусловлены генерированием цАМФ и фосфорилированием соответствующих белков.

Вазопрессин часто называют антидиуретическим гормоном, так как он контролирует реабсорбцию воды в почечных канальцах. Действие вазопрессина осуществляется по мембрано-опосредованному механизму. В результате связывания вазопрессина с рецепторами в почечных канальцах запускается каскад реакций. Образование цАМФ и активация протеинкиназы приводят к фосфорилированию мембранных белков в почках, что влияет на транспорт воды.

Практическое применение. Окситоцин используется в медицинской практике для стимуляции родовой деятельности, атонии матки и маточных кровотечений. Следует отметить, что окситоцин применяют внутривенно и

что период его полувыведения из организма составляет не более 3 мин. Лекарственный препарат называется **синтоцинон** или **сандопарт**.

Препарат **адиурекрин** на основе вазопрессина из гипофиза крупного рогатого скота показан при несахарном диабете и недержании мочи.

Глава 13

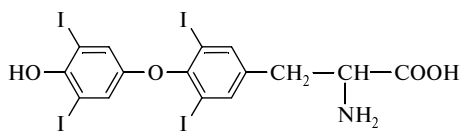
ГОРМОНЫ ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ ЭНДОКРИННЫХ ЖЕЛЕЗ

13.1. Общая характеристика

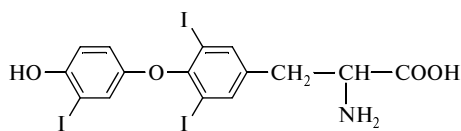
Гормоны являются регуляторами метаболизма, поэтому их содержание в крови контролируется рядом молекулярных механизмов, наиболее значимыми из которых являются сигналы, поступающие из центральных эндокринных желез. Это гормоны гипоталамуса и гипофиза, для которых периферические эндокринные железы являются тканями-мишенями.

13.2. Гормоны щитовидной железы

В щитовидной железе образуются два гормона — производные ароматической аминокислоты тирозина — **тироксин** и **трийодтиронин**:



тироксин (тетраиодтиронин)



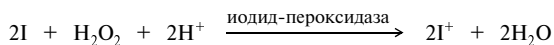
трийодтиронин

Кроме того, образуются йодированные предшественники, моно- и диiodтирозины, не обладающие биологической активностью.

Биосинтез и метаболизм. Сигнал, запускающий синтез тиреоидных гормонов, формируется в гипоталамусе в виде тиреолиберина, который, воздействуя на гипофиз, стимулирует синтез и секрецию тиреотропина. Последний взаимодействует с рецепторами на поверхности клеток щитовидной железы и опосредованно, через вторичные посредники, стимулирует синтез ряда белков, в том числе тиреоглобулин — предшественник тиреоидных гормонов. Тиреоглобулин представляет собой гликопротеин с молекулярной массой 660 kDa и необычно большим числом тирозиновых остатков в полипептидной цепи (около 120). Углеводная часть составляет до 10% от массы тиреоглобулина. Как и все секреторные белки, тиреоглобулин синтезируется на мембранно-связанных рибосомах, причем гликозилирование полипептидной цепи начинается в цистернах эндоплазматического ретикулума, а завершается в аппарате Гольджи. Тиреоидные гормоны являются единственной группой гормонов, для функционирования которых необходим микроэлемент йод.

Йодированию остатков тирозина в составе тиреоглобулина предшествует активация йода, поступившего в щитовидную железу посредством активного

транспорта. Этот процесс, необходимый для получения иодорганических соединений, протекает при помощи фермента иодид-пероксидазы и пероксида водорода в качестве окисляющего агента:



Окисленный иодид, взаимодействуя с остатками тирозина, образует тиреоидные гормоны в составе тиреоглобулина. Затем происходит деградация последнего и освобождение тироксина (T_4) и трийодтиронина (T_3), составляющих 25—30% от общего количества иодированных тирозинов. Избыточный тиреоглобулин депонируется в базальных клетках щитовидной железы и расходуется по мере надобности. Регуляция биосинтеза T_3 и T_4 осуществляется по принципу обратной связи, заключающегося в том, что избыток гормонов тормозит синтез своего предшественника. Кроме того, эти гормоны могут тормозить секрецию тиреотропина, блокируя сигнал, запускающий синтез тиреоглобулина. Дефицит гормонов щитовидной железы является основанием для интенсификации их биосинтеза. Однако депонирование тиреоглобулина в щитовидной железе вносит существенные коррективы в процессы регуляции синтеза тироксина и трийодтиронина по принципу обратной связи. После секреции тиреоидных гормонов в кровяное русло происходит их связывание с глобулином и преальбумином. В связанном состоянии они поступают в печень, где происходит превращение большей части T_4 в T_3 , который проявляет в 10 раз большую метаболическую активность. Отщепление атома иода от тироксина осуществляется при помощи фермента деиодидазы.

Распад тиреоидных гормонов происходит в основном в печени и начинается с полного их деиодирования. Затем происходит дезаминирование и декарбоксилирование остатков тирозина. Завершается биотрансформация конъюгацией с глюкуроновой кислотой, причем выведение этих конъюгатов происходит как с желчью, так и с мочой через почки.

Биохимические функции. Высокая гидрофобность T_3 и T_4 является основанием для действия их по цитозольному механизму. Оказалось, что рецепторы тиреоидных гормонов в основном находятся в ядре и образованные гормон-рецепторные комплексы, взаимодействуя с ДНК, изменяют функциональную активность некоторых участков генома. Результатом действия T_3 и T_4 является индукция процессов транскрипции и, как следствие, биосинтез многих белков. Эти молекулярные механизмы лежат в основе влияния тиреоидных гормонов на многие обменные процессы в организме. Тиреоидные гормоны обладают выраженным анаболическим действием, важным проявлением которого является повышение поглощения кислорода тканями организма, а также повышение эффективности Na^+/K^+ -АТФ-азного насоса. Гормоны щитовидной железы участвуют в регуляции обмена липидов, в частности холестерина, углеводов, а также водно-солевого обмена. Гипертиреоз проявляется в патологической интенсификации основного обмена, гипертонии, тахикардии. Это происходит на фоне гипергликемии, глюкозурии в условиях отрицательного азотистого баланса. Гипофункция щитовидной железы проявляется в резком снижении скорости метаболических процессов, гипотонии и брадикардии. Врожденный гипотиреоз приводит к замедлению умственного развития в результате поражения ЦНС. Приобретенный гипотиреоз может

возникнуть в результате дефицита иода и сопровождается патологическим состоянием — микседемой.

Практическое применение. Дефицит гормонов щитовидной железы лечат при помощи заместительной гормонотерапии. В медицинской практике применяют гормоны T_3 и T_4 , полученные из щитовидной железы крупного рогатого скота. Лекарственная форма имеет название **тиреоидин**. Синтетическим аналогом тироксина является **левотироксин натрия**, который регулирует обменные процессы, зависимые от гормонов щитовидной железы. Применяется также комбинированный препарат **тиреокомб**, состоящий из левотироксина, лиотиронина и иодида калия.

13.3. Гормоны паращитовидной железы

В паращитовидной железе синтезируются два полипептидных гормона — паратиреоидный (парат) гормон и кальцитонин. Местом синтеза кальцитонина является также щитовидная железа.

13.3.1. Паратгормон

Паратгормон был получен в частично очищенном состоянии в 1925 г. из паращитовидной железы быка, и только полвека спустя его получили в гомогенном состоянии. Он представляет собой полипептид, состоящий из 84 аминокислотных остатков, причем биологическая активность определяется *N*-концевым фрагментом, состоящим из 34 аминокислот.

Синтез и метаболизм. Паратиреоидный гормон синтезируется в виде полипептида — предшественника, состоящего из 115 аминокислотных остатков. В результате локального протеолиза отщепляется 31 аминокислотный остаток с *N*-конца и образуется активный гормон. Фактором, регулирующим содержание активного гормона в крови, является концентрация кальция и содержание пропаратгормона в клетках паращитовидной железы. В физиологических условиях большая часть пропаратгормона распадается в клетках, однако дефицит кальция приводит к уменьшению его распада и увеличению выхода активного гормона. Вновь образованный паратгормон поступает в секреторные гранулы и перемещается из клеток в кровь. Скорость секреции обратно пропорциональна концентрации кальция в плазме крови. Кроме того, на скорость освобождения гормона влияет уровень цАМФ в клетках паращитовидной железы.

Распад паратгормона начинается с его фрагментации на два полипептида, которые затем подвергаются дальнейшему протеолизу в основном в почках. Время его полураспада составляет 20—25 мин.

Биохимические функции. ПТГ действует на клетки-мишени по мембрано-опосредованному механизму, причем это действие реализуется в почках, костной ткани и кишечнике. В клетках почечных канальцев, богатых рецепторами к ПТГ, происходит активация аденилатциклазы, а также синтез цАМФ, который активирует протеинкиназу и участвует в регуляции транспорта ионов Na^+ , K^+ и Ca^{2+} через клеточные мембраны. ПТГ оказывает множественное действие на костную ткань. Он опосредованно активирует ферменты коллагеназу и глюкоуронидазу, что вызывает деструкцию органических компонентов кости, в частности коллагена и гликозамингликанов. В минеральных компонентах костной ткани под действием ПТГ происходит солюбилизация гидро-

ксияпатита и высвобождение в кровь кальция и фосфора. Было установлено, что ПТГ активирует процессы транскрипции в остеокластах — клетках, резорбирующих кости.

13.3.2. Кальцитонин (КТ)

КТ был впервые получен С. Н. Коопом и соавторами в 1962 г. Шесть лет спустя он был выделен в гомогенном состоянии, что дало возможность установить его структуру. Оказалось, что КТ синтезируется в виде предшественника — полипептида, состоящего из 136 аминокислотных остатков. В результате посттрансляционного процессинга образуется активный гормон кальцитонин, содержащий 32 аминокислотных остатка с молекулярной массой 3,6 kDa. Правильность установленной структуры была подтверждена химическим синтезом КТ, который был осуществлен в том же году.

Все аминокислотные остатки полипептидной цепи КТ востребованы для проявления биологической активности. Однако видовые отличия идентифицированы, и они связаны с аминокислотной последовательностью от 10 до 32 остатков в полипептидной цепи КТ. Установлена аминокислотная последовательность кальцитонина человека, многих животных и рыб. Наибольший интерес представляет КТ лосося, так как его биологическая активность по отношению к млекопитающим в 20 раз выше, чем активность собственных гормонов.

Биохимические функции. Кальцитонин является антагонистом паратгормона и ингибирует резорбцию костной ткани. Его биологическое действие реализуется по мембрано-опосредованному механизму и вызывает уменьшение концентрации кальция в плазме крови. КТ действует не только на минеральную составляющую костей, но и на их органический матрикс. Это проявляется в ингибировании костного коллагена, инактивации кислой фосфатазы и β -глюкуронидазы, а также активации щелочной фосфатазы. Кальцитонин способствует транспорту фосфора из крови в костную ткань для образования гидроксиапатита в последней, а также оказывает выраженное действие на почки, подавляя канальцевую реабсорбцию кальция и фосфора. Биологическое действие гормонов паращитовидной железы проявляется на фоне действия на обмен кальция и фосфора таких гормонов, как глюкокортикоиды и соматотропин.

Практическое применение. В медицине применяют синтетический кальцитонин или же полученный из лосося, причем лекарственная форма имеет название **кальцитрин**. Показан при остеодистрофиях (болезнь Педжета), некрозе бедренных костей, карциноме и других заболеваниях. При дефиците паратгормона и, как следствие, содержания кальция и фосфора в крови развивается заболевание тетания, сопровождающееся судорожным синдромом. Для лечения применяют ПТГ, лекарственная форма которого называется **паратиреоидин**.

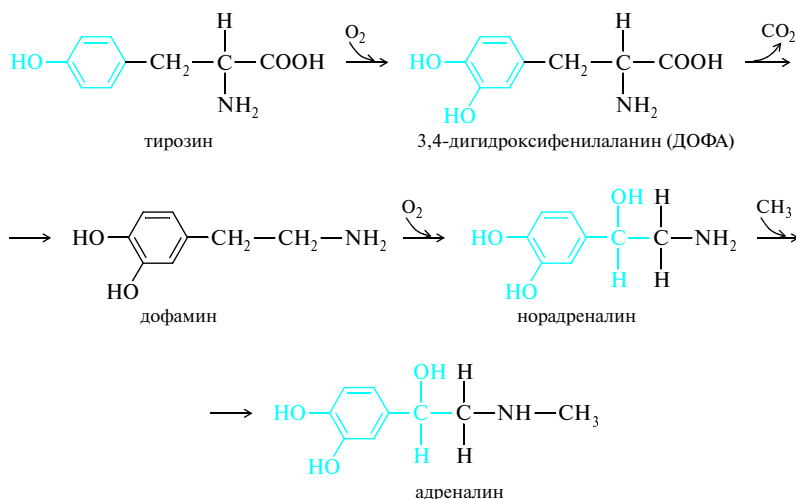
13.4. Гормоны надпочечников

13.4.1. Гормоны мозгового слоя надпочечников

Эти гормоны, так же как и тиреоидные гормоны, являются производными ароматических аминокислот. Такие гормоны, как **адреналин**, **норадреналин** и **дофамин**, имеют общее название *катехоламины* и синтезируются из единого

предшественника — тирозина. Последний, в свою очередь, образуется из фенилаланина в результате фенилаланингидроксилазной реакции. Эта реакция катализируется полиферментным комплексом, в состав которого входит фенилаланин-гидроксилаза и редуктазы фолата и дигидроптерина.

Биосинтез. Катехоламины синтезируются в хромаффинных клетках мозгового слоя надпочечников. Сигналом на синтез этих гормонов является нервный импульс, в результате чего запускается синтез катехоламинов из тирозина. Более всего синтезируется адреналина (примерно 80% от общего количества катехоламинов). Процесс синтеза адреналина протекает в четыре стадии, причем ключевым ферментом является **тирозин-гидроксилаза**. Ниже представлена схема биосинтеза катехоламинов из тирозина:



На схеме представлены стадии этого процесса, включающие в себя гидроксилирование ароматического кольца, декарбоксилирование, гидроксилирование боковой цепи и *N*-метилирование.

Тирозин-гидроксилаза регулируется по принципу обратной связи катехоламинами, а также цАМФ. Образование дофамина находится под контролем декарбоксилазы ароматических аминокислот, обладающей широкой субстратной специфичностью. Синтез норадреналина катализируется медьсодержащим ферментом — дофамин-β-гидроксилазой. И наконец, образование адреналина, связанное с метилированием норадреналина, происходит под действием фенилэтаноламин-*N*-метилтрансферазы в цитоплазме адреналин-продуцирующих клеток. Донором метильных групп является *S*-аденозилметионин. Новосинтезированные катехоламины поступают в хромаффинные гранулы посредством активного транспорта, где связываются с АТФ. Под действием нервного импульса происходит перемещение гранул к цитоплазматической мембране и выброс катехоламинов в экстрацеллюлярное пространство методом экзоцитоза.

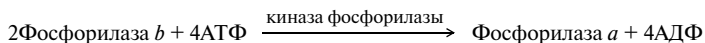
Метаболизм. Секретируемый адреналин взаимодействует с клетками-мишенями, а затем быстро метаболизирует. Идентифицировано два фермента метаболизма адреналина и других катехоламинов: катехол-*O*-метилтрансфераза (КОМТ) и моноаминооксидаза (МАО). Инактивация катехоламинов по-

средством КОМТ происходит за счет метилирования ЗОН-группы, находящейся в кольце, причем в качестве донора метильной группы также используется *S*-аденозилметионин. МАО, локализованная во внешней мембране митохондрий, катализирует отщепление аминных групп от адреналина и других катехоламинов. Основными продуктами метаболизма адреналина и норадреналина являются 3-метоксиэпинефрин, 3-метокси-4-оксиминдальная кислота и 3-метокси-4-оксифенилгликоль. Эти продукты в свободном состоянии или в качестве конъюгатов с глюкуроновой кислотой, а также с сульфатом выводятся через почки из организма.

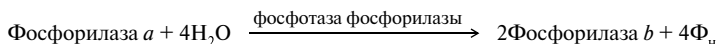
Биохимические функции. Катехоламины действуют на клетки-мишени по мембрано-опосредованному механизму, чему в немалой степени способствует гидроксилирование кольца и боковой цепи этих соединений. Катехоламины взаимодействуют с α - и β -адренергическими рецепторами, локализованными в мембранах клеток-мишеней. Адреналин взаимодействует с обоими типами рецепторов, а норадреналин преимущественно с α -рецепторами. Каждая группа рецепторов разделяется на две подгруппы, а именно: α_1 и α_2 , а также β_1 и β_2 . Группа α_1 -, α_2 -рецепторов проявляет эффекты суживающего действия, сокращения гладких мышц, ингибирования липолиза. Действие β -рецепторов связано с активацией аденилатциклазы, образованием цАМФ и последующим фосфорилированием белков. Например, адреналин, взаимодействуя с β -рецепторами через систему вторичных посредников, активирует протеинкиназу, которая фосфорилирует ряд цитоплазматических белков. Таким образом, адреналин регулирует гликогенолиз в печени и в мышцах, а также глюконеогенез в печени. Мобилизация гликогена в мышцах происходит под действием фермента фосфоорилазы, которая находится в виде неактивного димера (форма *b*) или активного тетрамера (форма *a*). Активированная посредством адреналина протеинкиназа фосфорилирует фермент киназу фосфоорилазы *b*, что приводит к ее активации:



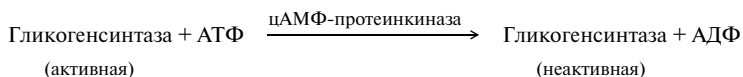
Киназа фосфоорилазы *b*, фосфорилируя фосфоорилазу *b*, превращает ее в фосфоорилазу *a*:



Фосфоорилаза *a* под действием фермента фосфатазы фосфоорилазы распадается на два неактивных димера, прекращая реакцию расщепления гликогена:



Помимо приведенных выше реакций, цАМФ-зависимая регуляция уровня гликогена в тканях осуществляется за счет фосфорилирования гликогенсинтазы, приводящей к ее инактивации:



Фосфорилирование гликогенсинтазы осуществляет та же протеинкиназа, которая активирует киназу фосфорилазы *b*. В тканях локализовано семейство различных цАМФ-зависимых протеинкиназ. В жировой ткани обнаружены рецепторы катехоламинов. Активация одной из протеинкиназ вызывает фосфорилирование и активацию липазы и, как следствие, стимуляцию липолиза.

Практическое применение. Адреналин оказывает существенное влияние на функции сердечно-сосудистой системы, увеличивая силу и частоту сердечных сокращений, а также кровяное давление. Воздействуя через β_2 -рецепторы, он влияет на бронхи, снимая бронхоспазм. Отмечено влияние адреналина на желудочно-кишечный тракт и тонус сфинктеров. В медицинской практике применяют соли адреналина: гидрохлорид и гидротартрат.

13.4.2. Гормоны коры надпочечников

В коре надпочечников синтезируются стероидные гормоны. Это соединения липидной природы, производные циклопентанопергидрофенантрена. Стероидные гормоны синтезируются, кроме надпочечников, в половых железах, однако независимо от места синтеза их общим предшественником является холестерин. Кортикостероиды коры надпочечников разделяют на две группы: *глюкокортикоиды* и *минералокортикоиды*. Глюкокортикоиды контролируют многие стороны обмена углеводов, липидов и нуклеиновых кислот. Наибольшей активностью обладают такие представители этой группы, как **кортизол** и **кортикостерон**.

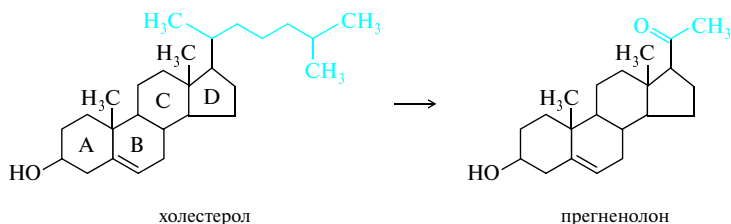
Минералокортикоиды оказывают существенное влияние на водно-солевой обмен, причем наиболее активным из них является **альдостерон**. Гормонам каждой группы свойственна (в меньшей степени) биологическая активность гормонов другой группы (табл. 13.1).

Таблица 13.1. Биологическая активность кортикостероидов (Bagavan N. V., 1978)

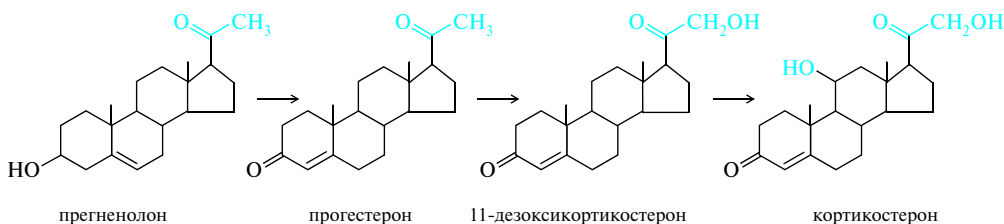
| Кортикостероиды | Глюкокортикоидная активность | Минералокортикоидная активность |
|-----------------|------------------------------|---------------------------------|
| Кортизол | 1 | 10^{-4} |
| Кортизон | 0,8 | 10^{-4} |
| Альдостерон | 0,4 | 1 |

Биосинтез. Образование кортикостероидов осуществляется в несколько стадий, причем общим предшественником их является холестерин (гл. 23). Холестерин синтезируется в надпочечниках или же поступает в них из кровяного русла. В цитоплазме клеток происходит этерификация холестерина и его депонирование. Сигнал на синтез кортикостероидов формируется в гипоталамусе и реализуется в синтезе кортиколиберина. Этот гормон, воздействуя на гипофиз, стимулирует образование адренокортикотропного гормона (АКТГ). Последний, взаимодействуя с мембранными рецепторами клеток надпочечников, через систему вторичных посредников активирует эстеразу холестерина; при этом освободившийся холестерин транспортируется в митохондрии. Превращение холестерина в прегненолон в митохондриях происходит в результате гидроксилирования и отщепления боковой цепи посредством ферментов дес-

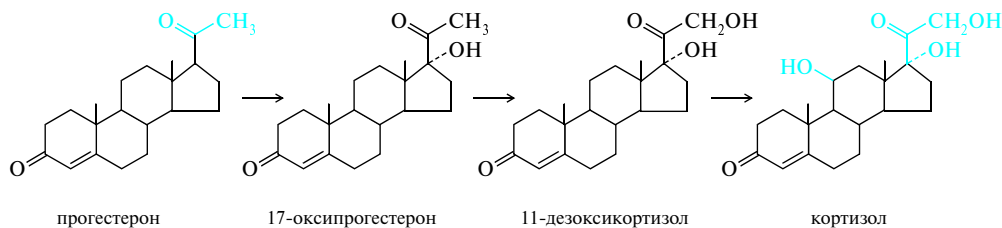
молазного комплекса, включающего в себя 20- и 22-гидроксилазы, а также C_{20-22} -лиазу. В реакциях гидроксилирования принимают участие цитохром Р-450 и НАДФН. В результате образуется C_{21} -стероид, который носит название прегненолон:



Идентифицировано несколько путей дальнейшего превращения прегненолона в биологически активные гормоны — кортикостероиды. Один из них связан с превращением прегненолона:

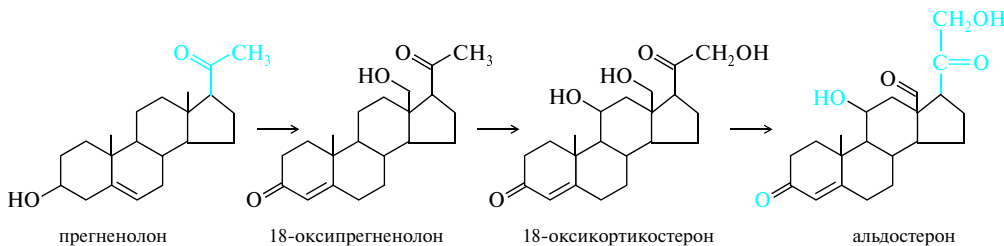


В ином варианте из прогестерона образуется кортизол по схеме:



Синтез минералокортикоидов контролируется *ренин-ангиотензиновой системой*, основным компонентом которой является **ангиотензин-II-октапептид**, образующийся из полипептидного предшественника.

Возможен путь образования из прегненолона оксикортикостерона, а затем минералокортикоида — альдостерона:



Регуляция биосинтеза. Образование кортикостероидов имеет многоуровневый характер. Прежде всего следует отметить регуляцию, связанную с сигналами, поступающими из гипоталамуса и гипофиза. Далее существенное влияние на этот процесс оказывает содержание холестерина и его транспорт в митохондрии. И наконец, регуляция образования кортикостероидов определяется активностью ферментов гидроксилирования холестерина. Образование прегненолона является лимитирующей стадией всего процесса стероидогенеза. Был обнаружен специальный белок, способствующий взаимодействию холестерина с цитохромом Р-450 и, таким образом, оказывающий существенное влияние на стероидогенез.

Метаболизм. Биотрансформация глюкокортикоидов происходит в печени и заключается в серии реакций окисления и восстановления (причем последние преобладают). Одной из основных реакций инактивации этих гормонов является образование восстановленных дигидро- и тетрагидропроизводных в результате восстановления двойных связей в кольце А в присутствии НАДФН. Биотрансформация включает также конъюгацию с глюкуроновой кислотой и в меньшей степени с сульфатами. Образовавшиеся конъюгаты с желчью поступают в кишечник, где возможна их реадсорбция, попадание в кровяное русло и выведение с мочой.

Минералокортикоиды. Эти гормоны в печени превращаются в тетрагидропроизводные. Например, альдостерон восстанавливается до тетрагидроальдостерона, который затем образует конъюгаты с глюкуроновой кислотой и выводится из организма с мочой.

Биохимические функции. Глюкокортикоиды стимулируют катаболические процессы в организме, преимущественно в мышечной и жировой тканях. Новосинтезированные гормоны быстро секретируются в кровь и связываются со специфическим белком — транскортином. Образованный макромолекулярный комплекс переносится к клеткам-мишеням, где происходит его диссоциация и реализация действия гормонов. Глюкокортикоиды усиливают распад белков, повышают содержание аминокислот в крови и аминного азота в моче. Данные гормоны ингибируют синтез нуклеиновых кислот во всех тканях, кроме печени. Их действие на углеводный обмен проявляется прежде всего в увеличении глюкозы в крови за счет активации глюконеогенеза в печени. В липидном обмене глюкокортикоиды стимулируют интенсификацию липолиза, а также ингибируют синтез жирных кислот в печени.

Минералокортикоиды, воздействуя на почки, регулируют водно-солевой обмен в организме. Самым активным в этой группе гормонов является альдостерон, обеспечивающий транспорт Na^+ в почечных канальцах. Кроме того, он стимулирует выделение с мочой K^+ и иона аммония. Механизм действия альдостерона связан с увеличением числа натриевых каналов в мембранах почечных клеток, а также с индукцией синтеза АТФ, необходимого для транспорта ионов.

Практическое применение. Кортикостероиды проявляют противовоспалительную, антиаллергическую и иммунодепрессивную активность. Эти фармакологические эффекты обуславливают их применение в качестве лекарственных препаратов. Их применяют для лечения ревматизма, ревматоидных артритов, бронхиальной астмы, лейкозов, аллергических реакций и ряда других

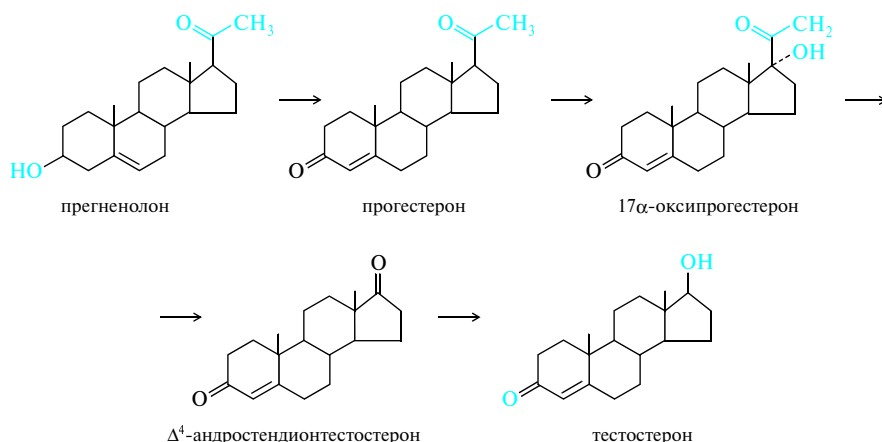
заболеваний. Кроме того, кортикостероиды используют в заместительной терапии, например при болезни Аддисона, а также для подавления иммунитета при пересадке органов. Лекарственные формы — ампулы для инъекций, таблетки, мази.

13.5. Половые гормоны

Половые гормоны также являются стероидами. Они синтезируются в половых железах, или гонадах. Половые железы синтезируют большое количество стероидов, но лишь немногие из них обладают гормональной активностью. В семенниках образуются мужские половые гормоны, или *андрогены*. Не все клетки данной железы продуцируют андрогены, а только специализированные клетки Лейдига.

13.5.1. Андрогены

Биосинтез. Образование андрогенов начинается в результате отщепления боковой цепи холестерина и образования прегненолона. Этот этап является общим в процессах синтеза и кортикостероидов и половых гормонов. Основным представителем андрогенов — тестостерон образуется из прегненолона по следующей схеме:

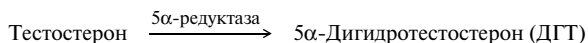


Образование прегненолона из холестерина происходит в митохондриях при участии НАДФ-зависимого флавопротеина, железо-серного белка — адрендоксина и цитохрома P-450. Остальные стадии биосинтеза тестостерона происходят в эндоплазматическом ретикулуле с участием ферментов: 17 α -гидроксилазы, C_{17–20}-лиазы, 17 β -гидроксистероиддегидрогеназы.

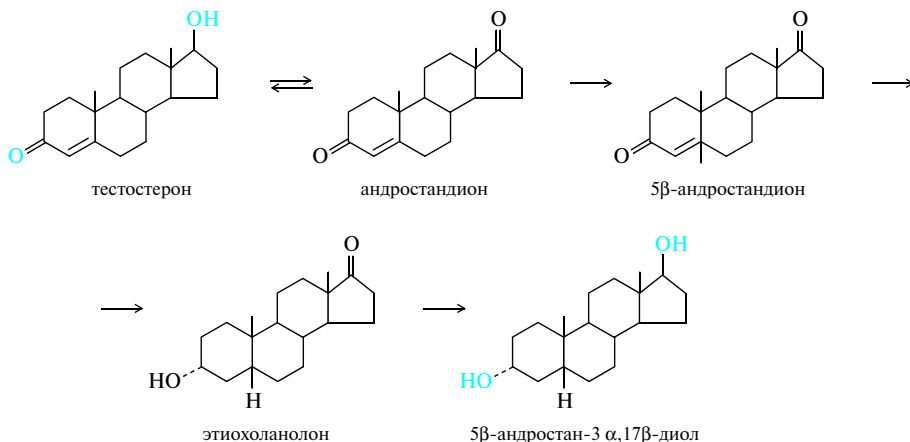
Регуляция биосинтеза андрогенов определяется гормонами центральных желез — гонадолиберин и гонадотропинами. Под их контролем находится синтез ферментов, участвующих в образовании тестостерона и других половых гормонов. Гонадотропные гормоны контролируют также секрецию андрогенов в кровяное русло, где они связываются с белком глобулиновой фракции — тестостерон-связывающим глобулином.

Метаболизм. Период «полужизни» активного тестостерона составляет не более 20 мин, после чего он претерпевает ряд метаболических превращений.

Одна из метаболических реакций приводит к значительному увеличению биологической активности гормона:



В большинстве случаев метаболические превращения приводят к инактивации и быстрому выведению метаболитов тестостерона из организма. Наиболее вероятна инактивация тестостерона по 17-кетопути, включающем в себя несколько стадий:

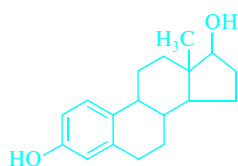


Неактивные метаболиты в печени подвергаются конъюгации с серной или глюкуроновой кислотами и выводятся из организма через почки с мочой.

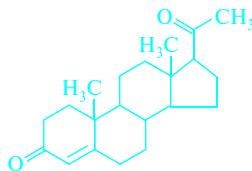
Биохимические функции. В репродуктивных тканях андрогены отвечают за их дифференцировку и функционирование. Образовавшийся в семенниках тестостерон и его активный метаболит ДГТ проникают в клетки-мишени методом простой или облегченной диффузии и взаимодействуют с одним и тем же белковым рецептором. Образовавшиеся гормон-рецепторные комплексы перемещаются в ядро, связываются с хроматином и стимулируют процессы синтеза белка (гл. 11). В репродуктивных органах эти процессы реализуются в половой дифференцировке, основные этапы которой представляют собой: хромосомы—гонады—фенотип. Кроме того, андрогены стимулируют сперматогенез, половое созревание и по принципу обратной связи контролируют секрецию гонадотропинов. Помимо влияния на функционирование репродуктивной системы, андрогены участвуют в контроле клеточного метаболизма многих других тканей и органов. Независимо от типа ткани андрогены проявляют анаболические эффекты, связанные со стимуляцией процессов транскрипции и увеличения скорости синтеза белка. Более всего андрогенных клеток-мишеней находится в скелетных мышцах, причем под действием гормонов происходит резкое увеличение мышечных белков и наращивание мышечной массы. Стимуляция белок-синтетических процессов под действием андрогенов отмечена в почках, сердечной мышце, костной ткани. Андрогены образуются не только в семенниках, но и в яичниках. Их роль в организме женщин или самок животных заключается в формировании поведенческих реакций, а также в контроле за синтезом белка в репродуктивных органах.

13.5.2. Эстрогены

Биосинтез. Женские половые гормоны синтезируются в яичниках и разделяются на две группы: *эстрогены*, наиболее активным из которых является **17β-эстрадиол**, а также *прогестины* — основной представитель — **прогестерон**:

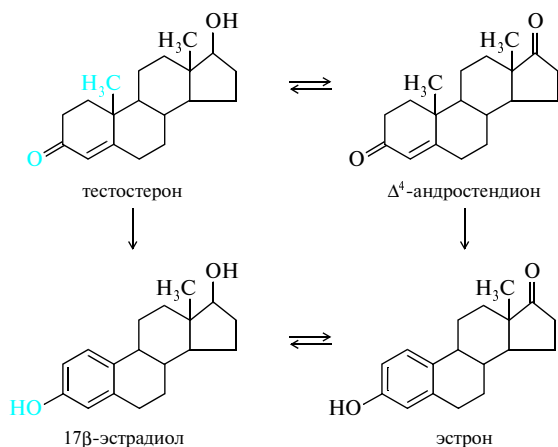


эстрадиол



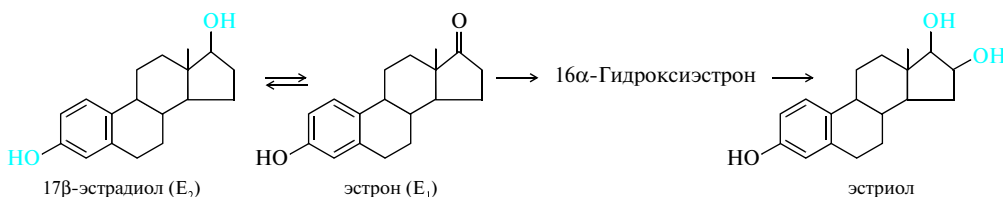
прогестерон

Эти гормоны синтезируются также в незначительном количестве в надпочечниках из единого предшественника — холестерина. Образование эстрогенов также возможно в результате ароматизации кольца А:

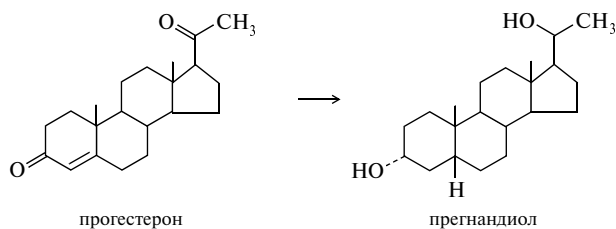


Ароматизация катализируется при помощи ферментного комплекса — ароматазы — локализованного в микросомальной фракции клеток яичников. Синтез прогестерона из холестерина протекает по схеме, представленной выше. Секретция стероидов из яичников определяется менструальным циклом и концентрацией новосинтезированных гормонов в клетках. В крови эстрадиол и прогестерон связываются со специфичными глобулинами, обеспечивающими необходимый резерв гормонов в кровяном русле.

Метаболизм. В печени происходит биотрансформация эстрагенов, имеющая двухфазный характер. Так, например, эстрадиол превращается в эстрон, а затем в эстриол по схеме:



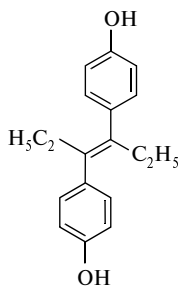
Прогестерон метаболизирует до прегнандиола:



Во второй фазе биотрансформации оба гормона образуют конъюгаты с глюкуроновой кислотой или с сульфогруппой и выводятся из организма с калом.

Биохимические функции. Так же как и другие стероиды, эстрогены проникают в цитоплазму и далее в составе гормон-рецепторного комплекса в ядро клеток. Эстрогены не влияют непосредственно на РНК-полимеразу, но резко стимулируют процессы инициации транскрипции. Усиление синтеза специфических белков в репродуктивных органах инициирует ряд зависимых процессов на клеточном и органном уровнях. Так, эстрогены контролируют процессы овуляции за счет индукции секреции лютеинизирующего гормона по принципу обратной связи. Прогестерон обеспечивает эффективность имплантации оплодотворенной яйцеклетки в матке, а также стабилизирует мембранный потенциал миометрия, что способствует сохранению беременности.

Практическое применение. Половые гормоны применяются в медицинской практике в качестве лекарственных препаратов. Использование их показано при недоразвитости и снижении секреторной функции гонад. **Тестостерон** и его производные применяются для лечения климактерических нарушений у мужчин и женщин, при истощении, сахарном диабете и тиреотоксикозе. Эстрогены и прогестерон применяют также для лечения злокачественных новообразований репродуктивной системы женщин и для сохранения беременности. Эстрогенным действием обладает ряд синтетических препаратов. Наиболее активным из них является **диэтилстильбэстрол**, который нашел применение при гинекологических заболеваниях, для подавления лактации, а также для лечения рака молочной железы.



13.6. Гормоны поджелудочной железы

Из ацинарной части поджелудочной железы в просвет двенадцатиперстной кишки секретируются пищеварительные ферменты, в то время как островковая (эндокринная) часть секретирует в панкреатическую вену следующие

Таблица 13.2. Типы клеток в островках Лангерганса (по Марри)

| Тип клеток | Относительное содержание, % | Образующийся гормон |
|------------|-----------------------------|---------------------|
| α | 25 | Глюкагон |
| β | 70 | Инсулин |
| δ | 5 | Соматостатин |

гормоны: **инсулин**, **глюкагон** и **соматостатин**. Островковая часть состоит из клеток различного типа, причем каждый из них синтезирует и секретирует определенный гормон (табл. 13.2).

13.6.1. Инсулин

Инсулин был впервые выделен из поджелудочной железы быка в 1921 г. Ф. Бантингом и Ч. Бестом. Он состоит из двух полипептидных цепей, соединенных двумя дисульфидными связями. Полипептидная цепь А содержит 21 аминокислотный остаток, а цепь В — 30 аминокислотных остатков, молеку-

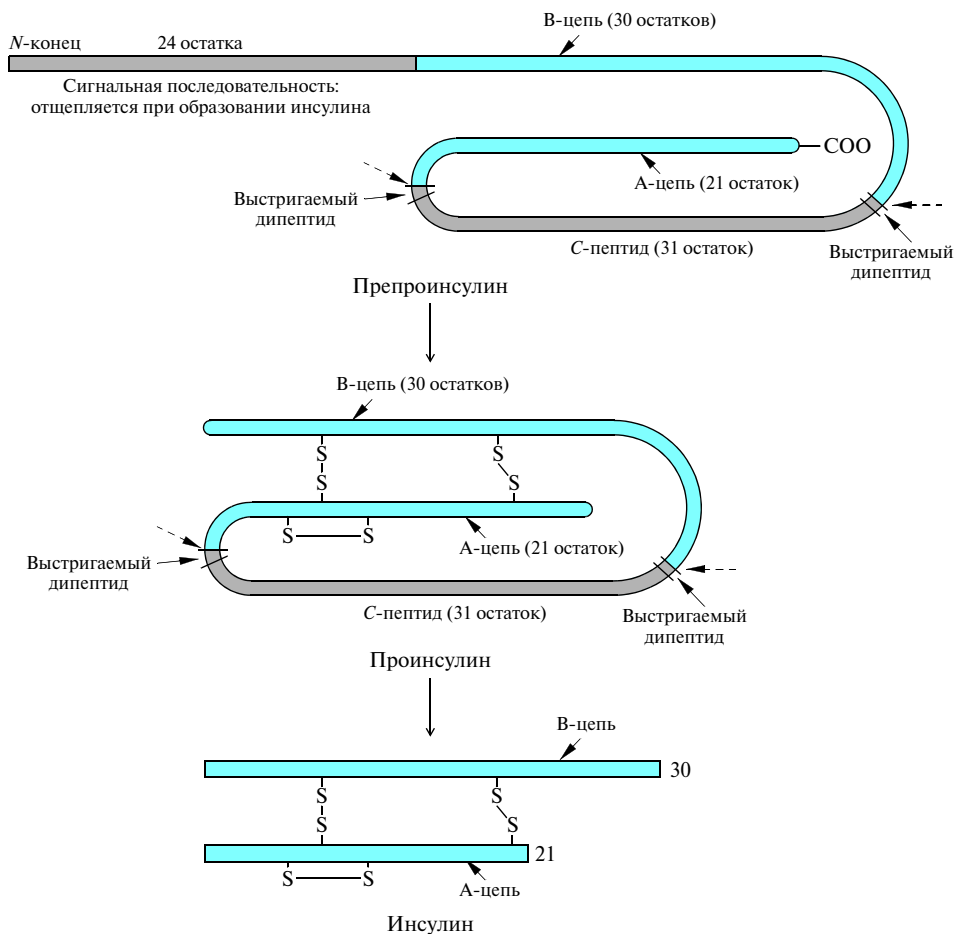
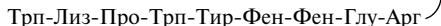


Рис. 13.1. Процессинг инсулина в поджелудочной железе

<http://chemistry-chemists.com>



<http://chemistry-chemists.com>

<http://chemistry-chemists.com>

<http://chemistry-chemists.com>

<http://chemistry-chemists.com>



<http://chemistry-chemists.com>

онирующей совместно с глутатион-инсулин-трансгидрогеназой, расщепляющей дисульфидные связи между двумя полипептидными цепями инсулина.

❗ Фрагментация инсулина и его распад происходят преимущественно в печени, почках и плаценте.

Фрагменты инсулина обладают биологической активностью и участвуют в ряде метаболических процессов. Мутации в структуре инсулинового гена, нарушение механизмов посттранскрипционного и посттрансляционного процессинга приводят к образованию дефектных молекул инсулина и, как следствие, к нарушению обменных процессов, регулируемых данным гормоном. В результате развивается тяжелое заболевание — сахарный диабет.

Биохимические функции. Одной из основных функций инсулина является регуляция транспорта глюкозы, аминокислот, ионов и других метаболитов в клетки печени, почек, жировой ткани и других органов. Механизм действия этого гормона отличается от такового для других пептидных гормонов и является уникальным в регуляции метаболических процессов. Инсулиновый рецептор представляет собой тетрамер, состоящий из двух α - и двух β -субъединиц, одна из которых обладает тирозинкиназной активностью. Инсулин при взаимодействии с α -субъединицами, расположенными на поверхности цитоплазматической мембраны, образует гормон-рецепторный комплекс. Конформационные изменения тетрамера приводят к активации трансмембранной β -субъединицы рецептора, обладающей тирозинкиназной активностью. Активная тирозинкиназа способна как к аутофосфорилированию, так и к локальному фосфорилированию близлежащих мембранных белков. В результате фосфорилирования образуются мембранные каналы, через которые глюкоза и другие метаболиты проникают в клетки. Через определенный временной интервал происходит интернализация гормон-рецепторного комплекса во внутрь клетки, где он диссоциирует на свободные рецептор и гормон. Рецептор поступает в аппарат Гольджи, где «ремонтируется», а затем перемещается на внешнюю мембрану для дальнейшего функционирования. Этот процесс называется *рециклизацией инсулинового рецептора*. Свободный инсулин под действием тканевой инсулиназы распадается на семь фракций, пять из которых обладают биологической активностью. Так, они способны активировать 6S-белки рибосом, обладающие протеинкиназной активностью. В результате стимулируется инициация трансляции и биосинтез белка.

Кроме того, инсулин стимулирует ряд биосинтетических процессов: синтез нуклеотидов, нуклеиновых кислот, ферментов гликолиза и пентозофосфатного цикла, гликогена. В жировой ткани инсулин активирует процесс образования ацетил КоА и жирных кислот. Он является одним из индукторов синтеза холестерина, а также глицерина и глицераткиназы.

13.6.2. Глюкагон

Глюкагон синтезируется в α -клетках островков поджелудочной железы. Это пептидный гормон, состоящий из 29 аминокислотных остатков с молекулярной массой 3,5 kDa. Ниже приведена аминокислотная последовательность глюкагона человека:

Н-Гис-Сер-Глн-Гли-Тре-Фен-Тре-Сер-Асп-Тир-Сер-Лиз-Тир-Лей-Асп-Сер-Арг-Арг-Ала-Глн-Асп-Фен-Вал-Глн-Тре-Лей-Мет-Асп-Тре-ОН

Биосинтез. Глюкагон, подобно многим биологически активным пептидам, синтезируется в виде более крупного предшественника — проглюкагона. Созревание гормона происходит в аппарате Гольджи, после чего он секретируется в кровь по механизму, подобному для инсулина. Освобождение глюкагона регулируется глюкозой по принципу обратной связи. Увеличение концентрации глюкозы в крови подавляет секрецию, а дефицит ее стимулирует выброс глюкагона в кровяное русло.

Глюкагон не связывается с белками крови, поэтому быстро распадается в организме. Время его «полужизни» 7—9 мин, причем распад на отдельные аминокислоты происходит в основном в печени.

Биохимические функции. Глюкагон является гормоном-антагонистом инсулина. Он стимулирует гликогенолиз и липолиз, а также активирует процесс глюконеогенеза. Глюкагон взаимодействует с клетками-мишенями по мембрано-опосредованному механизму (гл. 11). Через вторичный посредник — цАМФ он активирует протеинкиназу, киназу фосфорилазу и фосфорилазу *b*, что приводит к мобилизации глюкозы из гликогена. Как и инсулин, глюкагон регулирует метаболические процессы преимущественно в печени, мышцах и жировой ткани.

13.6.3. Соматостатин

Соматостатин синтезируется δ -клетками островков Лангерганса в виде препросоматостатина, состоящего из 116 аминокислотных остатков. В процессе созревания происходит сначала образование 28-членного просоматостатина, а затем — зрелого соматостатина, состоящего из 14 аминокислотных остатков. Помимо поджелудочной железы, соматостатин образуется в гипоталамусе и в некоторых клетках тканей желудочно-кишечного тракта.

Панкреатический соматостатин регулирует освобождение инсулина и глюкагона, так как на цитоплазматических мембранах α - и β -клеток имеются рецепторы этого гормона.

13.6.4. Практическое применение гормонов поджелудочной железы

Лекарственные формы инсулина применяют для лечения сахарного диабета, а также в качестве гипогликемического и анаболического средства. При использовании инсулина как лекарственного препарата первостепенное значение имеет его очистка, так как примеси, особенно белковой природы, резко увеличивают токсичность. В настоящее время разработаны технологии получения монопиковых и монокомпонентных препаратов инсулина, не вызывающих аллергических и других побочных реакций. Наиболее эффективным является полученный генноинженерным способом гормон, полностью идентичный по аминокислотному составу человеческому инсулину.

Глюкагон применяют для лечения тяжелых гипогликемических состояний. Соматостатин используют при заболеваниях желудочно-кишечного тракта, при острых кровопотерях. В медицинской практике обычно применяют гормон, полученный методом химического синтеза.

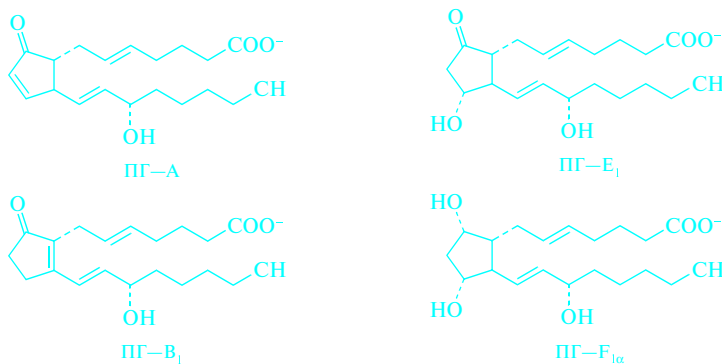
13.7. Гормоны тимуса

Тимус относится к лимфоидным органам, однако для него характерны и эндокринные функции. Тимус состоит из нескольких долек, каждая из которых образована эпителиальными клетками. Эти клетки синтезируют и секретируют ряд пептидных гормонов, таких, как **тимулин**, α_1 - и β_4 -**тимозины**, **тимопоэтин I** и **тимопоэтин II**. Последний содержит пентапептид, занимающий 32—36 положение, если считать с *N*-конца, и являющийся активным сайтом данного гормона. Этот полипептид был получен методом химического синтеза и явился основой лекарственного препарата ТР-5. Гормоны тимуса влияют на дифференцировку Т-клеток, а также стимулируют неспецифическую иммунную защиту организма. Некоторые из этих гормонов применяют в качестве лекарственных средств. Так, тимозин с успехом используют при атаксии и синдроме Вискотта—Олдрича.

13.8. Простагландины

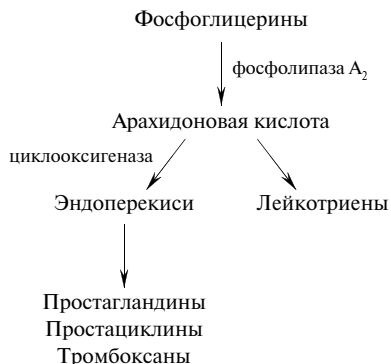
Термин *простагландины* принадлежит Х. Эйлеру, который впервые в 1932 г. выделил эти биологически активные вещества из секрета предстательной железы (Prostate). В дальнейшем выяснилось, что данные вещества локализованы почти во всех тканях и органах, однако термин «простагландины» в литературе и общении сохранился.

Простагландины — производные незаменимых C_{20} -жирных кислот, содержащих цикlopentanовое кольцо. Основными группами простагландинов (ПГ) являются: ПГ—А, ПГ—В, ПГ—Е, ПГ—F. Внутри каждой группы имеются подгруппы, различающиеся числом двойных связей в боковых цепях молекулы и обозначаемые цифрами. Кроме того, различная ориентация гидроксильных групп и цикlopentanового кольца обозначается после цифр индексами α или β . В 1957 г. впервые были получены в кристаллическом состоянии ПГ—E₁ и ПГ—F_{1 α} . Ниже представлена структура простагландинов:

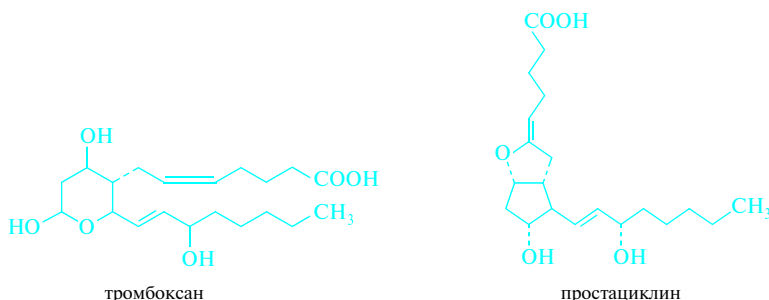


Биосинтез. Как уже отмечалось, предшественниками простагландинов являются ненасыщенные жирные кислоты, в частности арахидоновая кислота. Превращение жирных кислот в простагландины происходит в эндоплазматическом ретикулуме клеток различных тканей и органов. Из фосфоглицеринов под действием фосфолипазы A₂ освобождается арахидоновая кислота, которая

в зависимости от типа ферментативных реакций может превращаться либо в простагландины, либо в лейкотриены:



Эндоперекись является общим предшественником для простагландинов. В стенках сосудов из эндоперекисей образуются простагландины, а в тромбоцитах — тромбоксаны:



Метаболизм. Простагландины легко метаболизируют в организме. Установлено, что их превращения включают в себя следующие реакции.

- Окисление гидроксила в положении C_{15} . Эта реакция катализируется ферментом 15-дегидрогеназой, локализованной в эндоплазматическом ретикулуле. Наиболее активна 15-дегидрогеназа в почках, селезенке и легких. Интересно отметить, что в присутствии цАМФ активность фермента увеличивается в 2—3 раза.

- Восстановление двойной связи в положении C_{13} (Δ^{13}) под действием фермента Δ^{13} -редуктазы, также локализованной в эндоплазматическом ретикулуле.

- β -Окисление под действием ферментативного комплекса в митохондриях. Было установлено, что в результате происходит укорачивание боковой цепи с образованием C_{18} и C_{16} метаболитов.

- ω -Окисление в микросомах печени и образование 19-окси-ПГ.

- Восстановление кетогруппы в положении C_9 посредством 9-кеторедуктазы, локализованной в цитоплазме.

Биохимические функции. Простагландины действуют по мембрано-опосредованному механизму и индуцируют образование цАМФ преимущественно в жировых клетках, тромбоцитах или надпочечниках. Установлено, что ПГ—Е расслабляет мышечные волокна в бронхах, а ПГ—F, напротив, стимулирует их сокращение. Простагландины воздействуют на гипофиз, способст-

вуя секреции ряда гипофизарных гормонов, таких, как ЛГ, СТГ, ТТГ и АКТГ. Возможно, этот феномен обусловлен индукцией синтеза цАМФ простагландинами и последующей активацией механизмов секреции.

Простагландины оказывают выраженное влияние на надпочечники. Так, парантеральное введение ПГ—Е приводит к повышению содержания кортикостерона в крови и надпочечниках. Одновременно в этих же тканях снижается содержание холестерина и аскорбиновой кислоты. В данном случае имеет место как прямой эффект действия ПГ—Е на надпочечники, так и опосредованное действие через гипоталамус и гипофиз.

Простагландины способны имитировать ТТГ при воздействии на щитовидную железу. Это касается в основном ПГ—Е, который стимулирует связывание иода с белком, а также окисление глюкозы. Кроме того, под действием ТТГ происходит активация фосфолипазы A_2 и освобождение арахидоновой кислоты — предшественника простагландинов.

Простагландины влияют на сократительную активность матки. Эта особенность явилась основанием для создания на их основе препаратов, стимулирующих родовую деятельность.

Большое значение для реализации фармакологического эффекта имеет влияние простагландинов на транспорт Ca^{2+} , а следовательно, на активность многих Ca^{2+} -зависимых ферментов.

13.9. Гормоны желудочно-кишечного тракта (ЖКТ)

В ЖКТ образуется и секретируется ряд гормонов, стимулирующих процессы переваривания пищи. К ним относятся: секретин (первый гормон, открытый в начале XX столетия), гастрин, мотилин, панкреатический полипептид, энтероглюкагон и другие, всего около 12 гормонов.

Специальных эндокринных желез в ЖКТ нет, и клетки, синтезирующие гормоны, локализованы в различных его участках. Так, секретин синтезируется в двенадцатиперстной кишке, мотилин — в тонком кишечнике, панкреатический полипептид — в поджелудочной железе и т. д.

Большинство гормонов ЖКТ представлены в виде множественных молекулярных форм. Кроме того, их структура и в ряде случаев функции перекрываются, что послужило основанием для отнесения многих из них к двум семействам: семейству гастрина, к которому относятся гастрин и холецистокинины, и семейству секретина (секретин, эндоглюкагон, желудочный ингибиторный полипептид, вазоактивный кишечный пептид). Будучи пептидами, гормоны ЖКТ активируют аденилатциклазу и генерируют образование цАМФ. Кроме того, они влияют на внутриклеточное содержание Ca^{2+} .

Биохимические функции. Рассмотрим функции гормонов ЖКТ на некоторых примерах.

Гастрин синтезируется G-клетками слизистой желудка. Он гетерогенен, так как обнаружены три молекулярных формы этого гормона с различным числом аминокислотных остатков в полипептидной цепи (34, 17 и 14). Их первичная структура установлена, и получены синтетические аналоги. Например, первичная структура гастрина 17 выглядит следующим образом:

Гли-Гли-Про-Трп-Мет-Глу-Глу-Глу-Глу-Ала-Тир-Гли-Тре-Мет-Асп-Фен

Биологическая роль гастрина 17 заключается в стимуляции выделения HCl из эпителиальных клеток желудка. Гастрин также активирует секрецию пепсиногена в ответ на поступление в желудок пищи.

Секретин — пептид, состоящий из 27 аминокислот, синтезируется в двенадцатиперстной кишке. По мембрано-опосредованному механизму этот гормон воздействует на ацинарные клетки поджелудочной железы и стимулирует секрецию в кишечник проферментов трипсина, химотрипсина и прокарбоксипептидазы — неактивных предшественников кишечных эндопротезов.

Мотилин состоит из 22 остатков аминокислот. Он синтезируется в слизистой кишечника и стимулирует секрецию пепсиногена в желудке.

Глава 14

НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ.

ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ, СТРУКТУРА, ФУНКЦИИ

14.1. Общая характеристика

Нуклеиновые кислоты представляют собой высокомолекулярные линейные гетерополимеры с молекулярной массой от 250 до $1,2 \cdot 10^5$ kDa. Мономерными звеньями нуклеиновых кислот являются нуклеотиды — сложные органические молекулы, состоящие из азотистых оснований, остатка пентозы (рибозы или дезоксирибозы) и фосфорной кислоты. В зависимости от типа пентозы нуклеиновые кислоты подразделяются на дезоксирибонуклеиновые (ДНК) и рибонуклеиновые (РНК).

Само название нуклеиновые кислоты (от лат. *nucleus* — ядро) показывает, что открыты они были как составная часть клеточного ядра, в котором действительно присутствуют оба класса нуклеиновых кислот — ДНК и РНК. Основным местом локализации ДНК являются структуры клеточного ядра — хромосомы, в которых ДНК находится в виде комплексов с белками — дезоксирибонуклеотидов. ДНК ($\approx 1\%$ от общего количества) также обнаружена в митохондриях всех типов эукариотических клеток и в хлоропластах растительных клеток. В структуре ядерной ДНК заложена информация о видовых специфических признаках, которые определяют характер данной клетки и всего организма и передаются по наследству. В цитоплазме клеток имеются значительные количества РНК, участвующие в реализации генетической информации. Важными открытиями в изучении нуклеиновых кислот, удостоенными Нобелевской премии, явились установление пространственной структуры ДНК Дж. Уотсоном, Ф. Криком и М. Уилкинсом, ферментативный синтез в бесклеточной системе биологически активной ДНК, осуществленный А. Корнбергом и С. Очоа, блестящие исследования М. Ниренберга, Р. Холи и Х. Корана, послужившие предпосылкой для расшифровки генетического кода.

14.2. Химический состав нуклеиновых кислот

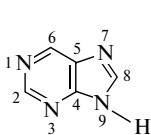
Нуклеиновые кислоты являются многоосновными кислотами, которые при мягком гидролизе щелочами распадаются на моноклеотиды. Моноклеотиды при нагревании до 145°C с водным аммиаком теряют остаток фос-

формной кислоты с образованием нуклеозидов. Нуклеозиды в условиях кислотного гидролиза распадаются на азотистые основания и сахара. Таким образом, при полном гидролизе нуклеиновых кислот образуются азотистые основания, моносахарид пентоза (рибоза или дезоксирибоза) и фосфорная кислота.

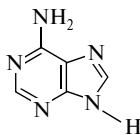
14.2.1. Азотистые основания

Азотистые основания, входящие в состав нуклеиновых кислот, являются производными ароматических гетероциклических соединений — пурина и пиримидина.

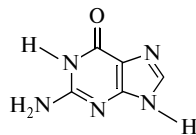
Среди *пуриновых* азотистых оснований в гидролизатах обоих классов нуклеиновых кислот (ДНК и РНК) преимущественно встречаются аденин и гуанин.



пурин



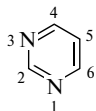
аденин (6-аминопурин)



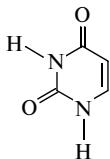
гуанин (2-амино-6-оксопурин)

Кроме перечисленных пуриновых оснований, в клетках обнаруживают гипоксантин (6-оксопурин) и ксантин (2,6-диоксопурин), которые образуются в результате дезаминирования аденина и гуанина и играют существенную роль в процессах обмена нуклеиновых кислот. Гипоксантин и ксантин в небольших количествах найдены в составе некоторых РНК.

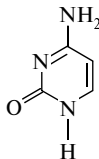
Среди *пиримидиновых* оснований основное значение имеют цитозин (входит в состав ДНК и РНК), урацил (входит в состав РНК) и тимин (входит в состав ДНК):



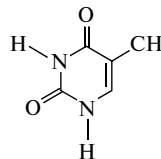
пиримидин



урацил
(2,4-диоксопиримидин)



цитозин (2-оксо-4-аминопиримидин)



тимин (2,4-диоксо-5-метилпиримидин)

Кроме перечисленных оснований, в нуклеиновых кислотах в небольших количествах встречаются минорные основания.

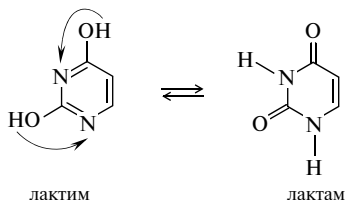
Особенно много минорных компонентов содержится в транспортных РНК: дигидроурацил, псевдоуридин, ксантин, гипоксантин, ацетилцитозин, оротовая кислота и др.

В состав ДНК в незначительных количествах входят 5-метилцитозин и 6-метиладенин. Метилирование оснований происходит уже после репликации ДНК. Эти метилированные основания защищают «свой» ДНК от расщепления ферментами — ДНК-азами.

Необычные основания выделены из матричных РНК — 7-метилгуанозин, 1-метил-2-амино-6-оксопурин, 6-диметиламинопурин, обнаруженный также в природном нуклеозиде пурумине.

14.2.2. Таутомерия и некоторые другие физико-химические свойства оснований

Перечисленные пуриновые и пиримидиновые основания содержат сопряженную систему кратных связей и заместители (группы $-\text{OH}$ и $-\text{NH}_2$). Указанные структурные особенности обуславливают способность пуриновых и пиримидиновых оснований к различным типам таутомерных превращений: лактам-лактимному для оксипроизводных и амин-иминному для аминопроизводных. На примере урацила таутомерные превращения урацила можно представить в следующем виде:



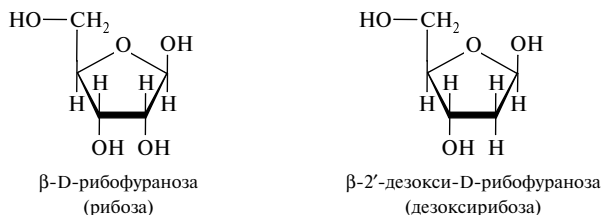
В случае дизамещенных пуринов и пиримидинов теоретическое количество изомерных форм увеличивается, однако практически существуют лишь некоторые из них. По данным ИК- и ЯМР-спектроскопии показано, что в нуклеиновых кислотах пуриновые и пиримидиновые основания преимущественно находятся в лактамной и аминной формах; это обеспечивает правильность спаривания нуклеотидов в ходе матричных синтезов нуклеиновых кислот. Однако под влиянием внешних факторов, например воздействия излучений, возможен переход оснований в другие таутомерные формы, лежащий в основе мутагенеза.

Рентгеноструктурный анализ трехмерной структуры различных пуриновых и пиримидиновых оснований показал, что молекулы пиримидинов имеют абсолютно плоское строение, а молекулы пуринов — почти плоское.

Азотистые основания поглощают свет в ультрафиолетовой области спектра с максимумом около 260 нм. Поглощение в ультрафиолетовой области используется для количественного определения нуклеиновых кислот.

14.2.3. Углеводные компоненты

Углеводная часть нуклеотидов, входящих в РНК, представлена рибозой, а входящих в ДНК, — дезоксирибозой. Пентозы в нуклеиновых кислотах всегда присутствуют в β -D-фуранозной форме:

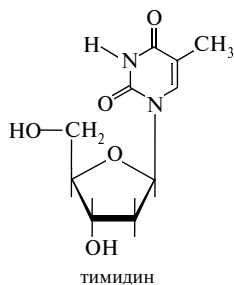
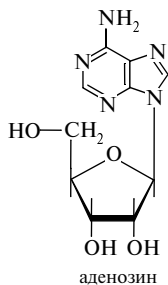


Углеродные атомы пентоз в нуклеотидах нумеруются со знаком «штрих», чтобы их можно было отличить от атомов азотистых оснований.

Доказано, что замена у дезоксирибозы при C-2' группы OH на протон упрочняет связь между C-2' и C-3'. Это, в свою очередь, увеличивает прочность молекулы ДНК и способствует компактности ее пространственной структуры.

14.2.4. Нуклеозиды

Соединения азотистых оснований с пентозой называют *нуклеозидами*. Нуклеозиды, выделяемые из нуклеиновых кислот, представляют собой *N*-гликозиды. Нуклеозиды, содержащие в качестве углеводной части D-рибозу, называют *рибонуклеозидами*, а содержащие 2-дезоксид-рибозу — *дезоксирибонуклеозидами*. Методами периодатного окисления, спектрального и рентгеноструктурного анализа доказано, что природные нуклеозиды образуются при участии N_1 -пиримидиновых оснований, N_9 -пуриновых оснований и имеют β -конфигурацию гликозидной связи. В качестве примера приведены структуры нуклеозидов:



Название нуклеозида производят от названия входящего в его состав гетероциклического основания (табл. 14.1).

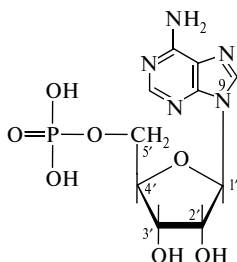
Таблица 14.1. Полные и сокращенные обозначения нуклеозидов

| Основание | Рибонуклеозид | Сокращение | Дезоксирибонуклеозид | Сокращение |
|-----------|---------------|------------|----------------------|------------|
| Аденин | Аденозин | А | Дезоксиаденозин | dA |
| Гуанин | Гуанозин | Г | Дезоксигуанозин | dГ |
| Цитозин | Цитидин | Ц | Дезоксицитидин | dЦ |
| Тимин | Риботимидин | Т | Тимидин | dТ |
| Урацил | Уридин | У | | |

14.2.5. Нуклеотиды

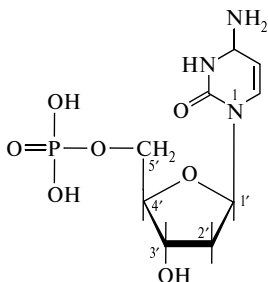
Нуклеотиды — мономерные звенья нуклеиновых кислот — представляют собой монофосфорные эфиры нуклеозидов. Кислотный гидролиз мононуклеотидов, приводящий к образованию гетероциклических оснований и фосфатов углеводов, свидетельствует о том, что остаток фосфорной кислоты присоединен к углеводу.

У рибонуклеотидов остаток фосфорной кислоты может находиться в положениях 2', 3' и 5':



АМФ (аденозин-5'-монофосфат)

В случае дезоксирибонуклеотидов остаток фосфорной кислоты может находиться только в положениях 3' и 5':



Основными фрагментами, полученными из РНК и ДНК, являются следующие мононуклеотиды.

Мононуклеотиды РНК: аденозин-3'- и 5'-фосфаты (адениловые кислоты), гуанозин-3'- и 5'-фосфаты (гуаниловые кислоты), цитидин-3'- и 5'-фосфаты (цитидиловые кислоты), уридин-3'- и 5'-фосфаты (уридиловые кислоты).

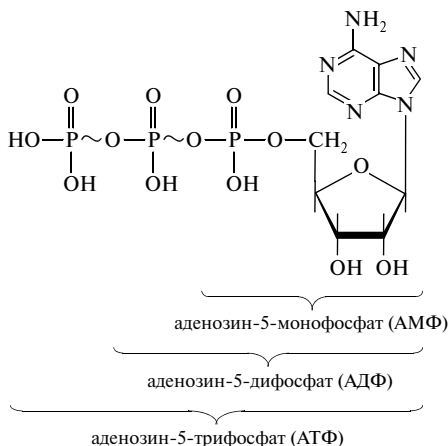
Мононуклеотиды ДНК: 2'-дезоксиаденозин-3'- и 5'-фосфаты (дезоксиадениловые кислоты); 2'-дезоксигуанозин-3'- и 5'-фосфаты (дезоксигуаниловые кислоты); 2'-дезоксицитидин-3'- и 5'-фосфаты (дезоксицитидиловые кислоты); 2'-дезокситимидин-3'- и 5'-фосфаты (тимидиловые кислоты).

Исходя из принятого сокращенного обозначения нуклеозидов (А, Г, Ц, Т, У), монофосфаты принято обозначать АМФ, ГМФ, dАМФ и т. д., если фосфат присоединен к углероду 5'-рибозы или дезоксирибозы. Соответствующие монофосфаты с фосфатной группой, присоединенной к третьему атому углерода, обозначаются А-3'-МФ, dА-3'-МФ.

14.3. Природные нуклеотиды, структура, функции

14.3.1. Макроэргические нуклеотидтрифосфаты

Помимо нуклеотидмонофосфатов, в живых организмах встречаются нуклеотидифосфаты и нуклеотидтрифосфаты:

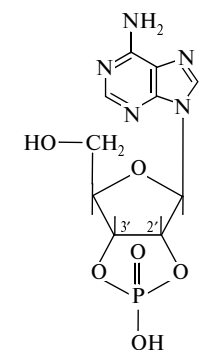


В молекулах нуклеотиддифосфатов и нуклеотидтрифосфатов остатки фосфорной кислоты соединены ангидридной связью, обладающей большим запасом потенциальной энергии. Такие связи называют *макроэргическими*. Макроэргические рибонуклеотидтрифосфаты и дезоксирибонуклетидтрифосфаты являются исходными субстратами для синтеза РНК и ДНК.

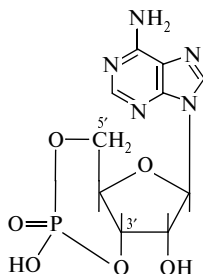
АДФ и АТФ занимают центральную роль в энергообмене всех типов клеток, являясь субстратами и продуктами реакций окислительного, субстратного и фотосинтетического фосфорилирования. Энергия, высвобождающаяся при гидролизе АТФ, обеспечивает выполнение всех видов биологической работы. ГТФ энергетически обеспечивает процессы трансляции белков, УТФ необходим для синтеза гликогена, ЦТФ участвует в синтезе глицерофосфолипидов.

14.3.2. Циклические нуклеотиды

Циклические нуклеотиды 3',5'-аденозинмонофосфат (цАМФ) и 3',5'-гуанозинмонофосфат (цГМФ) являются внутриклеточными посредниками различных внеклеточных сигналов (гормонов, нейромедиаторов и т. д.). Они образуются под действием ферментов (циклаз), активность которых регулируется различными эффекторами, в том числе и гормонами, и осуществляют регуляцию внутриклеточного метаболизма. Существующие также циклические соединения 2',3'-АМФ и 2',3'-ГМФ являются промежуточными продуктами распада нуклеиновых кислот и не имеют самостоятельного функционального значения:



циклический 2',3'-АМФ



циклический 3',5'-АМФ

14.3.3. Нуклеотиды в составе коферментов

Многие коферменты и родственные им соединения являются производными аденозинмонофосфата: никотинамидадениндинуклеотид (НАД⁺), никотинамиднуклеотидфосфат (НАДФ⁺), флавинадениндинуклеотид (ФАД), 3'-фосфоаденозин-5'-фосфосульфат (ФАФС), S-аденозилметионин, КоА и др.

14.3.4. Синтетические аналоги нуклеотидов, области их применения

Синтетические аналоги пуриновых и пиримидиновых оснований, нуклеозидов, нуклеотидов находят широкое применение в молекулярной биологии, фармации и медицине. Их использование связано в первую очередь со структурной ролью нуклеотидов как предшественников синтеза нуклеиновых кислот.

Синтетические аналоги пуриновых и пиримидиновых оснований и их нуклеозиды (6-меркаптопурин, 6-метилмеркаптопурин-рибозид, 6-тиогуанин, 8-азогуанин, 5-азоцитидин, 5-фторурацил, фторофур и др.) являются одной из эффективных групп лекарственных препаратов в онкологии. При введении их в организм онкологических больных эти соединения либо ингибируют определенные ферменты, необходимые для синтеза нуклеиновых кислот, либо искажают структуру ДНК при встраивании аналога, что обуславливает цитотоксический эффект.

Многие аналоги нуклеозидов (5-иоддезоксиринидин, арабинозилцитозин и др.) зарекомендовали себя как противовирусные препараты.

14.4. Структура нуклеиновых кислот

Молекулы нуклеиновых кислот всех типов живых организмов — это длинные неразветвленные полимеры мононуклеотидов. Роль мостика между нуклеотидами выполняет 3',5'-фосфодиэфирная связь, соединяющая 5'-фосфат одного нуклеотида и 3'-гидроксил остаток рибозы (или дезоксирибозы) следующего. В связи с этим полинуклеотидная цепь оказывается полярной. На одном ее конце остается свободной 5'-О- Φ_n -группа, на другом 3'-ОН-группа.

Для записи структуры нуклеиновой кислоты или ее фрагмента широко используют сокращенную символику (рис. 14.1).

14.4.1. Структура и функции дезоксирибонуклеиновых кислот

ДНК, подобно белкам, имеет первичную, вторичную и третичную структуры.

Первичная структура ДНК. Данная структура определяет закодированную в ней информацию, представляя собой последовательность чередования дезоксирибонуклеотидов в полинуклеотидной цепи. Хотя ДНК содержит всего четыре типа мономерных звеньев, количество возможных нуклеотид-

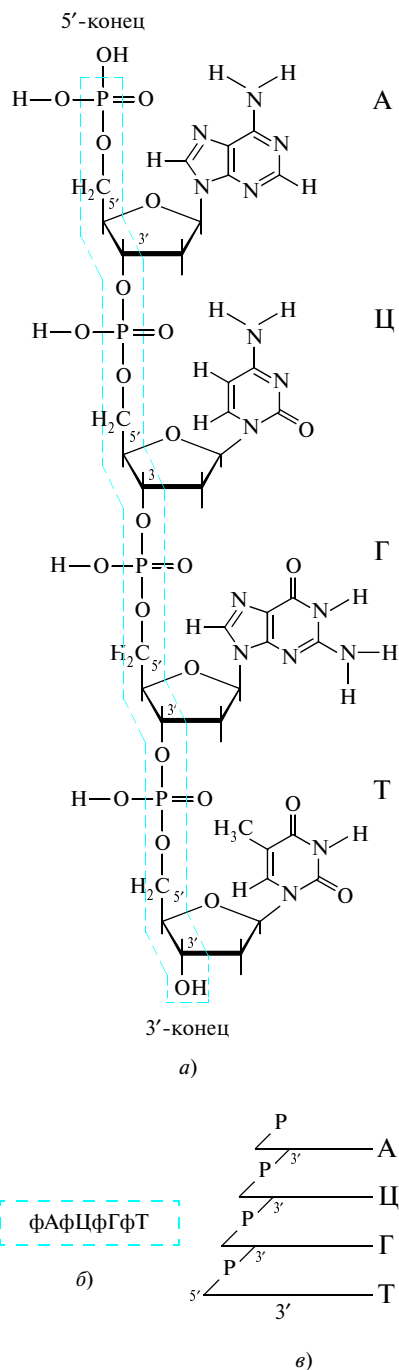


Рис. 14.1. Схема соединения нуклеотидов в полинуклеотидную цепь: а — полная форма записи; б — сокращенная форма записи с использованием однобуквенной символики; в — схематическая

ных последовательностей превосходит таковое для белков вследствие существенно большей длины полинуклеотидных цепей.

Определение первичной структуры ДНК долгие годы оставалось неразрешимой задачей. В 70-х гг. XX в. с открытием ферментов рестриктаз, «разрезающих» молекулы ДНК в строго определенных точках, А. Максамом и В. Гилбертом был разработан метод секвенирования, позволяющий определять последовательности до 1000 нуклеотидов. В 1985 г. удалось создать прибор для автоматического анализа нуклеиновых кислот. В последнее десятилетие в этой области наметился существенный прогресс, в результате чего определена последовательность не только отдельных генов, но и целых хромосом у разных видов живых организмов, в том числе и человека. Все данные по структуре генов, публикующиеся в мировой научной литературе, вводятся в память компьютера, формируя банк данных.

В результате проведенных исследований было установлено, что в молекулах ДНК бактериофагов почти все последовательности нуклеотидов уникальны, т. е. встречаются один раз. В ДНК бактерий большинство генов также уникальны, но некоторые последовательности (кодирующие транспортные и рибосомные РНК) повторяются по нескольку раз. В геноме эукариотов уникальные последовательности нуклеотидов, т. е. структурные гены, несущие информацию о структуре специфических белков, составляют около 60% ДНК. Остальную часть ДНК составляют повторяющиеся последовательности. От 10 до 25% генома животных представлено умеренно повторяющимися последовательностями. Они являются структурными генами продуктов, необходимых клетке в больших количествах. Это гены рибосомных и транспортных РНК, белков гистонов, отдельных цепей иммуноглобулинов. Они, как правило, расположены в ДНК в виде tandemных повторов, т. е. друг за другом, один ген отделяется от другого спейсером (от англ. *spacer* — промежуток). В группу умеренно повторяющихся последовательностей входят также участки ДНК, выполняющие регуляторные функции. Кроме того, в ДНК эукариот встречаются часто повторяющиеся последовательности (10^5 — 10^6 раз). В основном это сателлитная ДНК, обнаруживаемая в центромерных областях хромосом, участвующая, по-видимому, в спаривании и расхождении хромосом.

Несмотря на различия в первичной структуре ДНК, в суммарном нуклеотидном составе всех типов ДНК имеются общие закономерности, установленные Е. Чаргаффом, которые подтверждены огромным фактическим материалом, сыгравшим важную роль в формировании представления о вторичной структуре ДНК.

Закономерности Чаргаффа сводятся к следующему:

- молярное соотношение аденина к тимину равно 1 ($A = T$, или $A/T = 1$);
- молярное соотношение гуанина к цитозину равно 1 ($G \equiv C$, или $G/C \equiv 1$);
- сумма пуриновых нуклеотидов равна сумме пиримидиновых нуклеотидов;
- в ДНК из разных источников отношение $G + C/A + T$, называемое коэффициентом специфичности, неодинаково.

В ДНК некоторых видов преобладает суммарное количество аденина и тимина, это так называемые АТ-тип ДНК. АТ-тип преобладает у всех позвоночных и беспозвоночных животных и высших растений. ГЦ-тип (с суммарным преобладанием гуанина и цитозина) встречается у микроорганизмов, хотя не-

которые из них могут иметь и АТ-тип. В связи с этим Е. Чаргафф выдвинул положение о видовой специфичности ДНК по нуклеотидному составу. Нуклеотидный состав ДНК бактерий в настоящее время используют как один из таксономических признаков.

Вторичная структура ДНК. В соответствии с моделью, предложенной в 1953 г. Дж. Уотсоном и Ф. Криком, она представляет собой двухцепочечную правозакрученную спираль из комплементарных друг другу антипараллельных полинуклеотидных нитей.

Для вторичной структуры ДНК решающим являются две особенности строения азотистых оснований нуклеотидов. Первая заключается в наличии групп, способных образовывать водородные связи. Так, между А и Т могут образовываться две, а между Г и Ц — три водородные связи. Эти азотистые основания называются *комплементарными*. Вторая особенность заключается в том, что пары комплементарных оснований А—Т и Г—Ц оказываются одинаковыми не только по размеру, но и по форме (рис. 14.2).

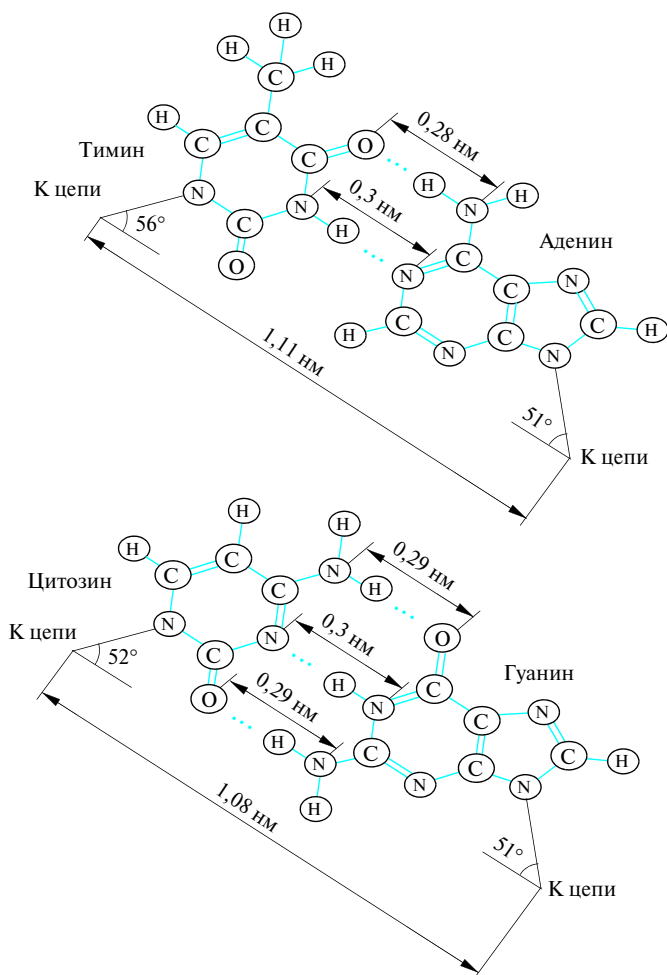


Рис. 14.2. Пары оснований, связанные водородными связями: для А—Т- и Г—Ц-пар межатомные расстояния и углы приблизительно одинаковы

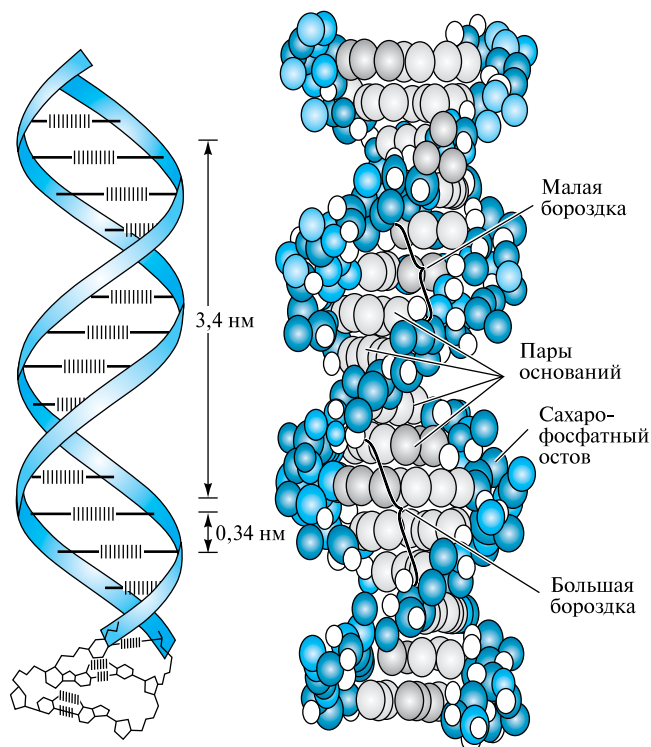


Рис. 14.3. Двойная спираль ДНК

Благодаря способности нуклеотидов к спариванию, образуется жесткая, хорошо стабилизированная двухцепочечная структура, обладающая следующими свойствами (рис. 14.3).

- Сахарофосфатные остовы двух цепей образуют правозакрученную спираль с общей осью и диаметром 0,2 нм. В спирали существуют две бороздки — большая и малая. На каждый виток спирали приходится 10 пар оснований.
- Сахарофосфатные остовы двух полинуклеотидных цепей, расположенные снаружи, связаны между собой водородными связями между отходящими от них вовнутрь азотистыми основаниями. Плоскости оснований перпендикулярны оси спирали и отстоят друг от друга на 0,34 нм.
- Гидрофобные взаимодействия между плоскостями ароматических колец оснований стабилизируют структуру, преодолевая силы электростатического отталкивания между отрицательно заряженными фосфатными группами.
- Две цепи антипараллельны, т. е. по своему химическому строению они ориентированы в противоположных направлениях. Антипараллельная направленность имеет важное биологическое значение при репликации и транскрипции ДНК.

На основе тщательного анализа рентгенограмм выделенных ДНК установлено, что двойная спираль ДНК может существовать в виде нескольких форм (А, В, С, Z и др.). Указанные формы ДНК различаются диаметром и шагом

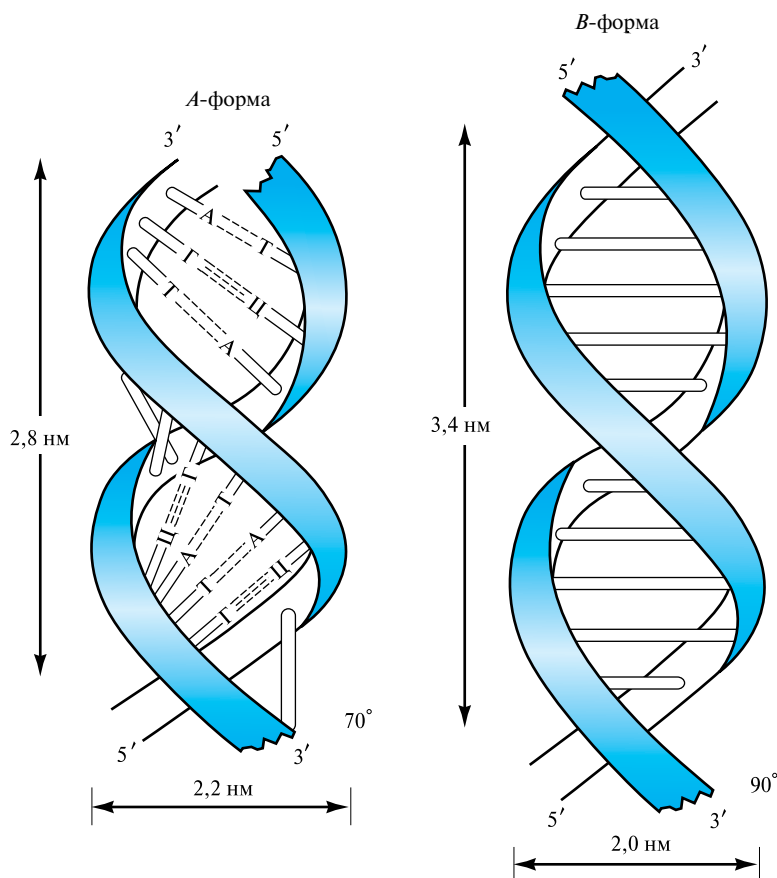


Рис. 14.4. Схема А- и В-форм двойной спирали

спирали, числом пар оснований в витке, углом наклона плоскости оснований по отношению к оси молекулы (рис. 14.4).

В форме В, описанной моделью Дж. Уотсона и Ф. Крика, на один виток спирали приходится 10 пар оснований, шаг спирали 3,4 нм, диаметр 1,8 нм, угол наклона к оси 0° . Форма В, по-видимому, благоприятна для процесса репликации. В форме А на один виток приходится 11 пар оснований, шаг спирали 2,8 нм, угол наклона на плоскости оснований к оси составляет 20° . Форма А является предпочтительной для процессов транскрипции. Форма С, выявленная у ряда вирусов и в составе надмолекулярных структур хроматина, имеет 9,3 пары оснований в витке с углом наклона 5° .

Z-Форма ДНК — наименее скрученная (12 пар оснований на виток). Она представляет собой левозакрученную двойную спираль, в которой фосфоэфирный остов расположен зигзагообразно вдоль оси. Z-Форма обладает только одной бороздкой. Как известно, в бороздках ДНК регуляторные белки могут специфически взаимодействовать с определенными атомами нуклеиновых оснований, т. е. «узнавать» конкретные нуклеотидные последовательности без нарушения комплементарных взаимодействий в структуре двойной спирали. Тем самым регуляторные белки могут осуществлять контроль экспрессии ге-

нов. Некоторые белки, связывающиеся в большой или малой бороздках формы, вероятно, не способны связываться с *Z*-формой. В связи с этим *Z*-форма, возникающая, как правило, при высоких концентрациях солей, спермина, спермидина, при метилировании остатков дезоксицитидина, при высоком содержании отрицательных супер витков в молекуле ДНК, может участвовать в регуляции экспрессии генов.

Описанные формы ДНК способны к взаимно обратимым переходам в зависимости от условий среды.

Третичная структура ДНК. У всех живых организмов двухспиральные молекулы ДНК плотно упакованы с образованием сложных трехмерных структур.

Двухцепочечные ДНК прокариот, имеющие кольцевую ковалентно-замкнутую форму, образуют левые (–) суперспирали. Суперспирализация прежде всего необходима для «упаковки» громадной молекулы ДНК в малом объеме клетки. Например, ДНК *E. coli* имеет длину более 1 мм, в то время как длина клетки не превышает 5 мкм. Помимо этого, суперспирализация ДНК, облегчающая ее расплетение, обеспечивает начало репликации и транскрипции (рис. 14.5).

Третичная структура ДНК эукариотических клеток также образуется путем суперспирализации, но не свободной ДНК, а ее комплексов с белками хромосом.

Ядерный хроматин содержит ДНК, гистоновые и негистоновые белки, большое количество РНК. В пространственной организации хромосом можно выделить несколько уровней. Первый уровень — нуклеосомный. Нуклеосомная нить образуется при взаимодействии ДНК с белками-гистонами. Гистоны представляют собой простые белки с молекулярной массой 14–20 kDa, в аминокислотном составе которых преобладают аргинин и лизин, глицин и цистеин. Преобладание лизина и аргинина придает гистонам щелочной характер и обеспечивает их способность взаимодействовать с кислотными группами ДНК. Во всех типах эукариотических клеток обнаружено 5 классов гистонов

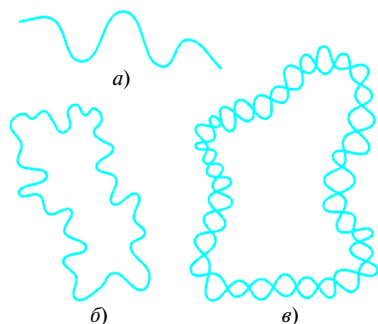


Рис. 14.5. Третичная структура ДНК прокариот:

a — линейная одноцепочечная ДНК — бактериофаг $\phi \times 174$ и другие вирусы; *б* — кольцевая одноцепочечная ДНК вирусов и митохондрий; *в* — кольцевая двойная спираль ДНК

(Н1, Н2, Н3, Н4, Н5), различающихся по содержанию (%) основных аминокислот, обуславливающему их физико-химические свойства (электрофоретическую подвижность, ИЭТ и др.). Гистоны являются эволюционно консервативными белками. Степень гомологии аминокислотных последовательностей гистонов Н2, Н3, Н4, Н5 у разных видов животных, растений и грибов достаточно высока. Эти гистоны попарно образуют октамеры (белковые коры дисковидной формы, которые оплетаются молекулой ДНК). Участок ДНК, спирально оплетающий октаметр, содержит в среднем 145–150 нуклеотидных пар и формирует примерно 1,75 витка левой спирали. Свободные от контакта с белковыми корами участки ДНК называют линкерными (или связующими). Их длина варьирует в за-

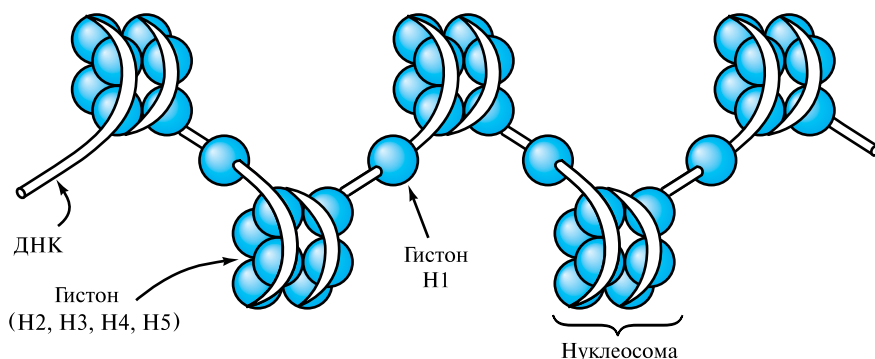


Рис. 14.6. Третичная структура ДНК эукариот

висимости от типа клеток (от 15 до 100 нм). Линкерные участки ДНК либо свободны, либо связаны с гистонем Н1, который способствует компактизации нуклеосомной нити и может препятствовать транскрипции ряда генов. Гистоны в клетках подвергаются ковалентной модификации путем фосфорилирования, ацетилирования, метилирования и др. Это приводит к изменению их способности взаимодействовать с ДНК, что является одним из механизмов регуляции транскрипции генов.

В результате нуклеосомной организации хроматина двойная спираль ДНК диаметром 2 нм приобретает диаметр 10—11 нм и укорачивается примерно в 7 раз.

Вторым уровнем пространственной организации хромосом является образование из нуклеосомной нити хроматиновой фибриллы диаметром 20—30 нм, что обеспечивает уменьшение линейных размеров ДНК еще в 6—7 раз. Наиболее вероятной считается соленоидная модель упаковки в хроматиновой фибрилле.

Третичный уровень организации хромосом обусловлен укладкой хроматиновой фибриллы в петли. В образовании петель принимают участие негистоновые белки, узнающие специфические нуклеотидные последовательности в ненуклеосомной ДНК и фиксирующие образование петель. Участок ДНК, соответствующий одной петле, содержит от 20 000 до 80 000 пар нуклеотидов и, вероятно, представляет домен ДНК, соответствующий единице транскрипции. В результате такой упаковки линейные размеры ДНК уменьшаются примерно в 200 раз. Петлеобразная доменная организация ДНК, называемая интерфазной хромонемой, может подвергаться дальнейшей компактизации, степень которой меняется в зависимости от фазы клеточного цикла (рис. 14.6).

Физико-химические свойства ДНК. Различные факторы, нарушающие водородные связи (повышение температуры выше 80 °С, изменение рН и ионной силы, действие мочевины и др.), вызывают денатурацию ДНК, т. е. изменение пространственного расположения цепей ДНК без разрыва ковалентных связей. Двойная спираль ДНК при денатурации полностью или частично разделяется на составляющие ее цепи. Денатурация ДНК сопровождается усилением оптического поглощения в УФ-области пуриновых и пиримидиновых оснований. Это явление называют *гиперхромным* эффектом. При денатурации

уменьшается также высокая вязкость, присущая растворам нативной ДНК. При восстановлении первоначальной двухспиральной структуры ДНК, в результате ренатурации, поглощение при 260 нм азотистыми основаниями вследствие их «экранированности» уменьшается. Это явление называют *гипохромным* эффектом.

«Расплетение» каждой ДНК на составляющие ее цепи осуществляется в пределах определенного интервала температур. Средняя точка этого интервала называется температурой плавления. Температура плавления ДНК зависит в стандартных условиях (определенная рН и ионная сила) от соотношения азотистых оснований. Г—Ц-пары, содержащие три водородные связи, более прочные, поэтому чем больше в ДНК содержание Г—Ц-пар, тем выше температура плавления.

Функции ДНК. В последовательности нуклеотидов в молекулах ДНК закодирована генетическая информация. Основными функциями ДНК являются, во-первых, обеспечение воспроизводства самой себя в ряду клеточных поколений и поколений организмов, во-вторых, обеспечение синтеза белков. Эти функции ДНК обусловлены тем, что молекулы ДНК служат матрицей в первом случае для репликации, т. е. копирования информации в дочерних молекулах ДНК, во втором — для транскрипции, т. е. для перекодирования информации в структуру РНК.

14.4.2. Структура и функции рибонуклеиновых кислот

Содержащиеся в клетке РНК различаются составом, размером, функциями и локализацией.

В цитоплазме клеток содержатся три основных функциональных вида РНК. Это *матричные* РНК (мРНК), выполняющие функции матриц белкового синтеза, *рибосомные* РНК (рРНК), выполняющие роль структурных компонентов рибосом, и *транспортные* РНК (тРНК), участвующие в трансляции (переводе) информации мРНК в последовательность аминокислот в белке.

В ядре клеток обнаруживают ядерную РНК, составляющую от 4 до 10% от суммарной клеточной РНК. Основная масса ядерной РНК представлена высокомолекулярными предшественниками рибосомных и транспортных РНК. Предшественники высокомолекулярных рРНК (28 S, 18 S и 5 S РНК) в основном локализуются в ядрышке. От 2 до 10% от суммарной ядерной РНК приходится на особую фракцию гетерогенной ядерной РНК (г-яРНК), молекулы которой являются предшественниками мРНК.

Важным функциональным типом ядерной РНК являются *малые ядерные* РНК (м-яРНК), содержащие от 90 до 300 нуклеотидов с уникальной нуклеотидной последовательностью, комплементарной последовательностью сайтов сплайсинга. Благодаря этому м-яРНК регулирует созревание (процессинг) г-яРНК в зрелые мРНК.

РНК является основным генетическим материалом у некоторых вирусов животных и растений (геномные РНК). Для большинства РНК вирусов характерна обратная транскрипция их РНК генома, направляемая обратной транскриптазой.

Все рибонуклеиновые кислоты представляют собой полимеры рибонуклеотидов, соединенных, как в молекуле ДНК, 3',5'-фосфорнодиэфирными связями. В отличие от ДНК, имеющей двухцепочечную структуру, РНК представляет собой одноцепочечные линейные полимерные молекулы.

К настоящему времени удалось определить первичную структуру большинства тРНК, рРНК, мРНК и м-яРНК из разных видов живых организмов и выявить основные закономерности их структурной организации.

Структурная организация мРНК. мРНК — наиболее гетерогенный в отношении размеров и стабильности класс РНК. Содержание мРНК в клетках составляет 2—6% от тотального количества РНК. мРНК, особенно эукариотические, обладают некоторыми специфическими структурными особенностями. мРНК состоят из участков — *цистронов*, определяющих последовательность аминокислот в кодируемых ими белках, и *нетранслируемых областей* на концах молекулы. Для цистронных областей характерна уникальная последовательность нуклеотидов, определяемая нуклеотидной последовательностью гена, нетранслируемые области имеют некоторые общие закономерности нуклеотидного состава строения. Так, на 5'-конце всех эукариотических мРНК имеется особая структура, называемая *кэпом* (от англ. *cap* — колпачок). Кэп представляет собой 7-метилгуанозинтрифосфат, присоединенный к 5'-гидроксилу концевому, как правило, 2-*о*-метилрибонуклеозида через остаток трифосфата. Образование кэпа происходит ферментативным путем в ядре еще до завершения транскрипции. Считается, что кэп, с одной стороны, предохраняет 5'-конец мРНК от ее расщепления 5'-экзонуклеазами, с другой стороны, используется для специфического узнавания в системе трансляции. За кэпом следует прецистронный нетранслируемый участок, в котором (от 3—15 нуклеотидов до иницирующего кодона) располагается последовательность нуклеотидов, комплементарная последовательности рРНК. Ее роль — обеспечение правильного взаимодействия 5'-конца с рибосомой. Завершается цистрон терминирующим кодоном, за которым следует постцистронный нетранслируемый участок, имеющий в своем составе характерный для многих видов гексануклеотид ААУААА. У большинства мРНК 3'-конец содержит полиаденилатную цепочку из 20—250 адениловых нуклеотидов, не являющуюся результатом транскрипции, а присоединяющуюся к мРНК в ходе созревания в ядре ферментативным путем. Предполагается, что полиаденилатная последовательность отвечает за поддержание внутриклеточной стабильности мРНК, определяет ее время существования.

мРНК обладают сложной вторичной структурой, обеспечивающей выполнение ими матричной функции в ходе трансляции. Показано, что в целом в линейной молекуле мРНК формируется несколько двухспиральных шпилек, на концах которых располагаются «знаки» инициации и терминации трансляции.

Структурная организация тРНК. Транспортные РНК выполняют функции посредников (адаптеров) в ходе трансляции мРНК. Каждой из 20 протеиногенных аминокислот соответствует своя тРНК. Для некоторых аминокислот, кодируемых двумя и более кодонами, существуют несколько тРНК.

тРНК представляют собой сравнительно небольшие одноцепочечные молекулы, состоящие из 70—93 нуклеотидов. Их молекулярная масса составляет

$(2,4-3,1) \cdot 10^4$ kDa. На долю тРНК приходится примерно 15% суммарной клеточной РНК.

К настоящему времени установлена нуклеотидная последовательность почти для 300 тРНК, выделенных из разных видов организмов и обладающих разной аминокислотной специфичностью. Несмотря на различия в нуклеотидной последовательности, все тРНК имеют много общих черт. Во всех тРНК восемь или более нуклеотидов содержат различные минорные модифицированные основания (всего около 60), многие из которых представляют собой метилированные пуриновые или пиримидиновые основания. Обязательными минорными компонентами для всех тРНК являются дигидроуридин и псевдоуридин. В большинстве тРНК на 5'-конце находится остаток гуаниловой кислоты, а на 3'-конце всех тРНК, называемом акцепторным, обязательным является тринуклеотид-Ц-Ц-А (3').

Вторичная структура тРНК формируется за счет образования максимального числа водородных связей между внутримолекулярными комплементарными парами азотистых оснований. В результате образования этих связей полинуклеотидная цепь тРНК закручивается с образованием спирализованных ветвей, заканчивающихся петлями из неспаренных нуклеотидов. Пространственное изображение вторичных структур всех тРНК имеет форму клеверного листа (рис. 14.7).

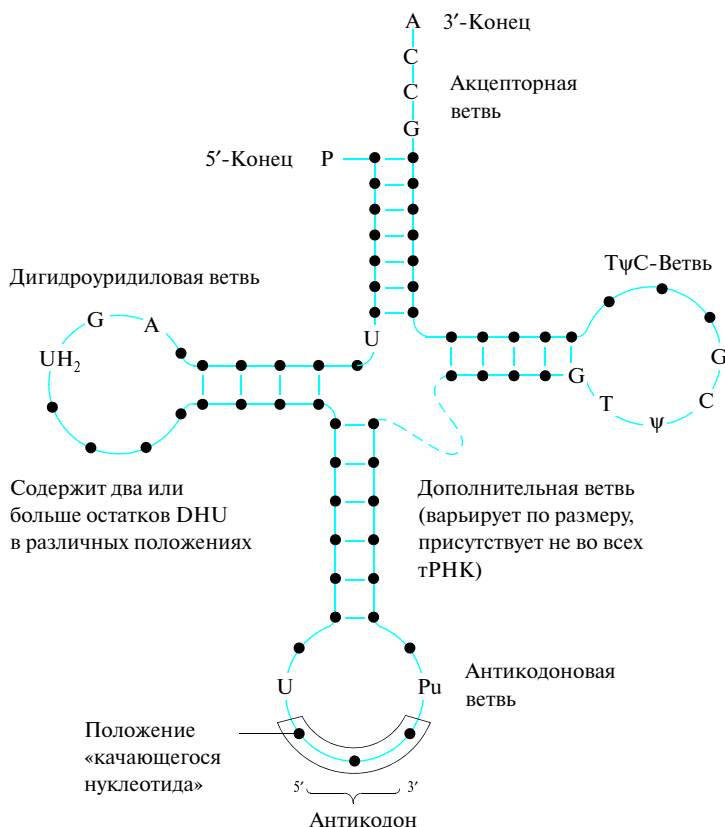


Рис. 14.7. Вторичная структура тРНК

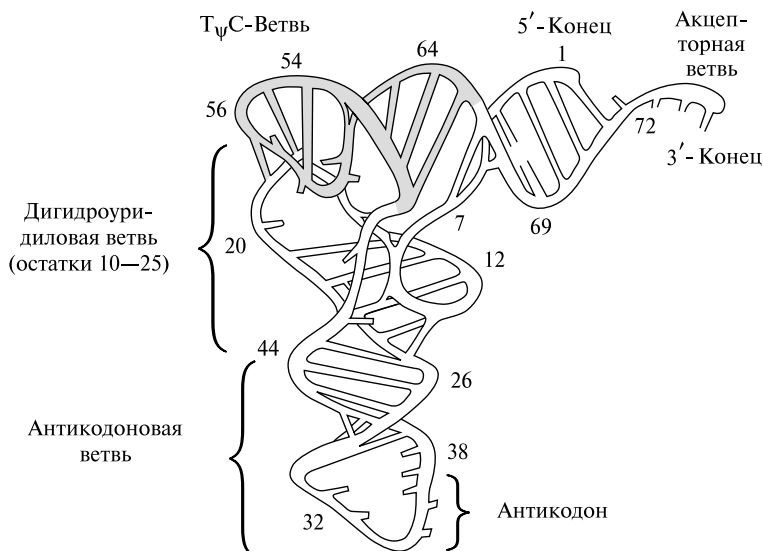


Рис. 14.8. Третичная структура тРНК (по А. С. Спирину)

В «клеверном листе» различают четыре обязательные ветви, более длинные тРНК, кроме того, содержат короткую пятую (дополнительную) ветвь.

Адапторную функцию тРНК обеспечивают *акцепторная* ветвь, к 3'-концу которой присоединяется эфирной связью аминокислотный остаток, и противостоящая акцепторной ветви *антикодonoная* ветвь, на вершине которой находится петля, содержащая *антикодон*. Антикодон представляет собой специфический триплет нуклеотидов, который комплементарен в антипараллельном направлении кодону мРНК, кодирующему соответствующую аминокислоту.

T-Ветвь, несущая петлю псевдоуридина (ТψС-петлю), обеспечивает взаимодействие тРНК с рибосомами. *Д-ветвь*, несущая дегидроуридиновую петлю, вероятнее всего обеспечивает взаимодействие тРНК с соответствующей аминоацил-тРНК-синтетазой. Функции пятой дополнительной ветви пока мало исследованы, вероятнее всего она уравнивает длину разных молекул тРНК.

Третичная структура тРНК очень компактна и образуется путем сближения отдельных ветвей клеверного листа за счет дополнительных водородных связей и стэкинг-взаимодействий с образованием L-образной структуры «локтевого сгиба» (рис. 14.8). При этом акцепторное плечо, связывающее аминокислоту, оказывается расположенным на одном конце молекулы, а антикодон — на другом. Третичные структуры всех тРНК настолько похожи, что смесь различных тРНК образует кристаллы. В то же время имеющиеся в пространственной структуре незначительные отличия обеспечивают специфическое узнавание тРНК соответствующими аминоацил-тРНК-синтетазами.

Структура рибосомных РНК и рибосом. Рибосомные РНК формируют ту основу, с которой связываются специфические белки при образовании рибосом. Рибосомы — это нуклеопротеиновые органеллы, обеспечивающие синтез

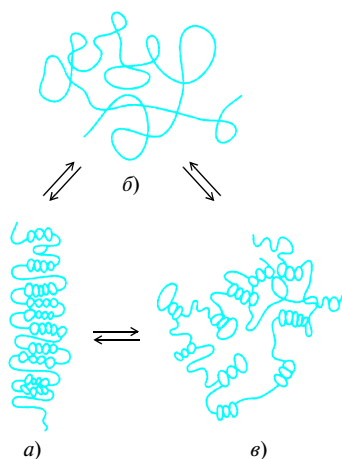


Рис. 14.9. Третичная структура рибосомной РНК в растворе в зависимости от ионной силы, температуры и pH среды (по А. С. Спирину):

- а* — компактная палочка;
- б* — развернутая цепь;
- в* — компактный клубок

белка на мРНК-матрице. Число рибосом в клетке очень велико: от 10^4 у прокариот до 10^6 у эукариот. Локализуются рибосомы главным образом в цитоплазме, у эукариот, кроме того, в ядрышке, в матриксе митохондрий и стромах хлоропластов. Рибосомы состоят из двух субчастиц: большой и малой. По размерам и молекулярной массе все изученные до сих пор рибосомы делят на 3 группы — 70S *рибосомы прокариот*, состоящие из малой 30S и большой 50S субчастиц, 80S *рибосомы эукариот*, состоящие из 40S малой и 60S большой субчастиц, и *рибосомы митохондрий и хлоропластов*, которые в общем относят к классу 70S, однако они различаются по коэффициентам седиментации у разных групп эукариот.

Малая субчастица 80S рибосом образована одной молекулой рРНК (18S) и 33 молекулами различных белков. Большая субчастица образована тремя молекулами рРНК (5S, 5,8S и 28S) и примерно 50 белками. Все рРНК, за исключением 5S РНК, имеют общего предшественника — 45S РНК, локализованную в ядрышке.

Прокариотические рибосомы и рибосомы митохондрий и пластид содержат меньше компонентов, но структурно и функционально очень сходны с эукариотическими. Вторичная структура рРНК образуется за счет коротких двуспиральных участков молекулы — шпилек (рис. 14.9). Около 2/3 рРНК организовано в шпильки, 1/3 — представлена однотяжевыми участками, богатыми пуриновыми нуклеотидами, с которыми преимущественно связываются белки. Белки рибосом, подобно гистонам, обладают основным характером, выполняют как структурную, так и ферментативную роль.

Исследования последних лет показали, что рибосомные РНК являются не только структурными компонентами рибосом, но и обеспечивают правильное связывание их с определенной нуклеотидной последовательностью мРНК, устанавливая тем самым начало и рамку считывания при образовании полипептидной цепи. Кроме того, рРНК участвуют в обеспечении взаимодействия рибосом с тРНК.

В рибосомах имеются две бороздки, одна из них удерживает мРНК, другая — растущую полипептидную цепь. Помимо этого, в рибосомах имеются два участка, связывающих тРНК-аминоацильный (А-участок) и пептидильный (П-участок). Образование и функционирование А- и П-участков обеспечивается обеими субчастицами рибосом.

Глава 15

БИОЛОГИЧЕСКОЕ ОКИСЛЕНИЕ. ОСНОВЫ БИОЭНЕРГЕТИКИ

15.1. Общая характеристика

Одна из особенностей живых организмов состоит в том, что все они представляют собой открытые системы, которые способны извлекать, преобразовывать и использовать энергию окружающей среды либо в форме органических питательных веществ (хемотрофы), либо в форме энергии солнечного излучения (фототрофы). Обмен энергией в организме тесно связан с обменом веществ (метаболизмом). Метаболизм можно определить как совокупность ферментативных химических реакций, которые могут протекать в клетке. Активность ферментов, катализирующих эти реакции, регулируется с помощью чувствительной системы взаимосвязанных механизмов, поэтому метаболизм представляет собой высококоординированную, целенаправленную клеточную активность. Он выполняет следующие функции:

- снабжение химической энергией за счет расщепления богатых энергией пищевых веществ, поступающих в организм из среды, или путем преобразования улавливаемой солнечной энергии;
- превращение молекул пищевых веществ в строительные блоки, которые используются в дальнейшем клеткой для построения макромолекул;
- сборку белков, нуклеиновых кислот, липидов, полисахаридов и прочих клеточных компонентов из строительных блоков;
- синтез биомолекул, которые необходимы для выполнения каких-либо специфических функций данной клетки.

Превращение органических соединений в клетке осуществляется, как правило, в виде цепи или последовательности реакций, которые называются *метаболическими путями*, а вовлекаемые в такие реакции соединения — *метаболитами*. В классической биохимии метаболические пути разделяются на два типа: *катаболические* и *анаболические*. Катаболические пути — это процессы ферментативной деградации, в ходе которых крупные органические молекулы разрушаются (обычно в окислительных реакциях) до простых клеточных компонентов с одновременным выделением свободной химической энергии. Эта энергия используется затем организмом для поддержания жизнедеятельности, роста и репликации, а также преобразуется в другие формы энергии — механическую, электрическую и тепловую.

Анаболические пути — это процессы ферментативного синтеза, в ходе которых из относительно простых предшественников строятся сложные органические компоненты клетки; синтез часто включает восстановительные этапы и сопровождается затратой свободной химической энергии (рис. 15.1).

Все метаболические системы отличаются упорядоченностью и простотой, несмотря на разнообразие метаболитов, как потребляемых, так и образующихся. Особенно важное значение имеет открытие *центральных путей обмена*, которые примыкают и к катаболическим, и к анаболическим путям, т. е. непосредственно связывают между собой те и другие.

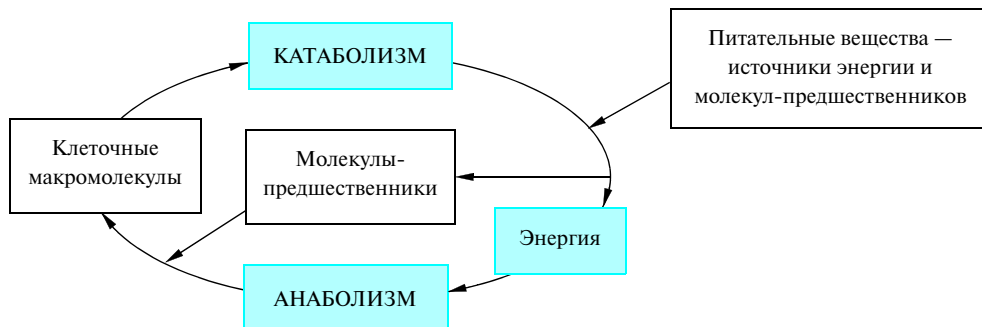


Рис. 15.1. Взаимосвязь между катаболическими и анаболическими процессами

Таким образом, обмен веществ тесно связан с обменом энергии. Реакции катаболизма, сопровождающиеся уменьшением свободной энергии ($-\Delta G$), являются донорами не только структурных предшественников, но и обеспечивают энергетически процессы анаболизма ($+\Delta G$). Напомним, что если ΔG отрицательно, то реакция протекает самопроизвольно и сопровождается уменьшением свободной энергии. Такие реакции называются *экзергоническими*, к ним относятся, как правило, катаболические превращения. Если же значение ΔG положительно, то реакции будут протекать только при поступлении свободной энергии извне и называться *эндергоническими* (анаболические процессы). При ΔG , равном нулю, система находится в равновесии.

Следует отметить, что изменение свободной энергии, определенное при стандартных условиях (концентрация реагентов 1 моль/л, pH 0), называется изменением свободной стандартной энергии и обозначается ΔG° . При определении ΔG° в биохимических реакциях, для которых стандартным условием является значение pH, равное 7,0, эта величина обозначается как $\Delta G'^\circ$.

Как известно, в биоэнергетике живых организмов имеют значение два основных момента:

- химическая энергия запасается путем образования АТФ, сопряженного с экзергоническими катаболическими реакциями окисления органических субстратов;
- химическая энергия утилизируется путем расщепления АТФ, сопряженного с эндергоническими реакциями анаболизма и другими процессами, требующими затраты энергии (рис. 15.2).

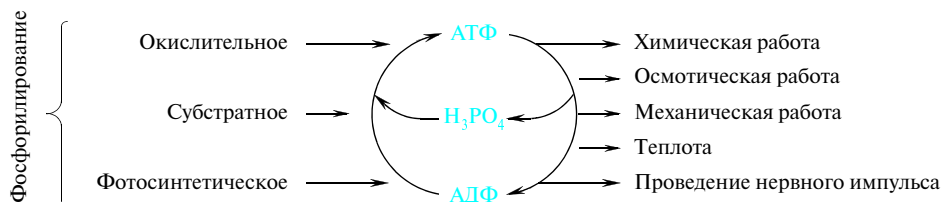
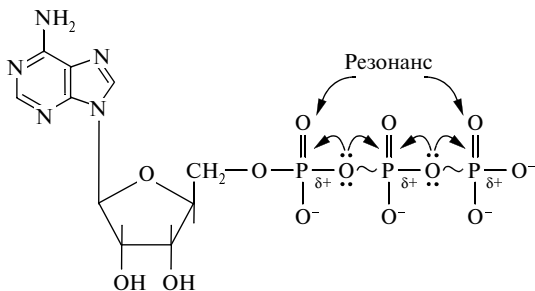


Рис. 15.2. Обмен АТФ в клеточной энергетике:

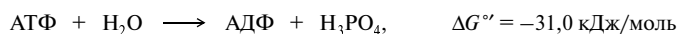
справа — процессы, требующие затраты энергии; *слева* — типы синтеза АТФ в природе путем фосфорилирования АДФ

Встает вопрос, почему молекула АТФ соответствует своей центральной роли в биоэнергетике. Для его разрешения рассмотрим структуру АТФ:



структура АТФ⁴⁻ (при pH 7,0 тетразарядный анион)

АТФ представляет собой термодинамически нестойкое соединение. Нестабильность АТФ определяется, во-первых, *электростатическим отталкиванием* в области кластера одноименных отрицательных зарядов, что приводит к напряжению всей молекулы, однако сильнее всего связи —P—O—P—, и, во-вторых, *конкурентным резонансом*. В соответствии с последним фактором существует конкуренция между атомами фосфора за неподделенные подвижные электроны атома кислорода, расположенного между ними, поскольку на каждом атоме фосфора имеется частичный положительный заряд вследствие значительного электронакцепторного влияния групп P=O и P—O⁻. Таким образом, возможность существования АТФ определяется наличием достаточного количества химической энергии в молекуле, позволяющей компенсировать эти физико-химические напряжения. В молекуле АТФ имеется две фосфоангидридных (пирофосфатных) связи, гидролиз которых сопровождается значительным уменьшением свободной энергии (при pH 7,0 и 37 °C):



Связи, при гидролизе которых изменения свободной энергии системы составляют более 30 кДж/моль, в биохимии называют *макроэргическими* и обозначают знаком ~ (тильда), а соединения, обладающие такими связями, — *макроэргами*.

К соединениям, обладающим макроэргическими связями, кроме АТФ, относятся также УТФ, ЦТФ, ГТФ, ТТФ, креатинфосфат, некоторые тиоэффры (например, ацил-КоА), фосфоенолпируват, 1,3-дифосфаглицерат и некоторые другие соединения. Однако образование этих макроэргических соединений в большинстве случаев зависит от энергии, поставляемой АТФ.

Одной из центральных проблем биоэнергетики является биосинтез АТФ, который в живой природе происходит путем фосфорилирования АДФ.

Фосфорилирование АДФ является эндергоническим процессом и требует источника энергии. Как отмечалось ранее, в природе преобладают два таких источника энергии — это солнечная энергия и химическая энергия восстановленных органических соединений.

Зеленые растения и некоторые микроорганизмы способны трансформировать энергию поглощенных квантов света в химическую энергию, которая расходуется на фосфорилирование АДФ в световой стадии фотосинтеза. Этот процесс регенерации АТФ получил название *фотосинтетического фосфорилирования* (гл. 16).

Трансформация энергии окисления органических соединений в макроэргические связи АТФ в аэробных условиях происходит преимущественно путем *окислительного фосфорилирования*. Свободная энергия, необходимая для образования АТФ, генерируется в дыхательной окислительной цепи митохондрий (15.3.2).

Известен еще один тип синтеза АТФ, получивший название *субстратного фосфорилирования*. В отличие от окислительного фосфорилирования, сопряженного с переносом электронов, донором активированной фосфорильной группы ($\sim \text{PO}_3\text{H}_2$), необходимой для регенерации АТФ, являются интермедианты процессов гликолиза (гл. 18) и цикла трикарбоновых кислот (гл. 19). Во всех этих случаях окислительные процессы приводят к образованию высокоэнергетических соединений: 1,3-дифосфоглицерата (гликолиз), сукцинил-КоА (цикл трикарбоновых кислот), которые при участии соответствующих ферментов способны фосфорилировать АДФ и образовывать АТФ. Трансформация энергии на уровне субстрата является единственным путем синтеза АТФ в анаэробных организмах. Этот процесс синтеза АТФ позволяет поддерживать интенсивную работу скелетных мышц в периоды кислородного голодания. Следует помнить, что он является единственным путем синтеза АТФ в зрелых эритроцитах, не имеющих митохондрий.

15.2. Биологическое окисление

В настоящее время биологическое окисление определяется как совокупность реакций окисления органических веществ (субстратов), выполняющих функцию энергетического обеспечения потребностей организма. Окисление субстратов в биохимических системах сопровождается отщеплением электронов от субстратов (донор электронов), которые при участии промежуточных переносчиков передаются на кислород — конечный (терминальный) акцептор электронов у аэробных организмов. Транспорт высокоэнергетических электронов восстановленных субстратов происходит в сложной системе, состоящей из окислительно-восстановительных ферментов и коферментов, локализованных во внутренней мембране митохондрии.

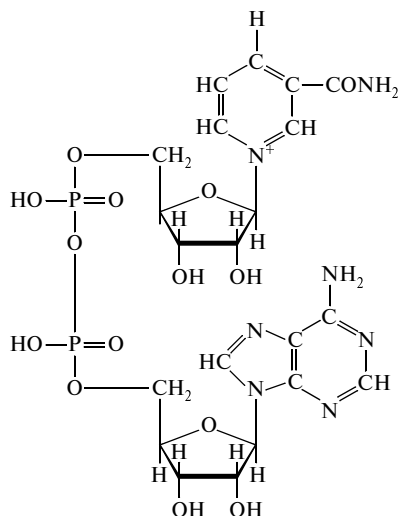
В переносе электронов от субстратов к молекулярному кислороду принимают участие:

- пиридинзависимые дегидрогеназы, для которых коферментами служат либо НАД^+ , либо НАДФ^+ (никотинамидадениндинуклеотиды);
- флавинзависимые дегидрогеназы (флавиновые ферменты), у которых роль простетической группы играют ФАД или ФМН;
- цитохромы, относящиеся к гемопroteинам.

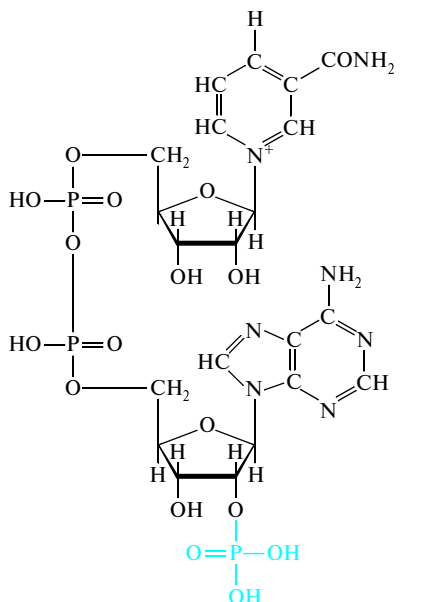
Среди компонентов дыхательной цепи обнаружены также убихинон (ко-энзим Q) и белки, содержащие негемовое железо, так называемые железосерные белки.

15.2.1. Никотинамидадениндинуклеотиды

В природе встречаются два отдельных вида коферментов этого типа — никотинамидадениндинуклеотид (НАД^+) и никотинамидадениндинуклеотид-фосфат (НАДФ^+):



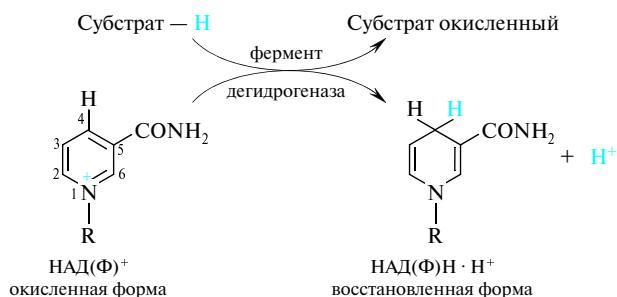
никотинамидадениндинуклеотид (НАД^+)



никотинамидадениндинуклеотид-фосфат (НАДФ^+)

НАД^+ и НАДФ^+ являются динуклеотидами, в которых нуклеотиды связаны между собой пиррофосфатной связью. В состав одного из нуклеотидов входит амид никотиновой кислоты (витамин РР), другой представляет собой адениловую кислоту. В молекуле НАДФ^+ имеется еще один остаток фосфорной кислоты, присоединенный к рибозе в положении C_2 адениловой кислоты.

НАД^+ и НАДФ^+ представляют собой коферменты большого числа дегидрогеназ; связь между ними и апоферментом непрочная, и они ассоциируют между собой только в момент реакции. НАД^+ и НАДФ^+ принимают непосредственное участие в переносе электронов в ходе окислительно-восстановительных реакций. В соответствии с этим существует две формы каждого из коферментов: окисленная и восстановленная. В присутствии восстановленного субстрата (SH_2) — донора электронов и соответствующей дегидрогеназы пиридиновое кольцо *восстанавливается* путем связывания в четвертом положении одного протона и двух электронов, а второй протон остается в среде:

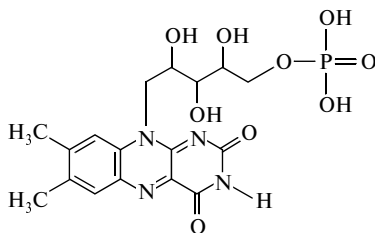


НАД⁺-зависимые дегидрогеназы локализованы в основном в матриксе митохондрий. Их окисление осуществляется НАДН: КоQ-оксидоредуктазой, интегрированной во внутреннюю мембрану митохондрий. НАДФ⁺-зависимые дегидрогеназы — это преимущественно цитоплазматические ферменты, и их восстановленные формы являются донорами восстановительных эквивалентов в реакциях биосинтеза.

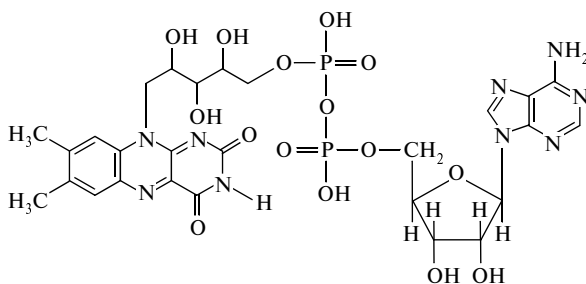
15.2.2. Флавиновые ферменты

Флавиновые ферменты — это сложные белки, простетической группой которых, как уже отмечалось, являются либо флавинмоноклеотид (ФМН), либо флавинадениндинуклеотид (ФАД).

ФМН и ФАД прочно, в отличие от коферментов НАД⁺ и НАДФ⁺, присоединены к апоферменту, выступая, таким образом, в качестве простетических групп, а не свободно диссоциирующих коферментов. Обе группы представляют собой метаболически активную форму рибофлавина (витамин В₂).



рибофлавинфосфат (флавинмоноклеотид, ФМН)



флавинадениндинуклеотид (ФАД)

Активной частью ФАД (или ФМН) является сопряженная изоаллаксозиновая циклическая структура витамина В₂, к которой в процессе восстановления присоединяются атомы водорода:

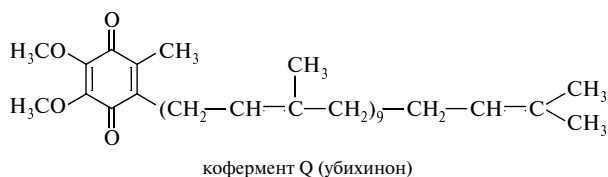


ФАД-зависимые дегидрогеназы выполняют функцию, подобную НАД⁺-зависимым ферментам, а именно являются первичными акцепторами электронов, т.е. они непосредственно окисляют восстановленные субстраты, например сукцинат (ФАД-сукцинатдегидрогеназа) или ацил-КоА (ФАД-ацил-КоА-дегидрогеназа).

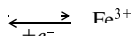
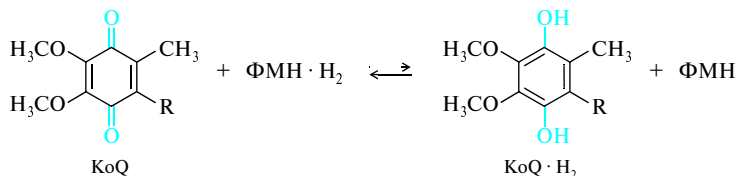
ФМН-зависимая дегидрогеназа входит в состав комплекса НАДН:КоQ-оксидоредуктазы, окисляющей НАДН и восстанавливающей коэнзим Q, т.е. она является промежуточным переносчиком электронов в дыхательной цепи.

15.2.3. Хиноны

Термин «коэнзим Q» обозначает принадлежность соединения к классу хинонов (Q — от англ. *Quinone*), которые называют также убихинонами из-за их повсеместной (ubiquitous) распространенности в природе.



КоQ является производным бензохинона с длинной боковой цепью, которая в большинстве тканей млекопитающих состоит из 10 изопреноидных единиц (КоQ₁₀). Установлено, что убихинон играет роль промежуточного переносчика водородных атомов, т.е. электронов и протонов в митохондриальной мембране, окисляя восстановленную форму флавиновых ферментов. Как всякий хинон, КоQ может существовать как в окисленной, так и восстановленной форме (гидрохинон):



Известно около 25—30 различных цитохромов, которые в зависимости от способности поглощать свет разделяются на группы, обозначаемые строчными буквами (a, b, c и т.д.). Внутри каждой группы отдельные виды цитохромов обозначаются цифровыми индексами (b, b₁, b₂, b₅ и т.д.).

Многообразие цитохромов обусловлено:

- структурой боковых заместителей в циклической тетрапиррольной группировке гема;
- структурой полипептидной цепи;
- способом соединения гема с полипептидной цепью (табл. 15.1).

Ниже приведен гем всех цитохромов группы *b*, гемоглобина, миоглобина, каталазы:

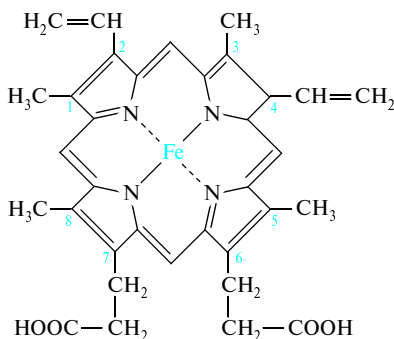
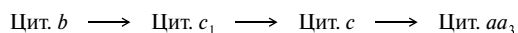


Таблица 15.1. Сравнение гема цитохрома *b* с гемами цитохромов *a* и *c*

| Положение | Цитохромы <i>a</i> | Цитохромы <i>c</i> |
|-----------|--|---|
| 1 | То же | То же |
| 2 | $\begin{array}{c} \text{—CH—CH}_2\text{—CH—(CH}_2\text{)}_3\text{—CH—(CH}_2\text{)}_3\text{—CH} \\ \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \\ \text{OH} \qquad \qquad \text{CH}_3 \qquad \qquad \text{CH}_3 \qquad \qquad \text{CH}_3 \end{array}$ | $\begin{array}{c} \text{—CH—CH}_3 \\ \\ \text{S—белок} \end{array}$ |
| 3 | То же | То же |
| 4 | » » | $\begin{array}{c} \text{—CH—CH}_3 \\ \\ \text{S—белок} \end{array}$ |
| 5 | —H | То же |
| 6 | То же | » » |
| 7 | » » | » » |
| 8 | $\begin{array}{c} \text{—C=O} \\ \\ \text{H} \end{array}$ | » » |

Цитохромы располагаются в митохондриальной цепи между убихиноном и кислородом. При этом цитохромы в дыхательную цепь включаются в определенной последовательности:



Цитохромы *b*, *c*₁ и *c* выполняют функцию промежуточных переносчиков электронов, а комплекс цитохромов *a* и *a*₃, называемый **цитохромоксидазой**, является терминальным дыхательным ферментом, непосредственно взаимодействующим с кислородом. Окисленная форма цитохромоксидазы (Fe³⁺) принимает электроны от восстановленного цитохрома *c*, переходя в восстановлен-

ную форму (Fe^{2+}), которая затем вновь окисляется в Fe^{3+} -форму молекулярным кислородом. Образовавшийся «активный» кислород присоединяет два протона из окружающей среды, в результате чего и образуется молекула воды.

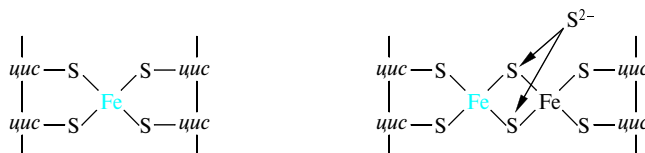
Установлено, что цитохромоксидаза состоит из шести субъединиц; каждая из них содержит геминую группу и атом меди. По-видимому, две субъединицы из шести составляют цитохром a , а остальные четыре относятся к цитохрому a_3 .

Помимо дыхательной цепи, цитохромы имеются в эндоплазматическом ретикулуме (цитохромы P-450 и b_5), в растительных клетках, бактериях, дрожжах.

15.2.5. Белки, содержащие негемовое железо

Кроме железа, входящего в состав цитохромов, в митохондриях имеются белки, содержащие негемовое железо. В этих белках атомы железа связаны с атомами серы цистеиновых остатков либо прямо с S^{2-} , поэтому их часто называют железосерными белками и обозначают как Fe-S .

Возможные типы комплексов Fe-S :



Железосерные белки входят в состав комплексов I, II, III дыхательной цепи митохондрий, выполняя роль второй простетической группы в процессе транспорта электронов.

15.3. Окислительное фосфорилирование

15.3.1. Митохондрии как внутриклеточные энергетические центры

Митохондрии содержатся в цитоплазме клетки и представляют собой овальной или иной формы образования, число которых составляет сотни или тысячи (например, в клетке печени крысы содержится около 1000 митохондрий). Следует отметить, что число митохондрий может меняться в зависимости от стадии развития клетки и ее функциональной активности.

Внутреннее пространство митохондрий окружено двумя мембранами (рис. 15.3). Наружная мембрана гладкая, а внутренняя образует многочисленные складки или кристы. Пространство, ограниченное внутренней мембраной, заполнено матриксом, который примерно на 50% состоит из белка. Размер митохондрий чаще равен 2—3 мкм в длину и около 1 мкм в диаметре, однако овальную форму митохондрий не следует считать универсальной. В некоторых тканях они имеют форму нити, иногда принимают самые причудливые очертания.

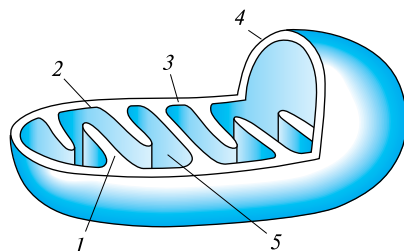


Рис. 15.3. Схема строения митохондрии в разрезе:

- 1 — кристы; 2 — внутренняя мембрана;
- 3 — межмембранное пространство;
- 4 — наружная мембрана; 5 — матрикс

Наружная мембрана не содержит компоненты дыхательной цепи. С ней связаны ферменты, участвующие в удлинении молекул насыщенных жирных кислот, а также ферменты, катализирующие окисление, не связанное с синтезом АТФ, например **моноаминоксидаза** и некоторые другие. Моноаминоксидаза может служить маркерным ферментом для идентификации наружной мембраны митохондрий.

В межмембранном пространстве митохондрий обнаруживается активность аденилаткиназы и нуклеозиддифосфаткиназы.

Как уже отмечалось, с внутренней мембраной митохондрий связаны ферменты дыхательной цепи. Кроме того, она обладает АТФ-азной активностью, связанной с механизмом окислительного фосфорилирования. Маркерным ферментом для идентификации внутренней мембраны митохондрий служит цитохромоксидаза.

Матрикс содержит ферменты цикла трикарбоновых кислот, β -окисления жирных кислот, синтеза мочевины, аспаратаминотрансферазу, глутаматдегидрогеназу, фосфоенолпируваткарбоксикиназу и др. Определение активности глутаматдегидрогеназы и малатдегидрогеназы часто используют для идентификации матрикса митохондрий.

15.3.2. Организация дыхательной цепи транспорта электронов

Цепью переноса (транспорта) электронов или дыхательной цепью называется совокупность последовательных окислительно-восстановительных реакций, в ходе которых при участии *промежуточных переносчиков электронов* происходит их перенос от исходного донора (восстановленный субстрат — SH_2) к *терминальному акцептору* электронов кислороду.

В клетках эукариот дыхательная цепь локализована во внутренней мембране митохондрий, а у прокариот — в структурах цитоплазматической мембраны.

Направление потока электронов при сопряжении одной окислительно-восстановительной системы с другой определяется их *стандартными окислительно-восстановительными потенциалами* или редокс-потенциалами E° . Обычно E° системы сравнивают с потенциалом водорода, принимая последний за 0,0 В при рН 0. Однако для биологических систем обычно используют значение стандартного окислительно-восстановительного потенциала при рН 7,0 (E°). Стандартные окислительно-восстановительные потенциалы компонентов дыхательной цепи и субстратов приведены в табл. 15.2.

Таблица 15.2. Стандартные окислительно-восстановительные потенциалы E° некоторых биологических систем

| Компоненты | Система | E° , В |
|------------------|--|---------------|
| Дыхательная цепь | $\text{НАД}^+/\text{НАДН} \cdot \text{H}^+$ | -0,32 |
| | $\text{ФМН}/\text{ФМН} \cdot \text{H}_2$ | -0,12 |
| | $\text{ФАД}/\text{ФАДН}_2$ | -0,05 |
| | $\text{КоQ}/\text{КоQ} - \text{H}_2$ | ~ 0,0 |
| | Цитохром b ($\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$) | +0,07 |
| | Цитохром c_1 ($\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$) | +0,22 |
| | Цитохром c ($\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$) | +0,26 |
| | Цитохром a ($\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$) | +0,29 |
| Субстраты | Цитохром a_3 ($\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$) | +0,55 |
| | $\frac{1}{2}\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$ | +0,82 |
| | Фумарат/сукцинат | +0,03 |
| | Оксалоацетат/малат | -0,17 |
| | Пируват/лактат | -0,19 |

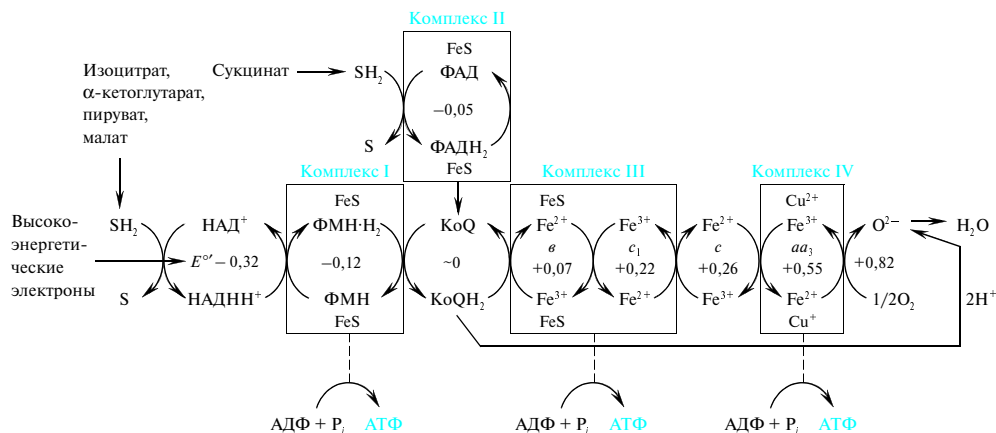


Рис. 15.4. Дыхательная цепь митохондрий.
Электронпереносящие комплексы митохондрий I, II, III, IV

Поскольку редокс-потенциалы определяют сродство вещества к электронам, то для любых двух пар система с более положительным значением $E^{\circ'}$ будет самопроизвольно стремиться принимать электроны.

В настоящее время экспериментально определена последовательность расположения переносчиков электронов в дыхательной цепи (рис. 15.4). Следует обратить внимание, что окислительно-восстановительный потенциал переносчиков электронов в этой последовательности постепенно становится все более положительным. Структура и механизм обратимых окислительно-восстановительных реакций превращения промежуточных переносчиков электронов приведены выше.

В 60-х гг. XX в., благодаря методам мягкого разрушения интактных митохондрий, были выделены четыре дыхательных комплекса (I, II, III, IV), каждый из которых способен катализировать определенную часть полной последовательности реакций дыхательной цепи:

- комплекс I (НАДН: КоQ-оксидоредуктаза) катализирует перенос электронов от НАДН к КоQ;
- комплекс II (сукцинат: КоQ-оксидоредуктаза) — перенос электронов от сукцината к КоQ;
- комплекс III (КоQH₂: цитохром c-оксидоредуктаза) — перенос электронов от КоQH₂ к цитохрому c;
- комплекс IV (цитохром c-оксидоксидаза) катализирует перенос электронов от цитохрома c к кислороду.

Было установлено, что активность изолированных комплексов аддитивна, т. е. при смешении комплексов получается окислительно-восстановительная реакция, соответствующая сумме отдельных реакций дыхательной цепи. Выделение комплексов дыхательной цепи позволило сделать вывод об определенной пространственной ориентации этих комплексов в мембране. Важная роль в передаче электронов от одного комплекса к другому принадлежит КоQ и цитохрому c. Цитохром c является единственным растворимым цитохромом и наряду с коэнзимом Q служит мобильным компонентом дыхательной цепи, осуществляя связь между фиксированными в мембране комплексами.

15.3.3. Окислительное фосфорилирование: понятие, количественная оценка

Окислительным фосфорилированием называют сопряжение двух клеточных процессов: *экзергонической реакции окисления восстановленных молекул* ($\text{НАДН} \cdot \text{H}^+$ или ФАДН_2) и *эндергонической реакции фосфорилирования АДФ и образования АТФ*. Впервые представление о сопряжении между аэробным дыханием и фосфорилированием АДФ было высказано в 30-х гг. XX столетия В. А. Энгельгардтом. Несколько позже, в 1940 г., В. А. Белицер и Е. Т. Цыбакова показали, что синтез АТФ из АДФ и H_3PO_4 происходит в митохондриях при транспорте электронов от субстрата к кислороду через цепь дыхательных ферментов. Большой вклад в развитие концепции и механизма окислительного фосфорилирования внесли А. Ленинджер, П. Митчелл, С. Е. Северин, В. П. Скулачев, П. Бойер, Д. Е. Аткинсон и др.

Изменение стандартной свободной энергии (ΔG°) в реакциях переноса электронов рассчитывают по формуле

$$\Delta G^\circ = -nF\Delta E^\circ,$$

где n — число перенесенных электронов; F — константа, называемая постоянной Фарадея [96 556 Дж]; ΔE° — разность стандартных окислительно-восстановительных потенциалов электронодонорной и электронакцепторной систем.

Таким образом, при переносе пары электронов от $\text{НАДН} \cdot \text{H}^+$ к кислороду изменение стандартной свободной энергии равно:

$$\Delta G^\circ = -2 \cdot 96,556 \cdot [0,82 - (-0,32)] = -220,2 \text{ кДж}.$$

Расчет изменения ΔG° на каждом участке переноса электронов в дыхательной цепи показывает, что благодаря участию промежуточных переносчиков в потоке электронов к кислороду энергия выделяется порциями (рис. 15.5). Если учесть, что на синтез одной молекулы АТФ требуется не менее 31 кДж/моль, в дыхательной цепи есть три участка, где высвобождающейся энергии достаточно для синтеза АТФ.

Таким образом, перенос пары электронов от НАД-зависимых дегидрогеназ дает в итоге образование трех молекул АТФ; окисление же ФАД-зависи-

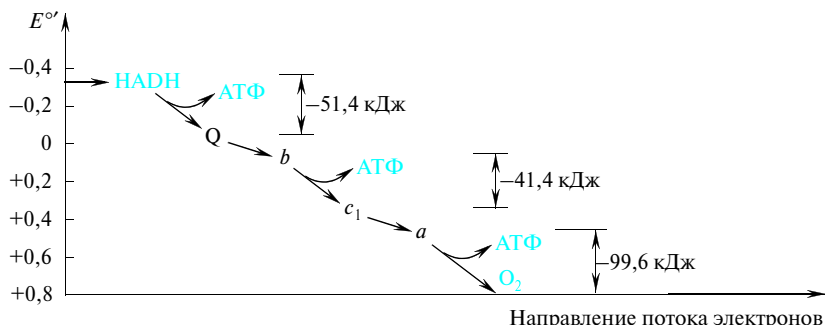
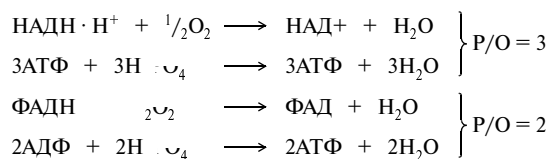


Рис. 15.5. Уменьшение свободной энергии при транспорте пары электронов по дыхательной цепи от НАДН к кислороду

мых дегидрогеназ — только двух молекул АТФ, так как пара электронов поступает в дыхательную цепь на уровне коэнзима Q, минуя первый участок сопряжения. Если учесть, что перенос пары электронов к кислороду дает 220,2 кДж, а на синтез трех молекул АТФ расходуется 93 кДж, то значительная часть (примерно 42%) свободной энергии запасается в молекулах АТФ.

Для количественной оценки сопряжения окисления и фосфорилирования используют коэффициент сопряженного окислительного фосфорилирования (Р/О), предложенный в 1939 г. В. А. Белицером. Коэффициент Р/О — это отношение уменьшения числа молей неорганического фосфата (H_3PO_4), необходимого для синтеза АТФ, к количеству поглощенного кислорода. Так, для субстратов (малат, пируват, изоцитрат), окисляющихся НАД-зависимыми дегидрогеназами, $P/O = 3$, а для сукцината, окисляемого ФАД-сукцинатдегидрогеназой, $P/O = 2$. Суммарный результат окисления $НАДН \cdot H^+$, $ФАДН_2$ и фосфорилирования можно записать следующим образом:



Экспериментально определяемые значения коэффициента Р/О, как правило, несколько ниже теоретически рассчитанных. Следовательно, процесс дыхания не всегда является процессом, жестко сопряженным с фосфорилированием. Нарушают систему сопряжения процессов окисления в дыхательной цепи и фосфорилирования так называемые разобщающие агенты (разобщители). К ним относятся вещества, подавляющие синтез АТФ (фосфорилирование), в то время как окисление субстратов, потребление кислорода (дыхание) продолжают. В качестве разобщителей в экспериментальной биохимии используют 2,4-динитрофенол, динитрокрезол, пентахлорфенол и др. В присутствии разобщителей коэффициент Р/О равен нулю, а энергия окисления в этом случае трансформируется в тепловую форму. Следовательно, разобщители обладают пирогенным действием, т. е. повышают температуру тела. Большинство разобщающих агентов являются липофильными и их ингибирующее действие на процесс фосфорилирования легко объяснимо благодаря способности этих соединений обеспечить протонную проводимость сопрягающей мембраны митохондрий и тем самым препятствовать образованию электрохимического потенциала, а следовательно, и синтезу АТФ (15.3.5).

15.3.4. Регуляция митохондриального окисления

Факторами, лимитирующими скорость дыхания, являются доступность кислорода, АДФ, субстратов, возможности и состояние самой дыхательной цепи при насыщающих концентрациях всех субстратов и компонентов.

При наличии всех компонентов дыхательной цепи и субстратов, за исключением АДФ, поглощение O_2 (дыхание) не наблюдается. После добавления АДФ начинается как дыхание, так и синтез АТФ. По мере расходования АДФ скорость дыхания снижается и совсем прекращается, когда весь АДФ превратился в АТФ, т. е. окисление и фосфорилирование жестко сопряжены.

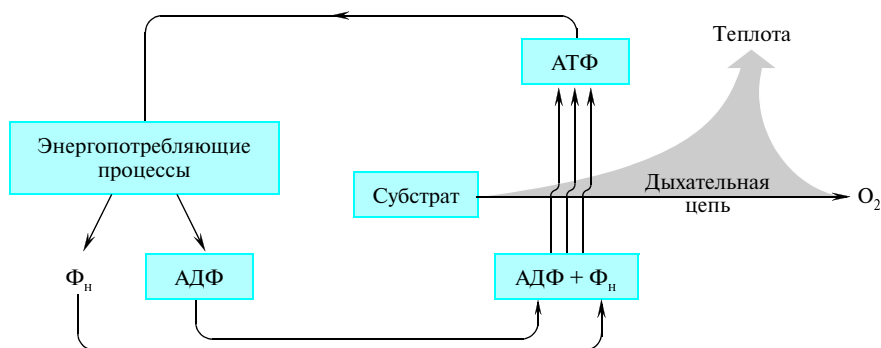


Рис. 15.6. Роль АДФ в дыхательном контроле

Зависимость митохондриального окисления (дыхания) от концентрации АДФ получила название *дыхательного контроля* (рис. 15.6).

Следовательно, если клетка находится в состоянии метаболической активности, сопровождающейся затратой АТФ, это приводит к накоплению АДФ, который, в свою очередь, активирует как процессы биологического окисления, так и синтеза АТФ.

Митохондрии обладают высоким сродством к АДФ, они продолжают фосфорилирование АДФ до тех пор, пока не будет достигнута высокая величина отношения АТФ/АДФ. Для количественной оценки энергетического состояния клетки Д. Аткинсоном введен расчет энергетического заряда системы АТФ—АДФ—АМФ по уравнению

$$\text{Энергетический заряд} = \frac{1}{2} \frac{[\text{АДФ}] + 2[\text{АТФ}]}{[\text{АМФ}] + [\text{АДФ}] + [\text{АТФ}]}$$

Если все содержащиеся в клетке аденозинфосфаты находятся в форме АТФ, то система «заполнена» до предела и ее энергетический заряд равен 1,0. Если аденозинфосфаты находятся в форме АМФ, то система не содержит высокоэнергетических связей и ее заряд равен 0. От величины энергетического заряда зависят скорости реакций цикла трикарбоновых кислот и других процессов, связанных с образованием или потреблением энергии, поскольку «заполнение» системы АТФ—АДФ—АМФ высокоэнергетическими фосфатными связями лежит в основе аллостерической регуляции активности ферментов, контролирующих скорости этих процессов.

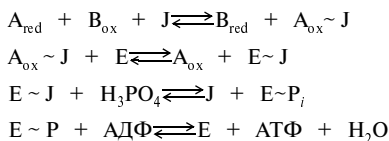
Таким образом, механизмы трансформации свободной энергии окисления субстратов являются не только эффективными ($\approx 42\%$), но и строго контролируруемыми. Часть свободной энергии (более 50%), которая не кумулируется в форме макроэргов (АТФ), освобождается в виде теплоты и у теплокровных животных используется для поддержания температуры тела.

15.3.5. Механизм окислительного фосфорилирования

При ответе на этот вопрос следует объяснить, во-первых, каким образом перенос электронов служит источником энергии; и, во-вторых, как энергия передается реакции $\text{АДФ} + \text{P}_i \rightarrow \text{АТФ}$. Существует три основных гипотезы,

объясняющих механизм сопряжения окисления и фосфорилирования: *химическая, хемиосмотическая, конформационная*.

Химическая гипотеза сопряжения. Эта гипотеза была предложена более 50 лет назад. Она постулирует прямое химическое сопряжение по аналогии с субстратным фосфорилированием. Предполагается, что существуют гипотетические факторы сопряжения (интермедиаты J), которые способны при окислении образовывать макроэргическую связь (~) и затем переносить ее на синтез АТФ по нижеприведенной схеме:



где А и В — переносчики электронов в дыхательной цепи; Е — фермент фосфорилирования.

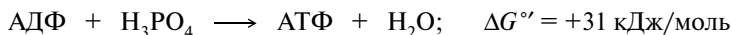
В настоящее время эта гипотеза достаточно дискредитирована, поскольку богатых энергией промежуточных соединений типа $A \sim J$ не удалось выявить.

Хемиосмотическая теория сопряжения окисления и фосфорилирования. Эта гипотеза предложена в 1961 г. П. Митчеллом; причем значительный вклад в ее доказательство был сделан В. П. Скулачевым с соавторами. Согласно этой теории, фактором, сопрягающим окисление с фосфорилированием, является электрохимический, протонный потенциал $\Delta\mu\text{H}^+$, возникающий на внутренней мембране митохондрий в процессе транспорта электронов. При этом предполагается, что мембрана непроницаема для ионов, особенно протонов, их транслокация с внутренней стороны мембраны (из матрикса) на наружную сторону внутренней мембраны митохондрий осуществляется за счет процесса окисления в дыхательной цепи, т. е. транспорта высокоэнергетических электронов. Возникающий электрохимический потенциал $\Delta\mu\text{H}^+$ является аддитивным; он складывается из химического потенциала $\Delta p\text{H}$ и электрического со знаком (+) на наружной стороне мембраны ($\Delta\psi$):

$$\Delta\mu\text{H}^+ = \Delta p\text{H} + \Delta\psi = 0,05 + 0,20 = 0,25 \text{ В.}$$

В настоящее время удалось измерить величину $\Delta\mu\text{H}^+$, которая равна 0,25 В, следовательно, является вполне достаточной для синтеза АТФ, при этом большую часть потенциала составляет $\Delta\psi$, т. е. электрический потенциал.

Градиент протонов, создающий разность химических и электрических потенциалов, и является источником энергии, необходимой для реакции



Дыхательная цепь ферментов, образующая комплексы I, III и IV, как бы трижды «перешнуровывает» мембрану митохондрий. Таким образом, каждая пара электронов, транспортирующаяся от НАДН к кислороду, извлекает из матрикса три пары H^+ , которые транслоцируются на наружную поверхность мембраны, в результате чего образуется три молекулы АТФ (рис. 15.7).

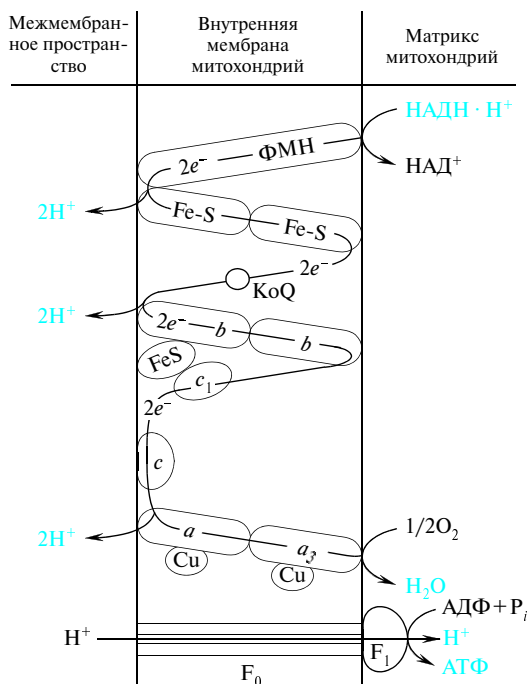


Рис. 15.7. Возможная конфигурация переносчиков электронов Н⁺ в дыхательной цепи

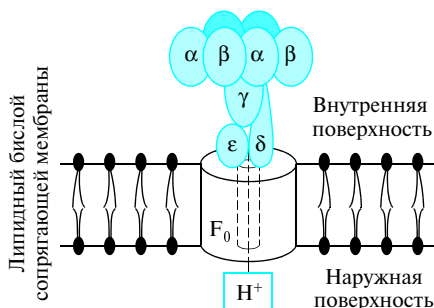


Рис. 15.8. Модель молекулярной организации Н⁺-зависимого АТФ-синтетазного комплекса

Каким же образом электрохимический потенциал протонов используется в синтезе АТФ? Процесс фосфорилирования катализируется Н⁺-зависимым АТФ-азным комплексом: **Н⁺-АТФ-синтетаза**. Этот сложный комплекс состоит из растворимого каталитического компонента F₁ и мембранного компонента F₀ (рис. 15.8).

Компонент F₁ — белок с молекулярной массой 36—38 kDa — состоит из пяти типов субъединиц: α, β, γ, δ, ε. Его вероятная формула α₃β₃γδ₂ε, основные каталитические свойства компонента F₁ (синтез АТФ) обеспечиваются α- и β-субъединицами, γ- и δ-белки осуществляют связь компонента F₁ с остальными компонентами комплекса, а ε-субъединица является ингибитором АТФ-азной активности.

Компонент F₀ является интегральным белком мембраны и, по-видимому, насквозь пронизывает ее. В состав F₀-компонента входит четыре типа субъединиц, в том числе белок, сообщающий данному компоненту чувствительность к олигомицину (следовательно, поэтому компонент обозначается с индексом «о» — олигомицин). Компонент F₀, во-первых, участвует в связывании F₁ с мембраной и, во-вторых, в нем имеется протон-проводящий канал, через который происходит перенос Н⁺ с внешней стороны мембраны (по градиенту электрохимического потенциала) к компоненту F₁, который при этом активируется и становится способным осуществить каталитическую ступень процесса синтеза АТФ. Таким образом, так же как и комплексы дыхательных ферментов, АТФ-синтетазная система фиксирована в мембране векторно, т. е. ха-

рактируется определенной пространственной направленностью, а комплекс F_1 выступает в матрикс и обеспечивает синтез АТФ (см. рис. 15.8).

Стадией, лимитирующей синтез АТФ, является высвобождение синтезированного АТФ из активного центра фермента в матрикс. Полагают, что энергoзависимое протонирование отдельных функциональных групп АТФ-азного комплекса, происходящее за счет энергии $\Delta\mu H^+$, вызывает конформационные изменения в F_1 -компоненте, которые приводят к быстрому высвобождению синтезированного АТФ из активного центра фермента. Важным моментом является обратимость реакции, катализируемой АТФ-азным комплексом. При соответствующих условиях комплекс F_0-F_1 может расщеплять молекулу АТФ и использовать полученную при этом энергию для транспорта протонов, т. е. для образования на мембране $\Delta\mu H^+$. Согласно концепции, постулированной В. П. Скулачевым, $\Delta\mu H^+$ наряду с АТФ используется как конвертируемая «валюта» для энергетических превращений, протекающих на мембране. В связи с этим было предложено все энергетические превращения в клетке подразделить на две группы: протекающие в цитоплазме (источник энергии — АТФ, креатинфосфат и другие макроэрги) и локализованные в мембране, использующие энергию $\Delta\mu H^+$ (рис. 15.9). Следует отметить, что H^+ не уникален в качестве сопрягающего иона и у некоторых видов организмов при определенных условиях его может заменить ион натрия.

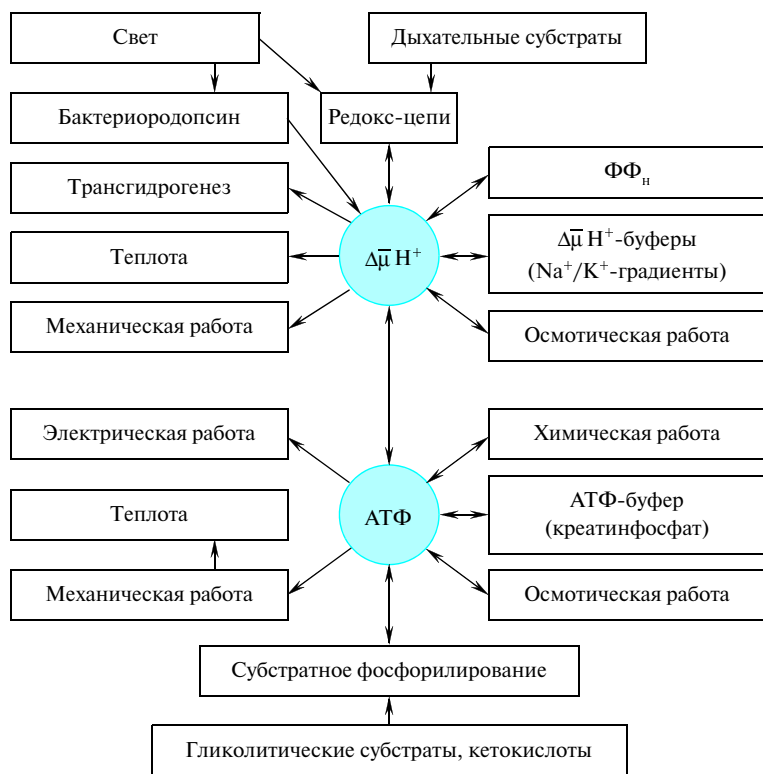


Рис. 15.9. Схема энергетики клетки, использующей $\Delta\mu H^+$ в качестве мембранной конвертируемой формы энергии (по В. П. Скулачеву)

Таким образом, $\Delta\mu\text{H}^+$ -зависимое образование АТФ — главный, но не единственный процесс трансформации $\Delta\mu\text{H}^+$ в химическую работу. К этому же типу энергетических превращений относятся синтез неорганического пирофосфата и перенос восстановительных эквивалентов в направлении более отрицательных редокс-потенциалов, например обратный перенос электронов в дыхательной цепи и трансгидрогеназная реакция. Зависящий от $\Delta\mu\text{H}^+$ транспорт через мембрану различных веществ в сторону большей их концентрации представляет собой трансформацию энергии по типу $\Delta\mu\text{H}^+ \rightarrow$ осмотическая работа, а вращение бактериального жгутика за счет энергии $\Delta\mu\text{H}^+$ служит примером превращения $\Delta\mu\text{H}^+ \rightarrow$ механическая работа. Образование теплоты митохондриями животных описывается превращениями типа $\Delta\mu\text{H}^+ \rightarrow$ теплопродукция.

Конформационная гипотеза сопряжения окисления и фосфорилирования. В соответствии с этой гипотезой перенос электронов вызывает изменение конформации липопротеиновых ансамблей в митохондриальной мембране, в том числе АТФ-синтетазы, и переводит ее из неактивного (релаксированного) состояния в напряженное, активное. Современные данные подтверждают различное конформационное состояние крист митохондрий при разных уровнях дыхательной активности. Однако, очевидно, что объяснить активацию АТФ-синтетазного комплекса лишь конформационными переходами не представляется возможным, хотя это явление имеет место.

15.4. Свободное окисление

15.4.1. Общая характеристика

Под свободным окислением понимают реакции, энергия которых не трансформируется в энергию АТФ.

К таким реакциям относятся реакции микросомального окисления.

Микросомы — это фракция морфологически замкнутых везикул, в которые превращается эндоплазматическая сеть при гомогенизации тканей. В них содержатся активные оксигеназы — ферменты, катализирующие включение кислорода в молекулу субстрата (S).

Известны две подгруппы оксигеназ. *Диоксигеназы* (истинные оксигеназы), включающие оба атома кислорода в молекулу субстрата:



Монооксигеназы (гидроксилазы) включают в субстрат только один атом кислорода, другой атом восстанавливается до воды в присутствии дополнительного донора восстановительных эквивалентов (НАДФН или НАДН):



Ключевая роль в процессах микросомального оксигенирования принадлежит цитохрому Р-450, представляющему собой, как и все цитохромы, гемопротеин. Атом железа цитохрома Р-450 (Fe^{2+}) восстанавливает связанный в активном центре фермента кислород, т. е. происходит активация кислорода, который затем переносится на субстрат. Микросомальное окисление играет важную роль в метаболических процессах, протекающих во всех организмах. Во-первых, это основная детоксицирующая система в организме человека и

Следует помнить, что все приведенные выше радикалы крайне реакционно-способны и вступают в какую-нибудь другую реакцию окисления, порождая очередной радикал. Таким образом, процесс носит цепной характер и потенциально может продолжаться бесконечно.

При действии активных форм кислорода происходит пероксидное окисление мембранных липидов, что приводит к повреждению структур и функций мембран. Активные формы кислорода способны вызывать окислительные повреждения ДНК. В ядерной ДНК клетки человека такие повреждения оцениваются величиной порядка 10 тыс. в день, а в митохондриальной ДНК, расположенной в непосредственной близости от дыхательной цепи — генератора супероксида, по-видимому, их частота на порядок выше. В настоящее время доказано действие активных форм кислорода на белки, приводящие к их химической и структурной модификациям (окислительная денатурация).

15.4.3. Защита от активных форм кислорода (АФК)

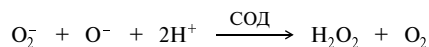
Система защиты от АФК включает два основных способа: неферментативный и ферментативный.

Неферментативная защита. Она осуществляется с помощью антиоксидантов — веществ, выступающих в качестве ловушки кислородных радикалов. Эти вещества взаимодействуют с АФК, тем самым снижают их реакционную активность и прерывают цепной процесс образования.

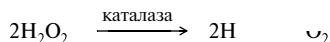
К основным природным антиоксидантам относятся **аскорбиновая кислота** (витамин С) и **α -токоферол** (витамин E_1). Аскорбиновая кислота, будучи хорошо растворимой в воде, способна защитить от АФК компоненты цитозоля, а гидрофобный токоферол — мембранные липиды от пероксидного окисления.

Антиоксидантным действием обладают ряд других природных веществ: β -каротин, мочевая кислота, трипептид глутатион, дипептид карнозин, таурин и ряд других.

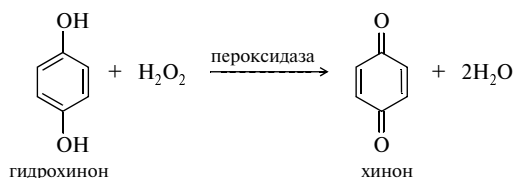
Ферментативная защита. Супероксиддисмутаза (СОД) — специфический фермент, открытый в 1969 г. (И. Фридович и Дж. Мак-Корд), катализирует реакцию дисмутации, в которой супероксид выступает одновременно как окислитель и как восстановитель:



Образующийся пероксид водорода разлагает до воды другой фермент — **каталаза**:



Пероксид водорода может расщепляться также под действием **пероксидазы** — фермента, использующего в качестве донора водорода различные органические соединения, например полифенолы:



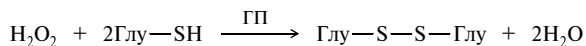
Пероксидазы содержатся в животных тканях (кровь, печень, почки), но особенно активны эти ферменты в тканях высших растений.

СОД и каталаза обнаружены во всех типах про- и эукариотических *аэробных* клеток. Они присутствуют не только в клетках животных тканей, но и плазме крови, лимфе, синовиальной жидкости. В клетках больше всего этих ферментов содержится в пероксисомах и митохондриях.

СОД относится к металлоферментам, у которых в активном центре происходит восстановление и окисление иона металла. Дисмутаза клеток эукариот содержит Zn^{2+} и Cu^{2+} ; в бактериях выявлена СОД, содержащая Mn^{2+} ; в бактериях и синезеленых водорослях найдены дисмутазы, содержащие Fe^{3+} .

В последние годы появились сообщения об успешном применении СОД как мощного противовоспалительного средства, эти исследования в настоящее время продолжаются.

Кроме каталазы и СОД, в защите тканей от АФК участвует еще один фермент — глутатионпероксидаза (ГП), восстанавливающая пероксид водорода (а также органические гидропероксиды $R-O-OH$), донором водорода в этой реакции является восстановленный трипептид глутатион ($Глу-SH$):



где $Глу-S-S-Глу$ — окисленный глутатион.

Защитная функция глутатионпероксидазы особенно важна для мозговой ткани, содержащей мало каталазы.

Митоптоз как форма защиты от АФК. Недавно было высказано предположение, что при образовании в митохондриях большого количества АФК, когда они становятся опасными для клетки, происходит выбраковка митохондрий — процесс, названный В. П. Скулачевым *митоптозом*. В случае генерации в митохондриях супероксида становится возможным окислительное повреждение митохондриальной ДНК, что ведет к нарушению синтеза белков — переносчиков электронов дыхательной цепи, а это, в свою очередь, ускоряет генерацию супероксида и продукция этого вещества может приобрести цепной характер. Возрастание количества супероксида увеличивает вероятность повреждения также ядерной ДНК, а следовательно, может привести к гибели клетки. В настоящее время установлено, что при старении происходит нарастание АФК. Неполное подавление генерации этих радикалов и неполная «уборка» образовавшихся АФК рассматриваются как один из молекулярных механизмов процессов запрограммированной смерти организма — «феноптоза» (В. П. Скулачев).

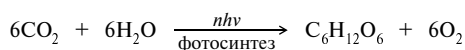
Однако полное подавление пероксидных процессов вряд ли является целесообразным. Важное биологическое действие супероксида связывают с его регуляторным действием на NO-синтазу — фермент, приводящий к образованию радикала NO, обладающего свойством вторичного посредника (активатора растворимой гуанилатциклазы). Известно, что супероксидный радикал участвует в формировании клеточного иммунитета, способствует высвобождению жирных кислот из мембранных липидов, индуцирует апоптоз — запрограммированную гибель клеток, оказавшихся вредными или просто ненужными для организма.

Глава 16

ФОТОСИНТЕЗ

16.1. Общая характеристика

Первичным источником энергии на Земле является энергия Солнца. Диапазон солнечного излучения, достигающего земной поверхности, называется видимым или белым светом; нижний предел длины волны его равен примерно 400 нм, а верхний — 700 нм. Фотосинтезирующие организмы (зеленые растения, водоросли, цианобактерии) обладают способностью улавливать кванты солнечного света и трансформировать их в полезную химическую энергию. Процесс фотосинтеза, заключительной реакцией которого является синтез углеводов из CO_2 , может быть суммирован следующим стехиометрическим уравнением:



Таким образом, в результате фотосинтеза происходит:

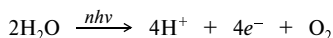
- восстановление световой энергией низкоэнергетической окисленной формы углерода (CO_2) в высокоэнергетическую восстановленную форму углерода в составе углеводов, которые затем используются нефотосинтезирующими организмами как источник энергии и углерода;

- образование молекулярного кислорода; эта реакция представляет собой единственный источник кислорода на Земле.

Существуют две фазы процесса фотосинтеза — световая и темновая.

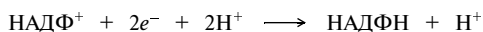
Световая фаза включает три процесса:

- начальной реакцией является фотохимический процесс окислительного расщепления воды — *фотоокисления*:

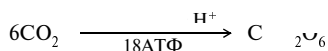


- энергия высокоэнергетических электронов воды используется специализированной мембранной системой для фосфорилирования АДФ и образования АТФ в системе *фотосинтетического фосфорилирования*;

- часть энергии электронов восстанавливает НАДФ⁺ в реакции *фотовосстановления*:



Темновая фаза — это ферментативная утилизация и превращение CO_2 в углеводы:



Следовательно, НАДФН и АТФ, образующиеся в ходе световых реакций, являются метаболически используемыми восстанавливающими и энергетическими агентами в процессе фотосинтеза глюкозы из диоксида углерода в темновой стадии.

16.2. Хлоропласты — клеточные органеллы фотосинтеза

Структура хлоропластов. В высших растениях хлоропласты обычно имеют цилиндрическую форму длиной примерно 5—10 мкм и диаметром 0,5—2 мкм, т. е. они в 2—5 раз больше митохондрий. Подобно последним, они имеют высокоупорядоченную внутреннюю структуру. Внутренняя мембрана хлоропластов образует уплощенные мембранные тела — пузырько-видные диски, называемые *тилакоидными дисками*, которые уложены в стопку и соединены между собой перемычками. Эта стопка называется *граной*, их число составляет 40—80 шт. на один хлоропласт. Наружная мембрана хлоропластов, как и митохондрий, гладкая (рис. 16.1).

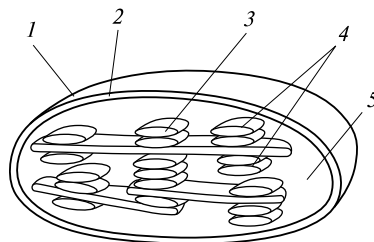


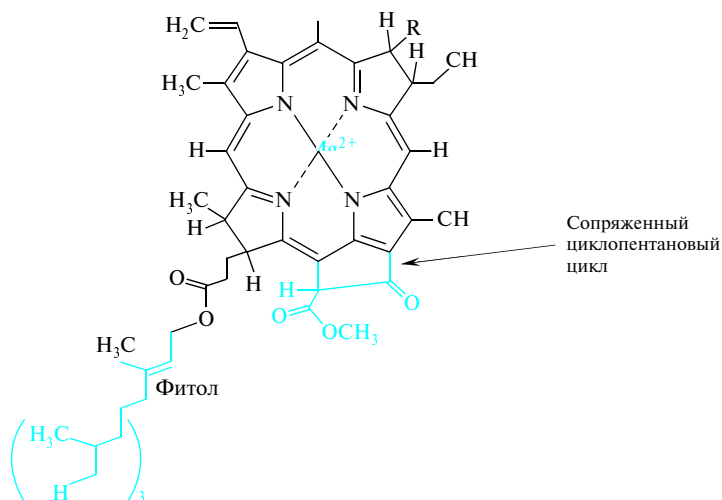
Рис. 16.1. Схема структуры зрелого интактного хлоропласта в разрезе:

1 — наружная мембрана; 2 — внутренняя мембрана; 3 — тилакоидный диск; 4 — грана; 5 — строма

Функциональной фотохимической единицей световой стадии являются *квантосомы* — маленькие сферические частицы, погруженные в фосфолипидный матрикс тилакоидного диска и содержащие фоточувствительные пигменты, переносчики электронов и другие компоненты, необходимые для световой стадии фотосинтеза. В настоящее время ультраструктура этих сложных мультимолекулярных комплексов детально изучается.

16.3. Световые реакции фотосинтеза

Во всех фотосинтезирующих организмах центральным процессом является поглощение квантов (фотонов) солнечного света ($h\nu$), которое осуществляется основным фоточувствительным пигментом — хлорофиллом. Ниже приведена структура хлорофиллов *a* и *b* ($R=CH_3$ — хлорофилл *a*; $R=CHO$ — хлорофилл *b*):



К фоточувствительным пигментам относятся *хлорофиллы* (*a*, *b*, *c*, *d*), *каротиноиды* и *фикобилины*. Наиболее широко распространены две молекулярные

формы хлорофилла — одна из них обозначается как **хлорофилл *a***, другая — **хлорофилл *b***. Зеленые растения и зеленые водоросли содержат обе формы хлорофилла, а фотосинтезирующие бактерии — хлорофилл *a*, отличающийся от хлорофиллов *a* и *b* растений и называемый *бактериохлорофиллом* (БХл).

Важнейшие фотосинтетические пигменты приведены в табл. 16.1.

Т а б л и ц а 16.1. **Фотосинтетические пигменты**

| Организм | Основной хлорофилл | Вспомогательный хлорофилл | Другие вспомогательные пигменты |
|---|---|---|---|
| Многоклеточные зеленые растения | Хл. <i>a</i> 683 (680—685)* Хл. <i>a</i> 695 (695—700) | Хл. <i>b</i> (560, 480) Хл. <i>a</i> 670 (670—673) | Каротиноиды (481), преимущественно β-каротин |
| Зеленые водоросли | То же | То же | То же |
| Бурые водоросли | Хл. <i>a</i> | Хл. <i>c</i> | β-Каротин |
| Диатомовые водоросли, жгутиковые | Хл. <i>a</i> | Хл. <i>c</i> (620, 470) | То же |
| Красные водоросли | Хл. <i>a</i> | Хл. <i>d</i> (680) | β-Каротин; фикоэритрин (570, 550, 495) и один из фикоцианинов (625) |
| Пурпурные бактерии (как серные, так и несерные) | БХл. (800, 850, 870—890) | | Различные каротиноиды (родопсин, ликопин, сцирил-локсантин и т. п.) |
| Зеленые серные бактерии | Хл. из <i>Chlorobium</i> (660, 650) | | То же |

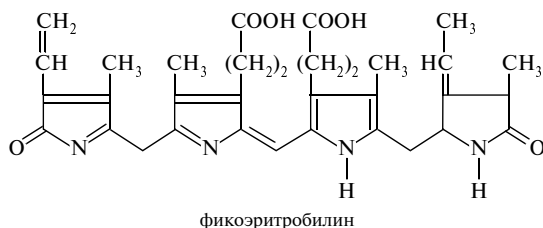
* В скобках указаны длины волн главных максимумов поглощения в нм.

Хлорофилл имеет планарную циклическую тетрапиррольную структуру, напоминающую структуру гема. Молекула хлорофилла отличается от гема следующим: 1) в хлорофилле металлом, связанным координационными связями с тетрапиррольной структурой, является магний (в виде ионов Mg^{2+}), а не железо; 2) активность хлорофиллов не зависит от связи с белком; 3) хлорофиллы содержат характерные боковые группировки: спирт фитол и конденсированное цикlopentanовое кольцо. Гидрофобный, 20-углеродный спирт фитол обеспечивает присоединение молекулы хлорофилла к мембране тилакоидов.

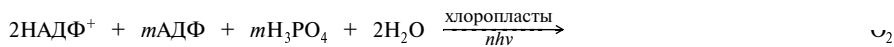
Различия в структуре молекул хлорофилла приводят к тому, что каждый из них обладает уникальным спектром поглощения. Первичным пигментом считается хлорофилл *a*, поскольку он присутствует в большем количестве, чем хлорофилл *b*. Внутри группы молекул хлорофилла *a* есть различия в светопоглощении молекул, которые определяются конкретным микроокружением в липопротеиновом слое мембраны тилакоидов. Существуют достоверные данные о наличии двух специализированных видов молекул хлорофилла *a*, максимумы поглощения которых соответствуют 680 и 700 нм.

Молекулы хлорофилла в хлоропластах организованы в крупные агрегаты, содержащие сотни молекул пигмента. Это так называемые *светособирающие системы*, или антенны, которые обеспечивают эффективное поглощение и использование световой энергии. В состав этих систем кроме хлорофилла входят

другие соединения, поглощающие в диапазоне 400—700 нм. Их называют *вспомогательными пигментами*. Они выступают в роли вторичных поглотителей света, участвуя в переносе энергии к специализированным молекулам хлорофилла в реакционных центрах *квантосом*, т. е. играют роль антенны. К вспомогательным пигментам относятся *каротиноиды* (в высших растениях β -каротин) и *фикобилины* — тетрапиррольные структуры с незамкнутой цепью. Ниже приведено строение вспомогательных фотосинтетических пигментов:



Суммарное уравнение реакций, происходящих с затратой энергии фотонов $nh\nu$ во всех фотосинтезирующих растениях, представлено ниже.



Это уравнение отражает основные процессы, которые происходят в световой фазе фотосинтеза:

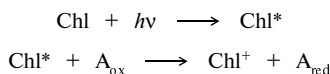
- фотохимическое возбуждение хлорофилла;
- окислительное расщепление воды — фотоокисление;
- восстановление НАДФН — фотовосстановление;
- синтез АТФ — фотофосфорилирование.

Как видно из приведенного выше уравнения реакции, выделение одной молекулы O_2 включает перенос четырех электронов от H_2O к НАДФ^+ , т. е. две молекулы H_2O восстанавливают 2НАДФ^+ . Неопределенными остаются число m молекул АТФ, образующихся на молекулу выделенного кислорода, и число n квантов света, затраченных на этот процесс. По одним данным, $m = 4$, по другим — $m = 2$; относительно количества световой энергии также предполагается два значения n : 4 и 8.

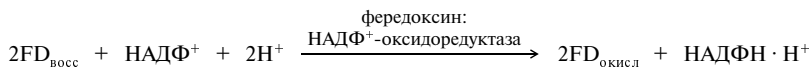
16.4. Механизм световой фазы

В 50-х гг. XX столетия Р. Эмерсон предположил, что зависящая от света фаза фотосинтеза содержит две отдельные фотосистемы, причем обе они должны активироваться для достижения максимальной эффективности световых реакций. Фотосистема I (ФС I) содержит в основном хлорофилл *a*, поглощающий при 700 нм, а фотосистема II (ФС II) — при 680—683 нм. Многие детали световых реакций неизвестны. Установлено, что обе фотосистемы вы-

полняют отдельные, но взаимодополняющие функции. Поглощение кванта света ФС I переводит хлорофилл-700 в электронно-возбужденное состояние, в нем происходит разделение зарядов за счет присутствия рядом с возбужденным хлорофиллом вспомогательных пар: окислитель—восстановитель. Поскольку их природа неизвестна, восстановленный акцептор на рис. 16.2 обозначен A_{red} . При этом возбужденный хлорофилл превращается в катион-радикал, т. е. в его молекуле образуется «электронная дырка» по схеме:



где Chl , Chl^* , Chl^+ — молекулы хлорофилла в основном, электронно-возбужденном и катион-радикальном состояниях. Высокоэнергетические электроны из A_{red} , образованного в ФСИ, восстанавливают железосерный негемовый белок **ферредоксин**, который принимает участие в восстановлении НАДФ^+ таким образом, что $\text{НАДФ} \cdot \text{H}$ сразу поступает в строуму. В реакции восстановления НАДФ^+ ферредоксином (FD) принимает участие ФАД-зависимая дегидрогеназа — ферредоксин: НАДФ^+ -оксидоредуктаза:



В фотосистеме II за возбуждением молекулы хлорофилла следует передача возбужденного электрона на пару окислитель—восстановитель реакционного центра ФСII. При этом образуется катион-радикал хлорофилла и сильный

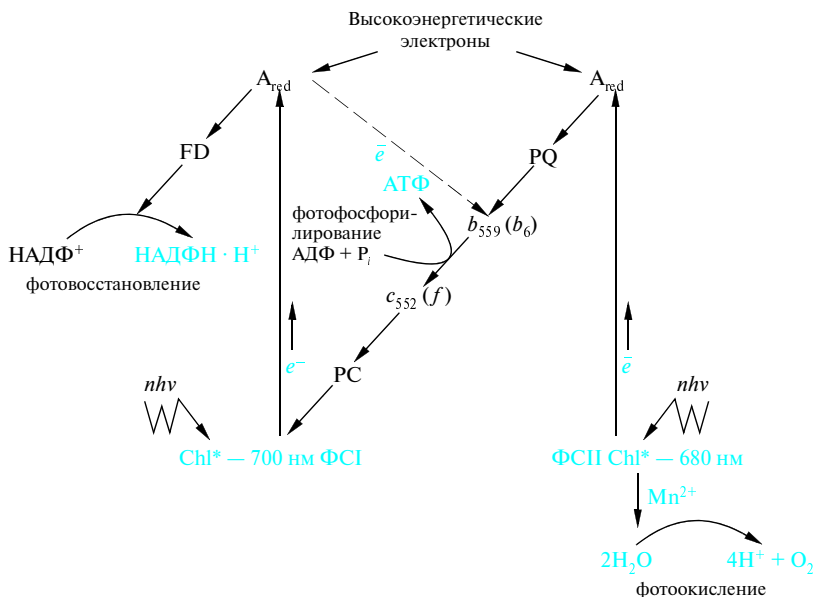
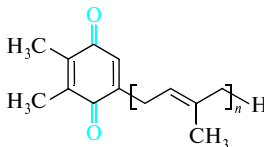


Рис. 16.2. Z-Схема потока электронов в модели двух фотосистем (ФС I и ФС II):

FD — ферредоксин; PQ — пластохинон; PC — пластостхианин; $b_{559}(b_6)$ - и $c_{552}(f)$ — цитохромы; Chl^* — электронно-возбужденный хлорофилл; A_{red} — восстановленный акцептор электронов; пунктиром показан механизм циклического фосфорилирования

окислитель, который принимает участие в окислении молекулы H_2O до O_2 , а электроны воды восстанавливают A_{ox} до A_{red} и далее поступают в цепь переносчиков электронов от ФС II до ФС I. Важную роль в окислении H_2O в реакционном центре ФС II играют ионы марганца, выполняя, по-видимому, роль пары окислитель/восстановитель.

Ближайшим акцептором электронов, генерированных ФСII, является **пластохинон (PQ)** — структурный аналог убихинона (CoQ):



пластохинон, $n = 6-10$

Затем в цепи переноса электронов принимают участие два цитохрома $b_{559}(b_6)$ и $c_{552}(f)$; следующим переносчиком электронов является **пластоцианин (PC)** — медьсодержащий белок, передающий электрон в реакционный центр ФС I и заполняющий в нем «электронную дырку». Часть энергии возбужденных электронов, проходящих через комплекс, образованный PQ, цитохромами b_{559} , c_{552} и PC, трансформируется в химическую энергию АТФ, т. е. идет процесс фотофосфорилирования.

Механизм фотосинтетического фосфорилирования сходен с синтезом АТФ в процессе окислительного фосфорилирования в митохондриях. Система переносчиков электронов интегрирована в мембрану тилакоида таким образом, что перенос пары электронов создает поток протонов с наружной поверхности тилакоида внутрь, рН на внутренней поверхности тилакоида может достигать 4 и ниже. Таким образом, на мембране создается электрохимический протонный потенциал $\Delta\mu\text{H}^+$, который используется интегрированной в мембрану H^+ -зависимой синтетазой для синтеза АТФ (рис. 16.3). Структура этого фермента аналогична митохондриальной АТФ-синтетазе (гл. 15) и обычно обозначается как CF_0-CF_1 . Символ С означает, что этот ферментный комплекс локализован в хлоропластах (*chloroplast*) и, подобно митохондриальной H^+ -зависимой-АТФ-синтетазе, включает гидрофобный, интегрированный в мембрану тилакоида компонент (CF_0) и гидрофильный комплекс (CF_1), катализирующий синтез АТФ.

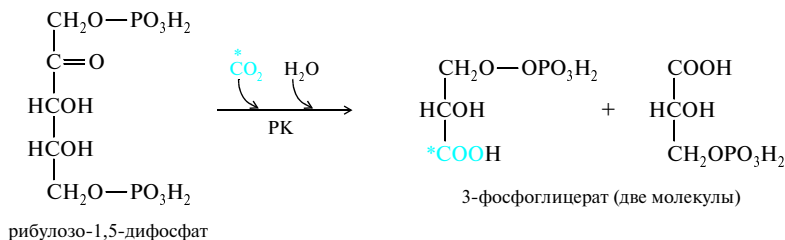
Как видно из рис. 16.3, электроны движутся к внешней стороне мембраны, а протоны концентрируются на внутренней поверхности тилакоидов, т. е. направление протонного градиента $\Delta\mu\text{H}^+$ противоположно направлению его в митохондриях. Таким образом, тилакоиды представляют собой как бы вывернутые наизнанку митохондрии, поэтому АТФ образуется с их наружной стороны и беспрепятственно поступает в строму для участия в темновых стадиях фотосинтеза.

Синтез АТФ, сопряженный с функционированием обеих фотосистем, получил название нециклического фосфорилирования. Следует помнить, что восполнение дефицита электронов в ФС I происходит за счет переноса к ней электронов воды, поступающих от ФС II. Процесс нециклического фосфорилирования сопряжен с фотовосстановлением НАДФ^+ .

Однако функционирует дополнительный механизм, обеспечивающий синтез АТФ без сопутствующего восстановления НАДФ⁺, в котором участвует только ФС I (см. рис. 16.2). Поток электронов, поступивших из реакционного центра ФС I и восстановивших А_{ред}, возвращается в ФС I, проходя через цитохромы *b*₅₅₉ и *f*, пластоцианин, и, создавая протонный градиент на тилакоидной мембране, используется для синтеза АТФ. Поскольку в данной системе наблюдается циклический поток электронов, то этот путь синтеза АТФ получил название *циклического фотосинтетического фосфорилирования*. Следовательно, этот путь синтеза АТФ не сопряжен с восстановлением НАДФ⁺, выделением О₂ и происходит в том случае, когда клетка обеспечена НАДФН, но испытывает потребность в АТФ.

Темновые реакции, связанные с ассимиляцией CO_2 у зеленых растений, были детально изучены с помощью радиоизотопного анализа работами М. Кальвина, А. А. Бенсона и Дж. А. Бассама и привели к созданию общей гипотетической схемы, известной под названием цикла Кальвина—Бассама—Бенсона.

<http://chemistry-chemists.com>



Фермент РК встречается только у фотосинтезирующих организмов и отсутствует в животных тканях. Этот фермент имеет молекулярную массу 55 kDa и состоит из 16 субъединиц двух типов: 8 — каталитических и 8 — регулятор-

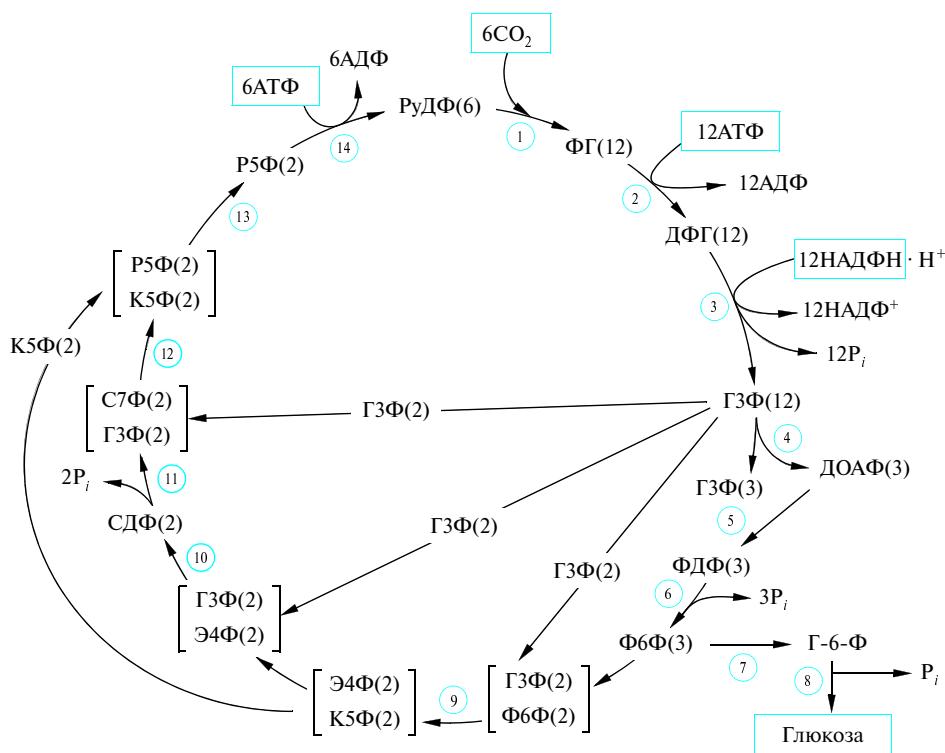
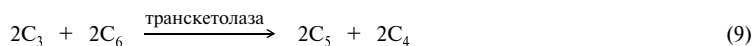


Рис. 16.4. Схема реакций цикла Кальвина:

цифры в кружке обозначают номера реакций; в скобках приведено число молекул, иллюстрирующих стехиометрию превращений; РудФ — рибулозо-1,5-дифосфат; ФГ — 3-фосфоглицерат; ДФГ — 1,3-дифосфоглицерат; ГЗФ — глицеральдегид-3-фосфат; ДОАФ — дегидроксияцетон-3-фосфат; ФДФ — фруктозо-1,6-дифосфат; Ф6Ф — фруктозо-6-фосфат; Г6Ф — глюкозо-6-фосфат; Э4Ф — эритрозо-4-фосфат; К5Ф — ксилулозо-5-фосфат; С7Ф — седогепулозо-7-фосфат; СДФ — седогепулозо-1,7-дифосфат; Р5Ф-рибозо-5-фосфат; Рγ5Ф — рибулозо-5-фосфат

ных. Для полного биосинтеза глюкозы, т. е. образования всех ее шести углеродных атомов из CO_2 в цикле Кальвина, на каждую фиксированную молекулу диоксида углерода необходима одна молекула рибулозодифосфата, которая регенерирует в конце цикла (рис. 16.4).

Реакции (2) — (8) цикла Кальвина совпадают с таковыми в процессе глюконеогенеза в животных тканях (гл. 20), за исключением того, что донором восстановительных эквивалентов в реакции (3) выступает НАДФН, а не НАДН. В ходе этих реакций 6 молекул CO_2 включаются в глюкозу. Реакции (9)—(14) направлены на регенерацию 6 молекул рибулозо-1,5-дифосфата, который необходим для того, чтобы мог начаться новый оборот цикла Кальвина. Этот процесс достаточно сложен и включает реакции, катализируемые ферментом гликолиза альдолазой и ферментами пентозофосфатного пути окисления глюкозы транскетолазой, эпимеразой и изомеразой. Химизм реакций приведен в гл. 18, схематически их можно описать следующим образом:



где C_5 — ксилулозо-5-фосфат; C_4 — эритрозо-4-фосфат

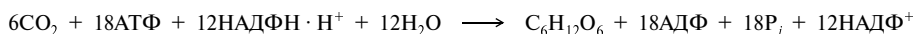


где C_7 — седогептулозо-1,7-дифосфат



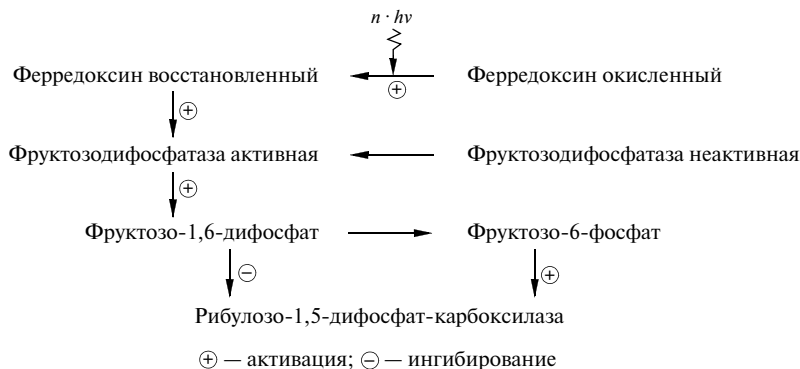
где одна пентоза — рибозо-5-фосфат; другая — ксилулозо-5-фосфат.

Продукты этих реакций — шесть молекул пентоз, из них четыре молекулы ксилулозо-5-фосфата и две молекулы рибозы-5-фосфата изомеризуются при действии ферментов соответственно эпимеразы и изомеразы в шесть молекул рибулозо-5-фосфата, которые в заключительной реакции цикла Кальвина фосфорилизуются АТФ и превращаются в шесть молекул рибулозо-1,5-дифосфата. Суммарное уравнение фотосинтеза глюкозы, с учетом регенерации рибулозо-5-фосфата, можно записать следующим уравнением:



Таким образом, шесть молекул CO_2 — это эквивалент одной молекулы глюкозы, и, следовательно, на каждую ассимилированную молекулу CO_2 затрачивается три молекулы АТФ и шесть молекул НАДФН.

Регуляция темновой стадии фотосинтеза. Регуляторным ферментом превращения CO_2 в углеводы является первый фермент цикла Кальвина — рибулозо-1,5-дифосфаткарбоксилаза. При регуляции по аллостерическому механизму ингибитором фермента является один из центральных метаболитов цикла Кальвина — фруктозо-1,6-дифосфат, а активатором — фруктозо-6-фосфат. В свою очередь, оба эффекта связаны с активацией цикла Кальвина при действии квантов света по схеме:



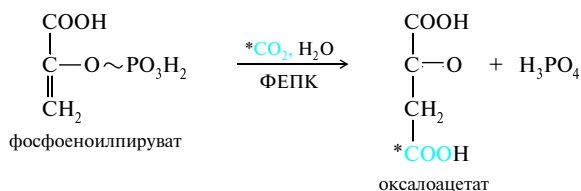
Таким образом, хотя карбоксилаза катализирует основную реакцию темновой фазы, ее активность косвенно зависит от поглощения хлоропластами света. Если освещенные хлоропласты синтезируют АТФ и восстанавливают НАДФ⁺, свет активирует процесс синтеза глюкозы из СО₂, в ходе которого используются продукты световой фазы.

16.5.1. С₄-путь фотосинтеза глюкозы

У некоторых растений, растущих в жарких засушливых районах, синтезу глюкозы по механизму цикла Кальвина предшествуют дополнительные этапы, в ходе которых СО₂ предварительно фиксируется в форме четырехуглеродного соединения (С₄-путь) и лишь затем включается в 3-фосфоглицерат (С₃-путь). Это так называемые «С₄-растения», анатомическое строение листьев которых отличается от «С₃-растений» и первичным продуктом фиксации СО₂ у которых является 3-фосфоглицерат. У С₄-растений в клетках мезофилла листа нет фермента рибулозо-1,5-дифосфаткарбоксилазы и фиксация СО₂ происходит путем карбоксилирования фосфоенолпирувата.

Механизм С₄-пути. Ниже приведены реакции этого механизма.

1. Карбоксилирование фосфоенолпирувата в мезофильных клетках листа катализируется ферментом **фосфоенолпируваткарбоксилазой** (ФЕПК), который отсутствует в животных тканях:

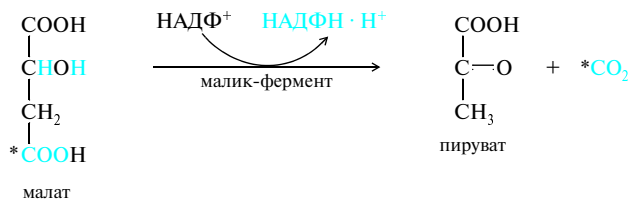


2. Восстановление оксалоацетата НАДФН-зависимой малатдегидрогеназой с образованием малата. Химизм этой реакции приведен в гл. 20:



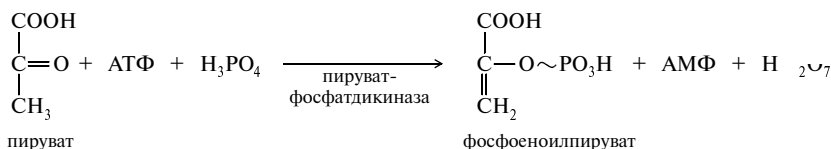
Малат, образовавшийся в клетках мезофилла и содержащий фиксированную СО₂, транспортируется в клетки обкладки по особым каналам, связывающим эти два типа клеток.

3. Декарбоксилирование малата под действием малик-фермента до пирувата и CO_2 :



Таким образом, в клетках концентрация CO_2 возрастает в 10—60 раз и создаются условия к фиксации CO_2 по C_3 -пути, т. е. под действием рибулозо-1,5-дифосфаткарбоксилазы CO_2 включается в процесс синтеза глюкозы в виде карбоксильной группы 3-фосфоглицерата уже в хлоропластах клеток оболочки сосудистых пучков.

4. Пируват транспортируется обратно в клетки мезофилла, где превращается в фосфоеноилпируват при действии пируватфосфатдикиназы:



В данной реакции молекула АТФ превращается в АМФ и одновременно фосфорилирует две молекулы: пирувата с образованием фосфоеноилпирувата и фосфата с образованием пирофосфата.

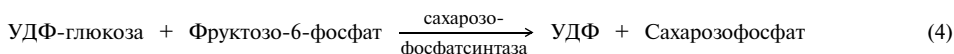
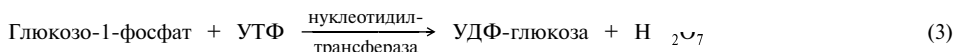
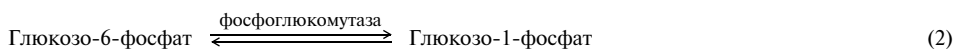
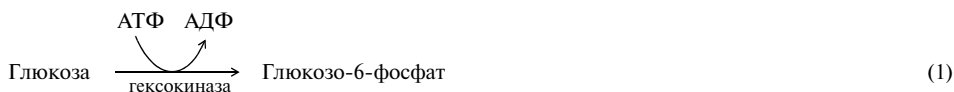
Значение C_4 -пути. В клетках листьев тропических растений во избежание больших потерь воды периодически происходит закрывание устьиц, что уменьшает поступление в клетки обкладки CO_2 . Фермент фосфоеноилпируваткарбоксилаза обладает высоким сродством к CO_2 и обеспечивает его фиксацию и резервирование в виде малата. Декарбоксилирование последнего обеспечивает концентрацию CO_2 , необходимую для достижения максимальной активности рибулозо-1,5-дифосфаткарбоксилазы.

16.5.2. Синтез сахарозы

Глюкоза, образовавшаяся в процессе фотосинтеза, служит предшественником для синтеза типичных растительных углеводов — сахарозы, крахмала, целлюлозы.

Биосинтез олиго- и полисахаридов относится к эндергоническим реакциям и для замыкания одной гликозидной связи требуется около 20 кДж энергии, а для сахарозы — даже около 30 кДж. Поэтому, как и в животных тканях, в реакцию синтеза вступают не свободные моносахариды, а их производные фосфорные эфиры сахаров, обладающие достаточно высокой свободной энергией эфирной связи (~15—20 кДж/моль). Донорами гликозильных остатков для синтеза полисахаридов являются нуклеозиддифосфаты: УДФ-глюкоза, АДФ-глюкоза, ГДФ-глюкоза и др. Свободная энергия связи между гликозильными остатками и нуклеозиддифосфатами относительно высокая (~30 кДж/моль), и, следовательно, реакции синтеза полисахаридов носят характер замещения, переноса, а не присоединения молекул.

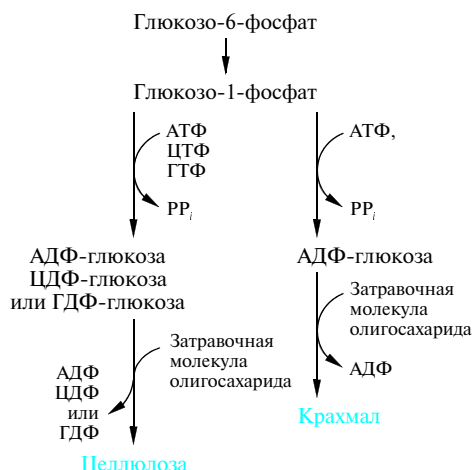
В хлорофиллоносных тканях биосинтез сахарозы осуществляется по следующей схеме:



Сахароза является главной транспортной формой углеводов в растениях. Она образуется во время фотосинтеза в листьях, затем поступает в «капилляры» растений — *ситовидные трубки*; вслед за ней под действием осмоса в них поступает вода. Вместе с током воды сахароза транспортируется вниз к корням.

16.5.3. Синтез крахмала и целлюлозы

Оба полимера — крахмал и целлюлоза — образуются из D-глюкозы, переносчиками которой в зависимости от вида растений при синтезе целлюлозы являются АДФ, ГДФ или ЦДФ; при синтезе крахмала переносчиком гликозильных остатков чаще всего является АДФ. В целлюлозе мономерные звенья соединены $\beta(1 \rightarrow 4)$ -гликозидными связями, а в главных цепях крахмала (амилоза) — $\alpha(1 \rightarrow 4)$ -гликозидными связями. Акцепторами гликозильных остатков, переносимых нуклеозиддифосфатами, являются затравочные олигосахариды, состоящие из четырех и более мономерных единиц. Схематически процессы биосинтеза крахмала и целлюлозы из фосфорилированной глюкозы представлены ниже:



17.1. Общая характеристика

Углеводы — важный класс природных веществ — встречаются повсеместно в растительных, животных и бактериальных организмах.

Углеводы — это не очень удачный термин, поскольку так называют большое число соединений, обладающих различной химической структурой и биологическими функциями. Более 100 лет назад этим термином было предложено называть природные соединения, состав которых соответствовал формуле $(\text{CH}_2\text{O})_n$, т. е. гидраты углерода. По мере открытия новых углеводов оказалось, что не все они соответствуют этой формуле, а некоторые представители других классов обладают такой же формулой, например уксусная кислота. Основоположником учения о химии углеводов является немецкий ученый Э. Фишер, первым установивший во второй половине XIX в. структуру нескольких моносахаров. Большой вклад в развитие учения об углеводах внесли отечественные ученые А. М. Бутлеров, А. А. Колли, Н. Н. Кочетков и др.

Структурная химия углеводов подробно излагается в курсах органической химии, в настоящем учебнике приведены лишь краткие сведения о структуре и физико-химических свойствах углеводов, особенно важных для последующего изложения курса биохимии.

Углеводы включают соединения, начиная от низкомолекулярных, содержащих всего несколько атомов углерода, до веществ, молекулярная масса которых достигает нескольких миллионов. Их делят на три класса в зависимости от числа остатков сахаров: моносахариды, олигосахариды и полисахариды.

Моносахариды, или *простые сахара*, содержат только одну структурную единицу. Моносахариды — это полигидроксиальдегиды или полигидроксикетоны.

Олигосахариды состоят из нескольких (от 2 до 10) остатков моносахаридов, соединенных *O*-гликозидными связями.

Полисахариды являются высокомолекулярными веществами, состоящими из остатков моносахаридов, соединенных *O*-гликозидными связями, со степенью полимеризации выше 10.

17.2. Функции углеводов

В биосфере на долю углеводов приходится больше, чем всех других органических соединений вместе взятых. В растениях они составляют 80—90% из расчета на сухое вещество; в животном организме на их долю приходится 2% массы тела. Однако значение углеводов велико для всех видов живых организмов.

Для большинства организмов природные углеводы выполняют две основные функции:

- являются источником углерода, который необходим для синтеза белков, нуклеиновых кислот, липидов и др.;

- обеспечивают до 70% потребности организма в энергии. При окислении 1 г углеводов выделяется $\approx 16,9$ кДж энергии.

Другими функциями углеводов являются следующие.

- Резервная. Крахмал и гликоген представляют собой форму хранения питательных веществ, выполняя функцию временного депо глюкозы.

- Структурная. Целлюлоза и другие полисахариды растений образуют прочный остов; в комплексе с белками и липидами они входят в состав биомембран всех клеток.

- Защитная. Кислые гетерополисахариды выполняют роль биологического смазочного материала, выстилают трущиеся поверхности суставов, слизистый пищеварительных путей, носа, бронхов, трахеи и др.

- Особое значение имеет специфическая функция углеводов — участие в образовании гибридных (комплексных) молекул, а именно гликопротеинов и гликолипидов. Так, гликопротеины служат маркерами в процессах узнавания молекулами и клетками друг друга, определяют антигенную специфичность, обуславливают различия групп крови, выполняют рецепторную, каталитическую и другие функции.

17.3. Моносахариды: строение, номенклатура

Существует несколько принципов классификации моносахаридов:

- по числу углеродных атомов, входящих в состав молекулы: триозы, тетрозы, пентозы, гексозы, гептозы, октозы и т. д.;

- по характеру карбонильной группы: альдозы и кетозы, в зависимости от наличия в них альдегидной или кетонной групп;

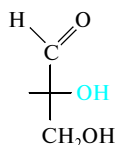
- по наличию других групп, кроме карбонильной и гидроксильной:

- нейтральные сахара, содержащие только карбонильную и гидроксильную группы;

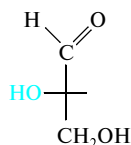
- аминосахара, содержащие вместо гидроксигруппы аминогруппу, обуславливающую основность этих веществ;

- кислые сахара, содержащие помимо карбонильных и гидроксигрупп еще и карбоксильную.

В основу номенклатуры сахаров положены тривиальные названия моносахаридов состава $C_nH_{2n}O_n$ с прямой цепью углеродных атомов: ксилоза, рибоза, глюкоза, фруктоза и др. Наименованиям кетоз придается окончание **-улоза**, например кетоза C_5 -пентулоза. Всем моносахарам присуща конфигурационная (оптическая) изомерия, т. е. они существуют в двух энантиомерных формах: D и L. Принадлежность моносахаридов к D- или L-ряду определяется по расположению OH-группы у последнего (считая от альдегидной или кетогруппы) хирального атома углерода. В качестве стандарта сравнения конфигурации асимметрического атома углерода предложено использовать изомер глицеринового альдегида. Названный D-глицериновым альдегидом изомер вращает плоскость поляризованного света вправо, а его зеркальное отражение антипод — L-глицериновый альдегид — влево:



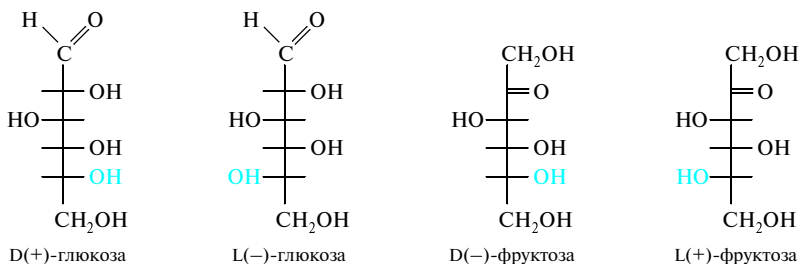
D-глицериновый альдегид



L-глицериновый альдегид

Все моносахариды, которые теоретически могут быть получены из D-глицеринового альдегида путем последовательного удлинения его цепи со стороны альдегидной группы, называют D-сахарами, независимо от конфигураций

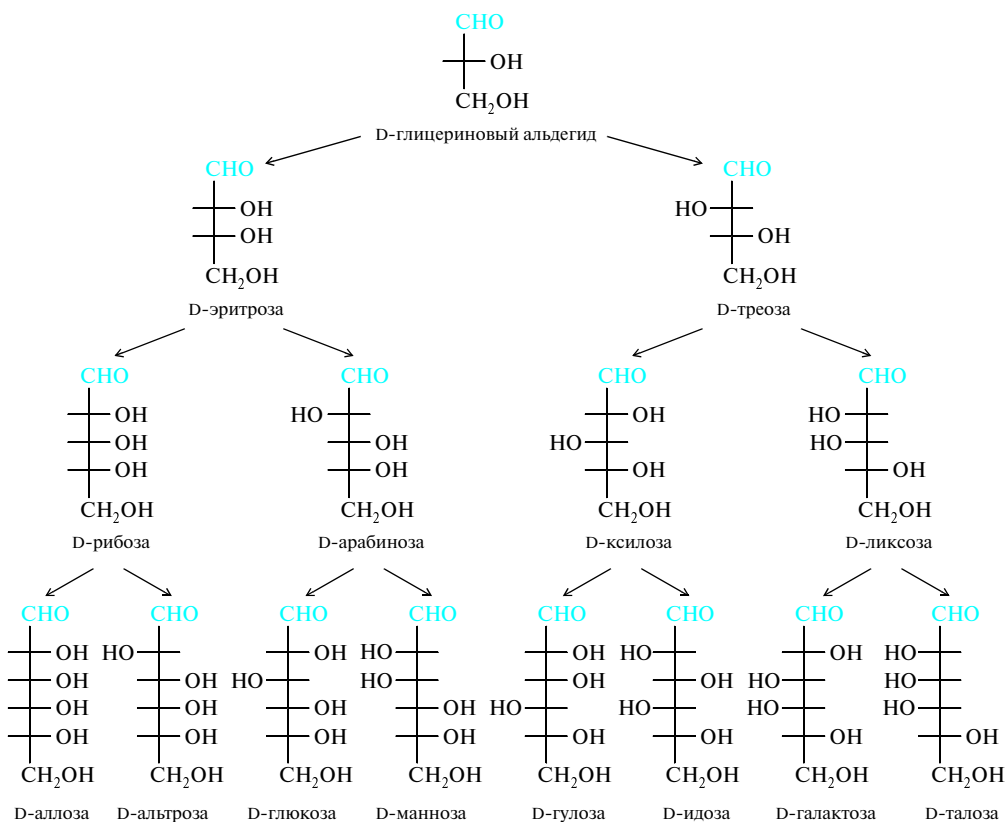
остальных атомов углерода, а полученные таким же способом из L-глицеринового альдегида — L-сахарами:

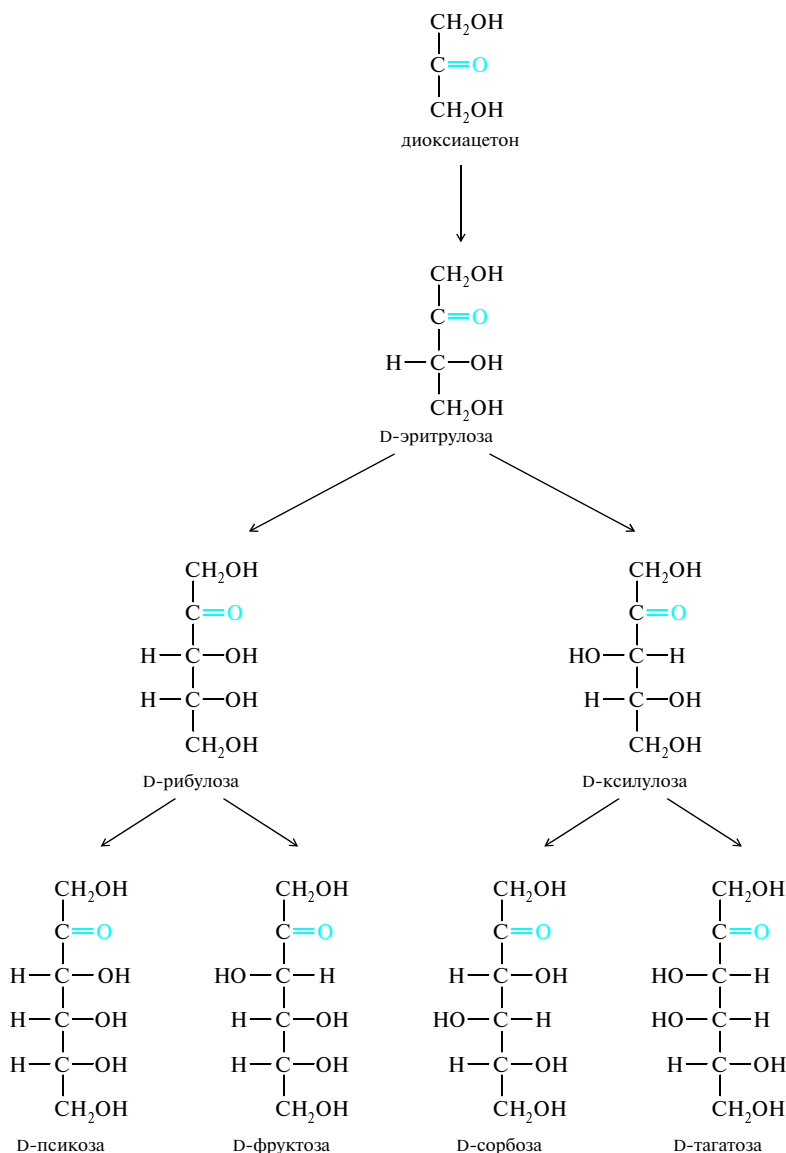


Некоторые моносахариды, например фруктоза, отнесенные к D-ряду, являются левовращающими, а представители L-ряда — правовращающими. Чтобы указать и принадлежность сахара к D- или L-ряду, и направление вращения плоскости поляризации, после символов D или L перед названием моносахарида в скобках ставят знак (+) или (-), обозначающий соответственно правое или левое вращение.

В живых организмах моносахариды присутствуют преимущественно в D-конфигурации, которую называют природной. Исключение составляет L-арабиноза бактерий, L-рамноза и L-сорбоза растений.

Ниже приведены стереохимические соотношения D-альдоз и D-кетоз, содержащих от C-3 до C-6 углеродных атомов:

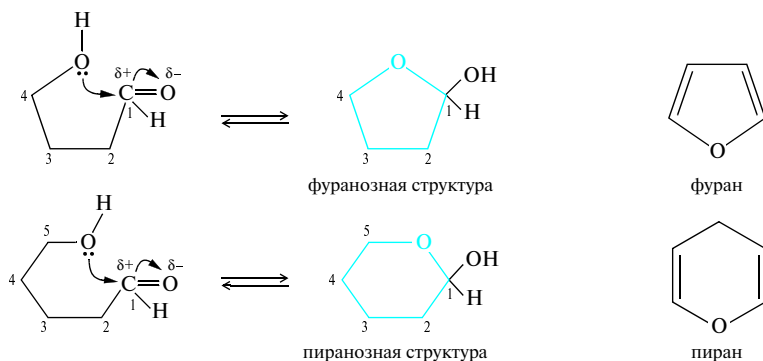




У альдоз, начиная с $n = 4$, и кетоз — с $n = 5$ имеется несколько хиральных центров, т. е. существует ряд диастереомеров, представляющих собой разные по химическим свойствам соединения, причем каждый из диастереомеров может существовать в L- и D- конфигурации. Так, число стереомеров альдогексоз с четырьмя хиральными центрами равно 2^4 , т. е. шестнадцать. Последние можно сгруппировать в восемь пар энантиомеров в D- и L-изомерах, имеющих одинаковые химические и физические свойства и отличающихся только направлением вращения плоскости поляризованного света.

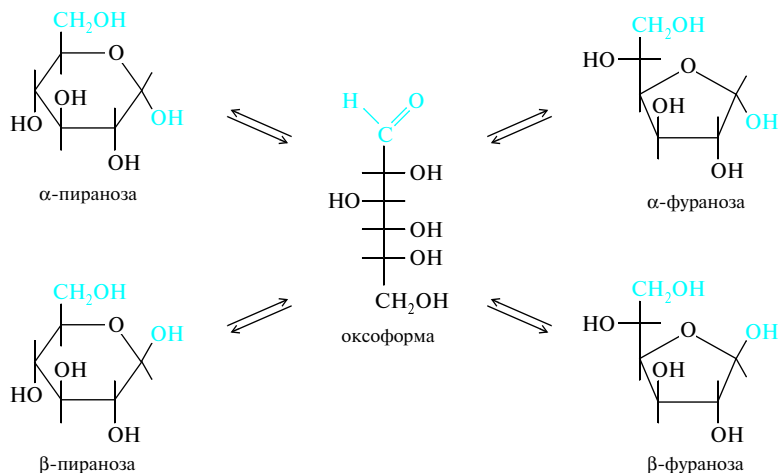
Карбонильные группы моносахаридов с длиной цепи $n = 5$ и более могут вступать во взаимодействие со спиртовыми группами с образованием *циклической полуацетали*, или *полукетали*, которые называются соответственно *фура-*

нозными или пиранозными по аналогии с известными соединениями — фураном или пираном:



При этом в молекуле пентоз или гексоз появляется еще один хиральный центр и новая пара изомеров — α - и β -аномеры, отличающиеся расположением гидроксильной группы при полуацетальном атоме углерода относительно плоскости кольца: у α -аномера гидроксильная и CH_2OH -группы находятся по разные плоскости кольца, а у β -аномера — по одну его сторону. Таким образом, гексоза образует четыре циклические формы (α - и β -фуранозную и α - и β -пиранозную), находящиеся в растворе в динамическом равновесии с ациклической формой. В водном растворе все эти формы способны взаимно превращаться друг в друга через оксоформу (нециклическую форму) глюкозы, количество которой составляет менее 1%.

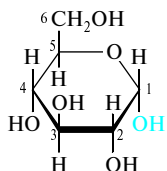
Ниже приведены взаимопревращения различных форм глюкозы в водном растворе:



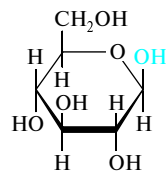
Пиранозные формы гексоз и пентоз значительно более устойчивы, чем фуранозные, поэтому в растворе всегда существенно преобладают первые. α - и β -Формы моносахаридов, обладающие разной величиной оптического вращения, в процессе растворения в воде взаимно переходят друг в друга, поэтому удельное вращение $[\alpha]_D$ в свежеприготовленных растворах моносахаридов изменяется в течение времени до определенной величины. Это явление получило название *мутаротации* (от лат. *multirotatia* — много вращений). Так,

при растворении в воде α -D-глюкозы ($[\alpha]_D^{20} = +112,2^\circ$) и β -D-глюкозы ($[\alpha]_D^{20} = +18,7^\circ$) удельное вращение меняется до установления равновесия (36% α -формы, 64% β -формы и следы нециклической формы), в момент которого оно достигает $+52,7^\circ$.

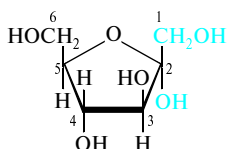
В настоящее время для написания структурных формул моносахаридов чаще всего используются проекционные формулы, предложенные У. Хеурсом. Следует помнить, что при написании структурных формул, по Хеурсу, гидроксильная группа при C_1 будет расположена ниже плоскости кольца в α -форме и выше в β -форме:



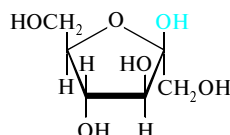
α -D-глюкопираноза



β -D-глюкопираноза



α -D-фруктофураноза



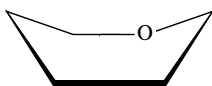
β -D-фруктофураноза

Однако эти формулы не отражают пространственного расположения атомов в молекуле сахаров. В природе пиранозное кольцо не является плоским и может возникнуть большое число конформаций: шесть в форме «лодки» и две в форме «кресла». Форма «кресла» является более устойчивой, и, по-видимому, она преобладает в большей части природных углеводов.

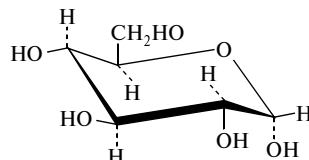
Ниже представлены две изомерные формы пиранозного кольца, изображенные с помощью конформационных формул («лодка» и «кресло»), а также формула α -D-глюкопиранозы, имеющая конформацию кресла:



«кресло»



«лодка»



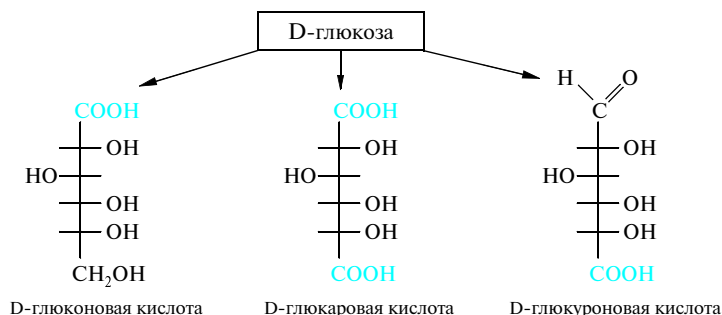
α -D-глюкопираноза

17.3.1. Физико-химические свойства моносахаридов

Сахара — полифункциональные соединения. В растворах сахаров можно обнаружить карбонильную группу, спиртовой и полуацетальный гидроксилы. Каждая из этих групп характеризуется определенными химическими реакциями, но все они вступают в реакции окисления—восстановления.

Окисление сахаров. При окислении альдоз образуется три класса кислот: альдоновые, альдаровые и альдуоновые. Альдоновые кислоты образуются при действии слабых окислителей или ферментативно при окислении альдегидной группы в положении С-1 в карбоксильную группу.

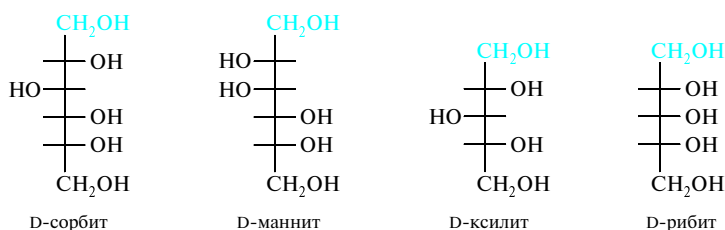
Кислоты, образующиеся при окислении D-глюкозы, представлены на следующей схеме:



Так, при окислении C-1 глюкозы образуется глюконовая кислота, фосфорилированная форма которой является промежуточным метаболитом превращения глюкозы по механизму пентозофосфатного пути (гл. 18). При действии более сильных реагентов окисляется как альдегидная, так и первичная спиртовая группа у последнего углеродного атома и образуются дикарбоновые, или альдаровые, кислоты. Продуктами окисления D-глюкозы являются D-глюкаровая, или сахарная, кислота, а D-галактозы — D-галактаровая, или слизевая; большого биологического значения кислоты этого класса не имеют.

Альдуруновые кислоты образуются при окислении только первичной спиртовой группы у C-6, а альдегидная группа остается неокисленной. В этом случае из D-глюкозы образуется D-глюкуроновая кислота, а из D-галактозы — D-галактуруновая. Уроновые кислоты имеют большое биологическое значение. Так, многие из них входят в состав полисахаридов, а D-глюкуроновая кислота принимает участие в организме в обезвреживании билирубина (гл. 25) и ряда ксенобиотиков, в том числе лекарственных веществ (гл. 32).

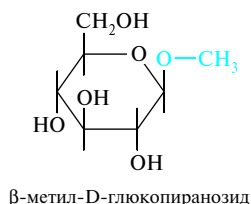
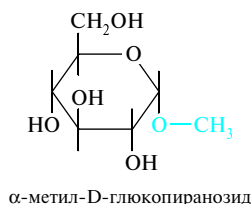
Восстановление моносахаридов. Подобно всем карбонильным соединениям, моносахариды легко восстанавливаются с образованием полиспиртов. Например, из D-глюкозы образуется спирт D-сорбит, из D-маннозы — D-маннит, из D-ксилозы — ксилит, из D-рибозы — D-рибит:



Восстановление моносахаридов может осуществляться не только при действии восстановителей (газообразный водород, амальгама натрия и др.), но также в организме ферментативным путем. Образующиеся спирты имеют важное биологическое значение. Так, спирт рибитол входит в состав витамина B₂ (рибофлавин) и ряда коферментов.

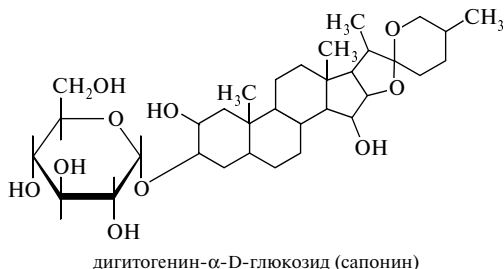
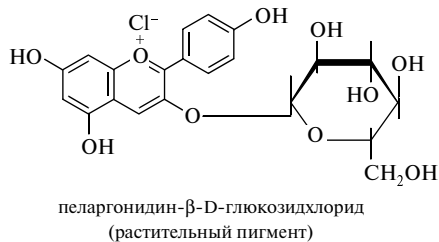
Возможно также восстановление одной из гидроксигрупп моносахаридов. Такие сахара называют *дезоксисахарами*. Примером их является D-2-дезоксирiboза, которая содержится в свободных дезоксирибонуклеотидах и молекуле ДНК.

Производные моносахаридов. Исключительно важной реакцией моносахаридов является образование *гликозидов* при взаимодействии активного полуацетального или полукетального гидроксила с гидроксильной группой другого соединения. Так, D-глюкоза дает с метанолом α - и β -метил-D-глюкопиранозиды.



Гликозиды метилированных сахаров, благодаря летучести в высоком вакууме, используются для газожидкостной хроматографии и масс-спектрометрии. Неуглеводная часть молекулы, т. е. группа, замещающая протон гидроксильной группы, называется *агликоном*.

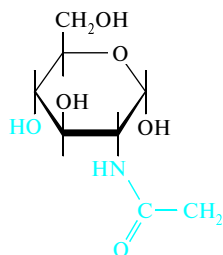
Соединения, имеющие одну или несколько гликозидных связей, имеют большое значение в биохимии. Это основная связь, с помощью которой образуются олиго- и полисахариды. Таким образом, гликозидная связь в химии углеводов имеет такое же значение, какое в белковой химии имеет пептидная связь, а в химии нуклеиновых кислот — фосфодиэфирная. В природе встречается большое разнообразие гликозидов. Многие из них применяют в пищевой промышленности и медицине:



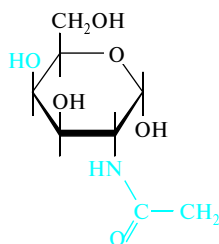
Важным классом гликозидов являются *N*-гликозиды, в которых связь с агликоном осуществляется через азот, а не кислород. Посредством такой связи D-рибоза и 2-дезоксид-рибоза соединяются с азотистыми основаниями в молекулах РНК, ДНК, АТФ, НАД и др. (гл. 14, 15).

О-Ацильные производные моносахаридов. При замещении атомов водорода гидроксильных групп углеводов остатками кислот получаются вещества типа сложных эфиров. Особое значение в процессах метаболизма в организме имеют моно- и дифосфорнокислые эфиры моносахаридов как промежуточные метаболиты катаболизма, биосинтеза и взаимопревращения углеводов. При образовании фосфорных эфиров (донор фосфорильной группы АТФ) резко возрастает реакционная способность моносахаридов, их биохимическая активность.

Аминосакхара. В этих соединениях гидроксильная группа у одного из углеродных атомов пиранозного кольца замещена аминогруппой. Широко распространены в растениях и животных α -D-глюкозамин и α -D-галактозамин, которые обычно встречаются в виде *N*-ацетильных производных:

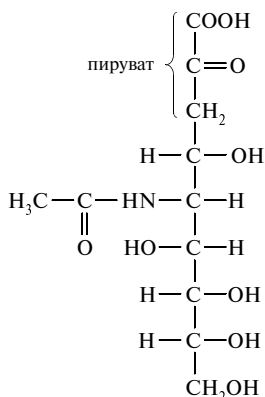


N-ацетил- α -D-глюкозамин

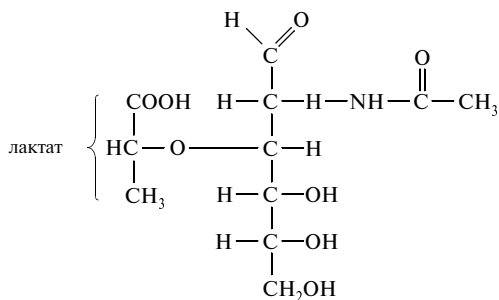


N-ацетил- α -D-галактозамин

Аминосакхара и их производные входят в состав ряда структурных полисахаридов. Так, *N*-ацетилмурановая кислота входит в состав клеточных стенок бактерий, а *N*-ацетилнейраминовая кислота — в состав плазматических мембран животных клеток. Все *O*- и *N*-ацильные производные нейраминовой кислоты имеют общее название — сиаловые кислоты.



N-ацетилнейраминовая кислота,
или сиаловая кислота



N-ацетилмурановая кислота

17.4. Олигосахариды

Олигосахариды классифицируют:

- в зависимости от числа моносахаридных фрагментов, входящих в олигосахариды: дисахариды, трисахариды, тетрасахариды и т. д.;

- по составу моносахаридных остатков:

- гомоолигосахариды, состоящие из остатков одного вида моносахарида;

- гетероолигосахариды, состоящие из остатков разных сахаров;

- в зависимости от порядка соединения мономеров:

- линейные и разветвленные;

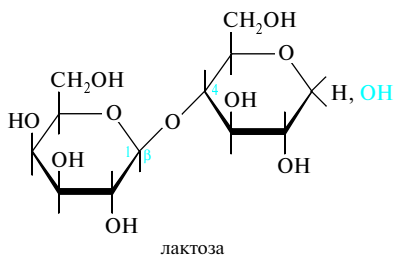
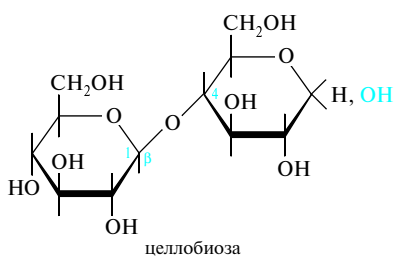
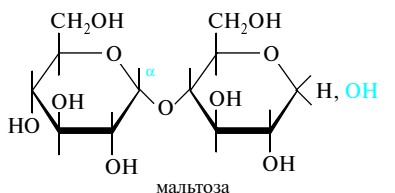
- восстанавливающие и невосстанавливающие.

Из олигосахаридов в природе наиболее широко распространены дисахариды.

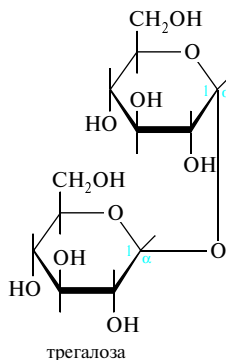
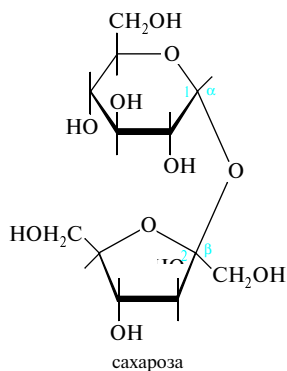
У *восстанавливающих дисахаридов* связь между мономерами осуществляется за счет спиртового и полуацетального гидроксильных. Таким образом, одно из моносахаридных звеньев сохраняет свободный полуацетальный гидроксил, который определяет восстанавливающие свойства и все реакции, свойственные моносахаридам.

У *невосстанавливающих дисахаридов* гликозидная связь образована за счет полуацетальных гидроксильных обоих моносахаридов. Они не содержат свободного полуацетального гидроксильного и не проявляют характерных реакций альдегидной группы. Например:

Восстанавливающие дисахариды



Невосстанавливающие дисахариды



Современная номенклатура олигосахаридов основана на известных конфигурациях моносахаридов. Ниже приведены тривиальные названия дисахаридов и их наименования по номенклатуре, в соответствии с которой для восстанавливающих дисахаридов за основу принимается моносахаридный остаток со свободным полуацетальным гидроксилом, а все связанные с ним звенья считаются заместителями; у невосстанавливающих сахаров все соединение рассматривается как гликозид: мальтоза-4-*O*-(α -D-глюкопиранозил)- α (β)-D-глюкопираноза; целлобиоза — 4-*O*-(β -D-глюкопиранозил)- α (β)-глюкопираноза; лактоза — 4-*O*-(β -D-глюкопиранозил)- α (β)-глюкопираноза; сахароза- α -D-глюкопиранозил- β -D-фруктофуранозид; трегалоза- α -D-глюкопиранозил- α -D-глюкопиранозид.

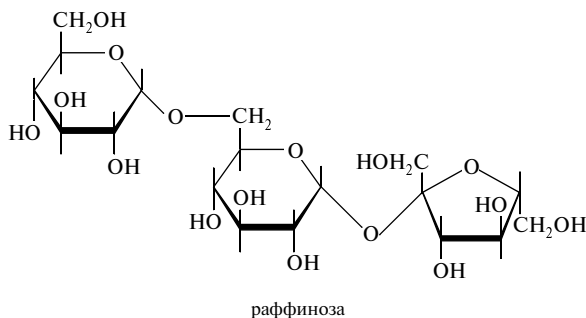
Кроме приведенной выше, имеются другие принципы построения номенклатуры олигосахаридов. В настоящее время широко используются сокращенные записи названия сахаров, исходя из трехбуквенной символики обозначений моносахаридов.

Из дисахаридов, представленных ранее, наиболее часто в природе встречается мальтоза, лактоза и сахароза.

Мальтоза, состоящая из двух остатков D-глюкозы, образуется из крахмала при действии на него фермента амилазы, расщепляющего связь α (1 \rightarrow 4). Целлобиоза также состоит из двух остатков глюкозы, но они соединены друг с другом связью β (1 \rightarrow 4).

Дисахарид лактоза, при гидролизе которого образуется D-галактоза и D-глюкоза, присутствует только в молоке. В процессе переваривания пищи лактоза гидролизуеться в результате воздействия фермента лактазы, активность которого очень велика у грудных детей, у большинства же взрослых людей лактазная активность кишечника очень низка.

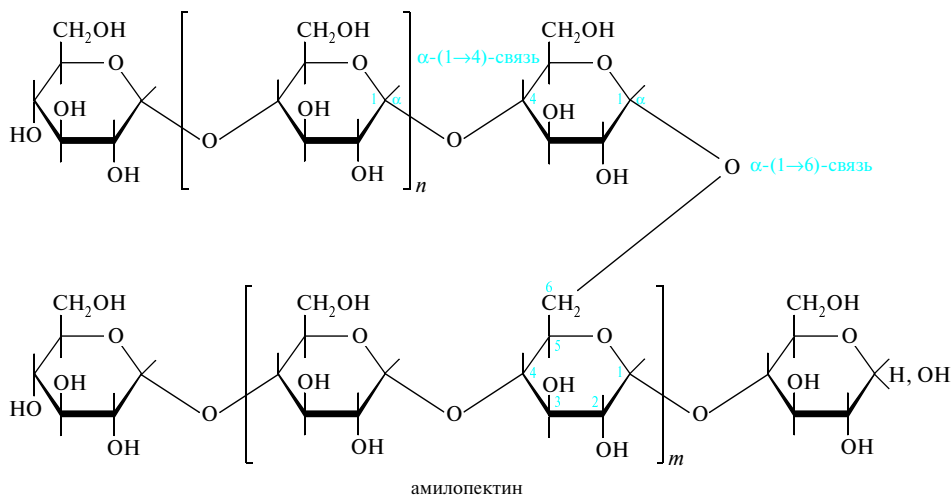
Сахарозу, или обычный пищевой сахар, синтезируют многие растения, у высших животных она не образуется. Животные могут усваивать сахарозу лишь после ее гидролиза ферментом сахаразой, катализирующим ее расщепление на D-глюкозу и D-фруктозу, которые легко проникают в кровоток. Среди природных трисахаридов важное значение имеют немногие. Это раффиноза, состоящая из остатков D-фруктозы, D-галактозы и D-глюкозы, и генцианоза, состоящая из двух остатков D-глюкозы и одного остатка — D-фруктозы.



Эти сахара входят в состав растений, которые вообще отличаются большим разнообразием состава олигосахаридов, чем животные ткани.



козидными связями, а в точках ветвления имеются дополнительные α -(1 \rightarrow 6)-связи:



Амилоза и амилопектин способны образовывать окрашенные комплексы с иодом: первый полисахарид даст комплекс синего цвета, второй — красного. Молекулярная масса крахмала колеблется в широких пределах, возможно, это отчасти объясняется деградацией в процессе выделения и очистки. Обычно молекулярная масса крахмала — порядка нескольких тысяч килодальтон (рис. 17.1).

Гликоген — разветвленный полисахарид животных организмов, а также некоторых бактерий и дрожжей. Структура гликогена подобна амилопектину — α -(1 \rightarrow 4)-глюкан с α -(1 \rightarrow 6)-связями в точках ветвления. Гликоген отличается от амилопектина лишь большей разветвленностью и более жесткой упаковкой молекулы. Молекулярная масса гликогена колеблется от 10^2 до 10^5 kDa.

В желудочно-кишечном тракте гликоген и крахмал расщепляются α -амилазами слюны и поджелудочной железы, гидролизующими α -(1 \rightarrow 4)-связи в расположенных снаружи ветвях гликогена и амилопектина до D-глюкозы.

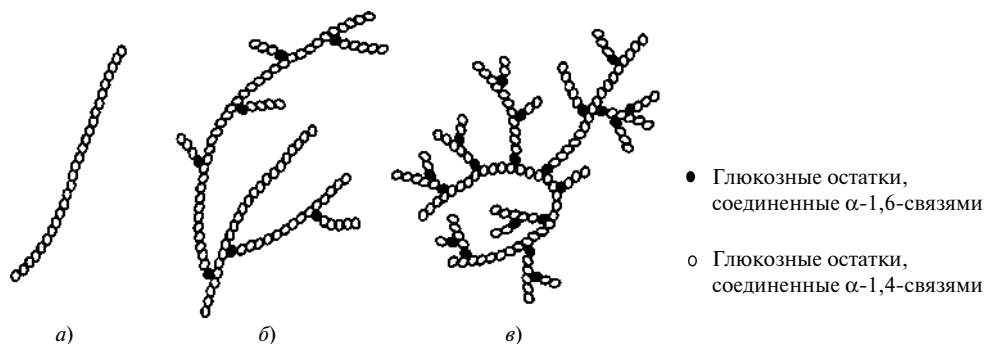


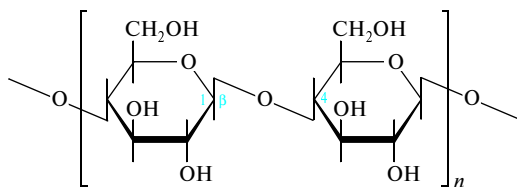
Рис. 17.1. Структура молекул амилозы (а), амилопектина (б) и гликогена (в)

Связи α -(1 \rightarrow 6) в точках ветвления гидролизует специальный фермент — α -(1 \rightarrow 6)-гликозидаза. В клетках животных гликоген расщепляется под действием специфического фермента, а именно гликогенфосфорилазы, которая расщепляет гликоген с образованием не глюкозы, а глюкозо-1-фосфата (гл. 18).

17.5.2. Структурные полисахариды

Структурные гомополисахариды. К структурным гомополисахаридам относится целлюлоза и хитин.

Целлюлоза — наиболее распространенный в природе структурный полисахарид — состоит из остатков D-глюкозы, соединенных друг с другом β -(1 \rightarrow 4)-связью:



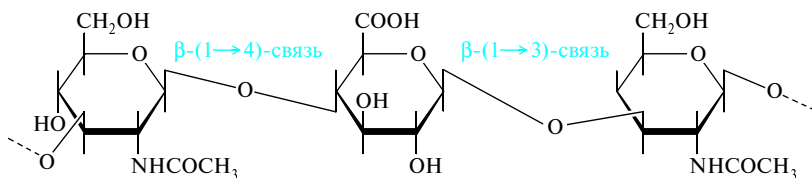
целлюлоза, $n \geq 10\,000$

В кишечнике позвоночных нет фермента, способного гидролизовать β -(1 \rightarrow 4)-гликозидные связи. Следовательно, ее D-глюкозные остатки не могут служить пищей для большинства высших организмов. Ее источником является древесина, содержащая 40—50% целлюлозы. Полисахарид нерастворим в воде и других растворителях.

Хитин — другой важный структурный гомополисахарид — представляет собой линейный полимер N-ацетилглюкозамина, в котором пиранозные формы связаны между собой β -(1 \rightarrow 4)-гликозидными связями. По своим свойствам хитин сходен с целлюлозой. Он входит в состав кутикулы или наружного скелета членистоногих и некоторых других беспозвоночных животных, а также клеточных мембран грибов. Таким образом, хитин выполняет механическую, опорную и защитную функции в различных организмах.

Структурные гетерополисахариды. К структурным гетерополисахаридам относятся гиалуроновая кислота, хондроитинсульфаты, кератосульфаты. Поскольку водные растворы этих соединений гелеобразны, их называют мукополисахаридами (от лат. *mucos* — слизь).

Гиалуроновая кислота состоит из эквимольных количеств D-глюкуроновой кислоты и N-ацетил-D-глюкозамина, которые чередуются друг с другом в молекуле полисахарида. Аминосахар соединен с кислотой β -(1 \rightarrow 4)-связью, а кислота — с аминосахаром β -(1 \rightarrow 3)-связью. Таким образом, гиалуроновая кислота имеет следующую структуру:

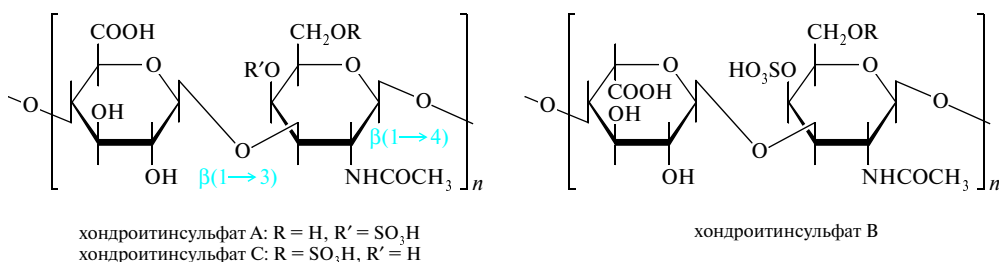


гиалуроновая кислота

Этот полисахарид распространен весьма широко. Он присутствует в соединительных тканях животных, а также в стекловидном теле глаза и в синовиальной жидкости. Кроме того, он синтезируется также различными штаммами бактерий. Обычно гиалуроновая кислота бывает связана с белками; комплексы гиалуроновая кислота — белок выделены из природных источников. Предполагают, что функция гиалуроновой кислоты заключается в том, чтобы связывать воду в интерстициальных пространствах и удерживать клетки вместе в желеподобном матриксе. Кроме того, она придает синовиальной жидкости смазочные свойства и способность смягчать удары.

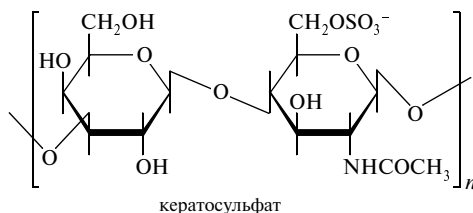
Молекулярная масса гиалуроновых кислот, выделенных из разных источников, сильно колеблется — от нескольких сотен до нескольких тысяч kDa.

Хондроитинсульфаты. К ним относится, в частности, **хондроитин** — полисахарид, сходный с гиалуровой кислотой, в котором D-глюкозамин замещен D-галактозамином, является исходным соединением для трех полисахаридов, широко распространенных в качестве компонентов соединительной ткани, а именно для хондроитинсульфатов А, В и С. Эти три вещества имеют следующую структуру:



Хондроитинсульфаты А и С состоят из эквимольных количеств D-глюкуроновой кислоты, N-ацетил-D-галактозамина и сульфата. Их структуры различаются только по положению сульфатных остатков. В хондроитинсульфате β-D-глюкуроновая кислота замещена на L-идуоновую кислоту. Во всех случаях гликозидные связи β-(1→3)- и β-(1→4)-типа чередуются между собой. Хондроитинсульфаты относятся к мукополисахаридам с относительно небольшими молекулами: их молекулярная масса лежит обычно в пределах от 50 до 100 kDa.

Кератосульфаты. Они сходны с хондроитинсульфатами как в структурном отношении, так и по своему распространению. Кератосульфат является одним из главных полисахаридов соединительной ткани; кроме того, он встречается и в некоторых других тканях. Кератосульфат состоит из чередующихся остатков D-галактозы и N-ацетил-D-глюкозамин-сульфата, соединенных между собой чередующимися связями β-(1→4)- и β-(1→3)-типа.

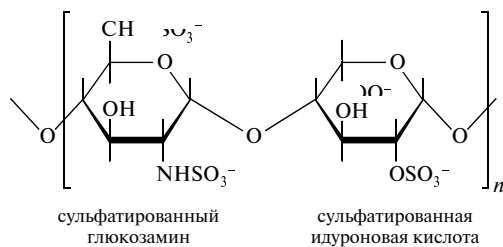


Прочие структурные гомо- и гетерополисахариды. У многих организмов для построения клеточных стенок и других структурных функций используется не целлюлоза или хитин, а другие полисахариды. Гомогликанами являются, например, глюкан (аубазидан), синтезируемый грибом *Aureobasidium pullulans*; маннан (родэксман), продуцируемый дрожжеподобными организмами рода *Rhodotorula*; глюкан (декстран), образуемый бактерией *Leuconostoc mesenteroides*.

К гетерополисахаридам относятся капсульные полисахариды дрожжевых организмов из рода *Cryptococcus*. В состав гетерополисахаридов входят остатки маннозы, галактозы, ксилозы, глюкуроновой кислоты.

Гепарин, открытый в 50-х гг. XX в., занимает среди гетерополисахаридов особое место. Было показано, что он обладает важными биологическими свойствами, в частности является антикоагулянтом. Однако биологические функции этого вещества до конца не изучены. Гепарин встречается главным образом в крови и лимфе млекопитающих, а также в органах, в которых содержатся тучные клетки, являющиеся, по-видимому, местом синтеза и хранения гепарина. Обычно гепарин прочно связан с белком, и для выделения его из природных источников приходится применять довольно жесткие методы.

Основной повторяющейся единицей в молекулах гепарина служит, вероятно, изображенный ниже дисахарид (хотя помимо показанных присутствуют и другие связи).



Молекулярная масса препаратов гепарина находится, как правило, в пределах 10—20 kDa.

Мы рассмотрели лишь немногие из полисахаридов. Полисахариды входят в состав группоспецифических веществ крови, являются веществами, определяющими антигенную специфичность бактериальных клеток, и обладают важным специфическим свойством — образовывать гликоконъюгаты — ковалентносвязанные молекулы углеводов с белками, липидами и другими веществами. К гликоконъюгатам относятся гликопротеины, протеоглики, гликолипиды, липоглики, гликолипопротеины, тейхоевые кислоты. Из них три последних группы обнаружены в клетках бактерий — грамотрицательных (липоглики, гликолипопротеины), а тейхоевая кислота — только грамположительных.

17.6. Практическое применение углеводов

Углеводы различной природы и их производные широко применяются в медицинской и фармацевтической практике. Глюкоза, сахароза, лактоза, крахмал с давних пор используются для приготовления различных лекарственных форм в аптечных и заводских условиях.

К группе кардиотонических средств относятся сердечные гликозиды, усиливающие сократимость миокарда. Например, дигитоксин — мощный стимулятор сердечной мышцы.

Некоторые антибиотики также относятся к гликозидам, например эритромицин, стрептомицин, пурамицин.

Все большее значение в медицине приобретают полисахариды и их производные. Многие из них повышают устойчивость организма к бактериальным и вирусным инфекциям, т. е. обладают иммуностимулирующим действием; препятствуют возникновению и развитию опухолей, действию рентгеновских лучей и т. д.

На основе бактериального полисахарида декстрана разработаны и нашли применение в медицине плазмозамещающие растворы — полиглюкин, реополиглюкин, рондекс, реоглюман.

Полисахариды используют в фармацевтической промышленности как основу для приготовления мазей, эмульсий, гелей.

Из биомассы ряда базидиальных грибов в Японии получают полисахариды *кориолан*, *лентипан*, *пахиман*, *шизофиллан*, которые используют для лечения некоторых онкологических заболеваний. В России разработано биотехнологическое производство экзополисахаридов **аубазидан** и **поллулан**, являющихся продуцентами гриба *Aureobasidium pullulans*. Аубазидан используется как вспомогательное средство для создания лекарственных форм, а поллулан нашел применение в пищевой промышленности.

Кроме перечисленных полисахаридов, изучены многие другие грибные углеводы, которые в перспективе могут быть рекомендованы к внедрению в производство.

Практическая деятельность на всей истории развития человечества связана с переработкой углеводсодержащего сырья: хлебопечение, брожение, изготовление бумаги, хлопчатобумажных и льняных тканей, ацетатного и вискозного шелка, бездымного пороха и др.

В практике биохимических лабораторий широко применяют карбоксиметилцеллюлозу и ДЭАЭ-целлюлозу, сефадексы — нерастворимые сшитые декстраны (глюканы), нашедшие применение в технике разделения различных полимерных веществ. Высокомолекулярный полисахарид агар-агар, содержащийся в некоторых морских водорослях, широко используется в микробиологии для приготовления твердых питательных сред, а в кондитерской промышленности для изготовления желе, пастилы, мармелада. В пищевой и кондитерской промышленности нашли применение такие природные гликозиды, как ванилин, синигрин, пеларганидин. Как вкусовая добавка в пищевой промышленности используется сорбит — продукт восстановления D-глюкозы. В настоящее время получило широкое распространение биотехнологическое производство **ксантана** — бактериального полисахарида для нефтедобывающей, пищевой, медицинской промышленности, сельского и лесного хозяйства.

Большой интерес для практики представляет микробный полисахарид **курдалан** (от англ. *curda* — коагулировать, уплотнять), применяемый в хлебопечении, пищевой, медицинской промышленности. Известны биотехнологические процессы получения из крахмала циклодекстринов, применяемых в качестве носителей для включения в них многих летучих и ароматизирующих вкусовых ингредиентов, а также лекарственных веществ.

18.1. Превращение углеводов в процессе пищеварения

Углеводы составляют около 60—70% от общей суммы калорий пищи человека, их основная масса представлена поли- и олигосахаридами. Углеводы пищи расщепляются в пищеварительном тракте до моносахаридов, которые всасываются через слизистую оболочку кишечника в кровь (рис. 18.1).

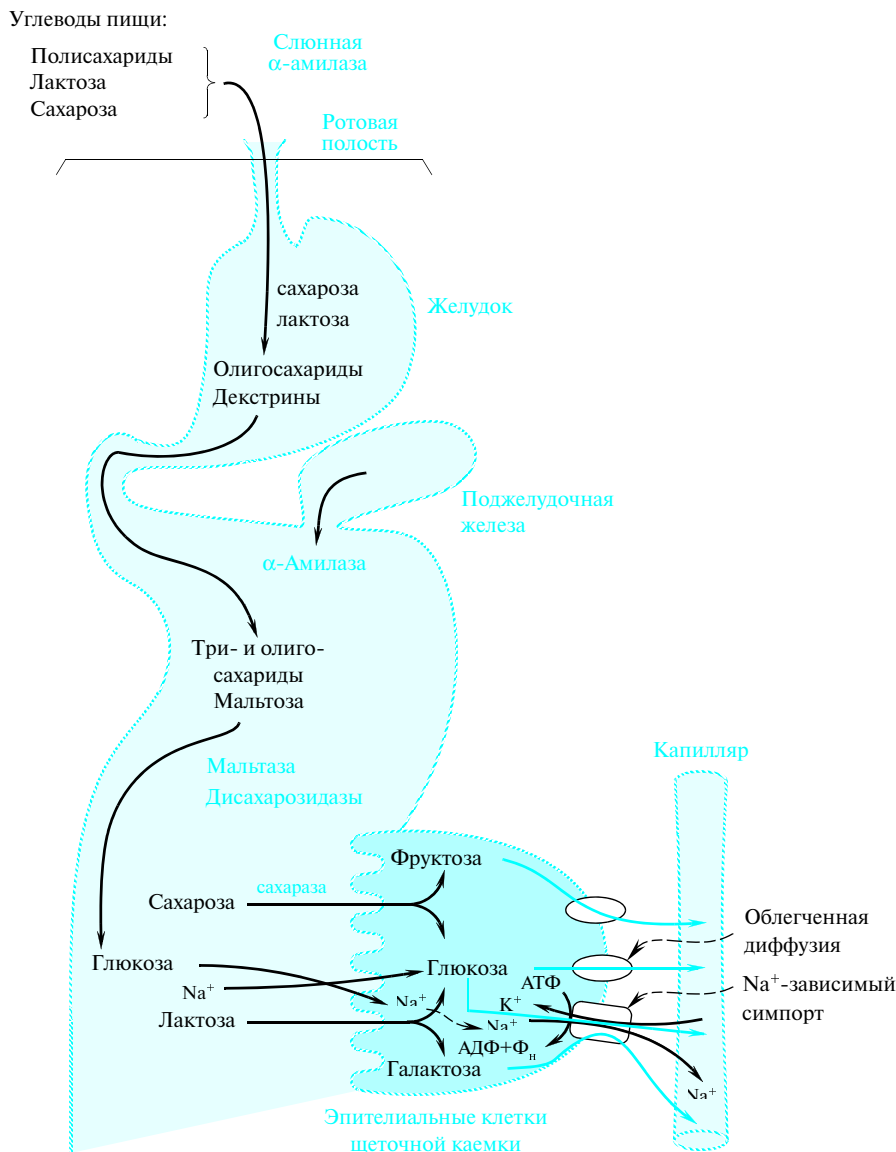


Рис. 18.1. Расщепление углеводов в желудочно-кишечном тракте. Транспорт глюкозы в кровь

Переваривание углеводов происходит при действии амилалитических ферментов (гликозидаз), катализирующих гидролиз гликозидных связей (рис. 18.2).

К ним относятся слюнная и панкреатическая α -амилаза, гидролизующая α -(1 \rightarrow 4)-гликозидные связи крахмала и гликогена; специфические дисахаридазы — мальтаза, изомальтаза, сахараза (инвертаза), лактаза, расщепляющие соответствующие дисахариды до моносахаридов. α -Амилаза не расщепляет (1 \rightarrow 6)- α -гликозидные связи, поэтому в амилопектине значительная часть молекулы остается нерасщепленной. Такой частично переваренный амилопектин называется декстрином, в тонком кишечнике он расщепляется ферментом амило- α -(1 \rightarrow 6)-глюкозидазой. Под действием этого фермента образуются ди- и трисахариды, атакуемые мальтазой (α -гликозидаза). В дисахариде изомальтозе глюкозные остатки также соединены α -1,6-гликозидной связью. Изомальтоза образуется при гидролизе амилопектина и гликогена из тех глюкозных остатков, которые в точках ветвления соединены дополнительно

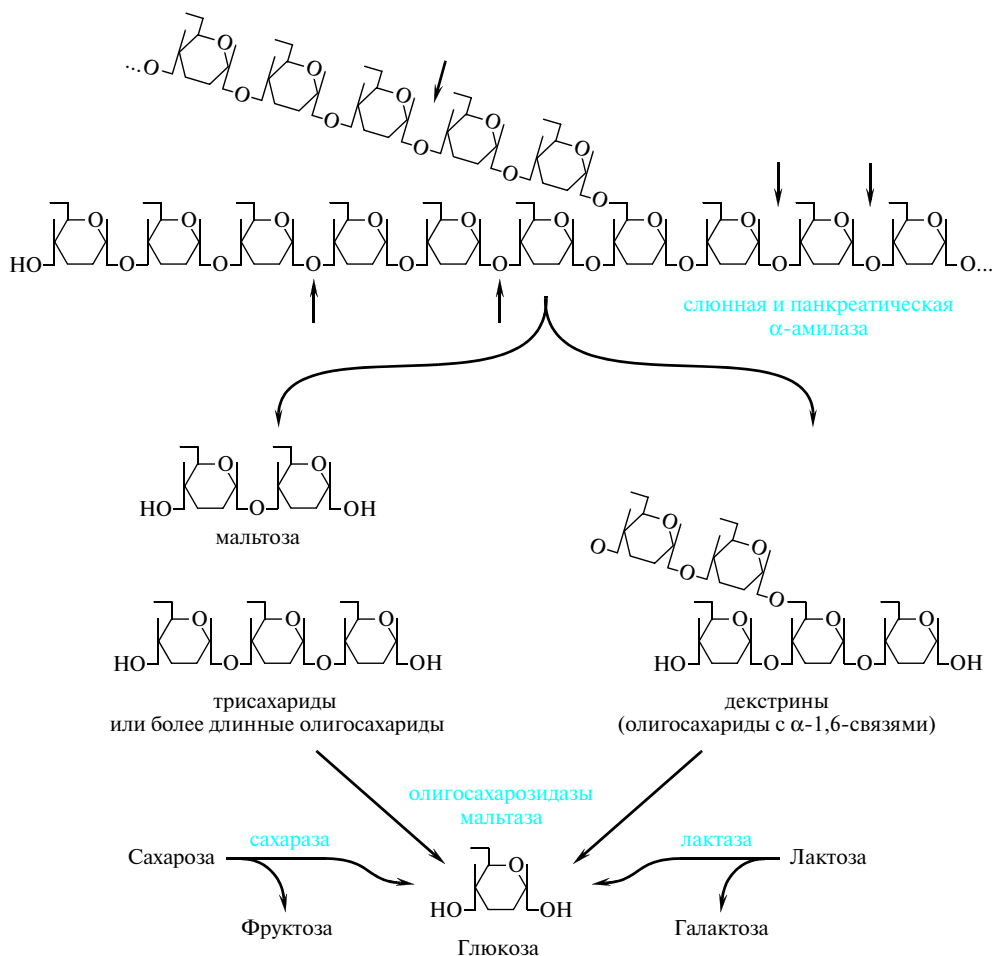


Рис. 18.2. Ферментативные реакции деградации углеводов

α -1,6-связями. Основным местом переваривания углеводов является тонкий кишечник, где на них действует α -амилаза поджелудочной железы и активные дисахаразиды, содержащиеся в щеточной кайме на мукозной поверхности клеток кишечника.

Моносахариды, образующиеся в результате последовательного действия амилалитических ферментов, с высокой эффективностью, но совершенно разными скоростями всасываются в кровь. По уменьшению скорости всасывания моносахариды можно расположить в следующем порядке (приняв условно скорость всасывания глюкозы за 100):

110 100 43 19 15 9
Галактоза > Глюкоза > Фруктоза > Манноза > Ксилоза > Арабиноза

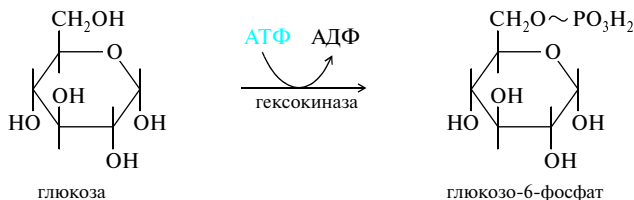
Манноза и пентозы проникают через эпителий кишечника только путем облегченной диффузии с участием специальных переносчиков. Галактоза и глюкоза кроме этого пути могут транспортироваться против градиента их концентрации по механизму вторичного активного транспорта (Na^+ -зависимый симпорт). Поступление глюкозы из крови в клетки осуществляется в направлении падения ее градиента, так как в цитозоле большинства животных клеток концентрация свободной глюкозы очень низка, тогда как концентрация в плазме крови близка к 5 ммоль/л. Однако только в клетки печени и мозга транспорт глюкозы может осуществляться по механизму пассивной диффузии, и скорость поступления регулируется ее концентрацией в крови. Во всех других тканях скорость транспорта глюкозы осуществляется по механизму облегченной диффузии, который стимулируется инсулином. Активирующее действие инсулина на транспорт глюкозы через клеточную мембрану приведено в гл. 13.

Установлено, что эритроциты птиц и ретикулоциты млекопитающих обладают дополнительной системой активного транспорта глюкозы в эти клетки.

18.2. Внутриклеточный обмен углеводов

18.2.1. Общая характеристика

Во всех клетках, способных метаболизировать глюкозу, первой реакцией является ее фосфорилирование до глюкозо-6-фосфата. Реакция катализируется ферментом гексокиназой, а донором фосфорильной группы является молекула АТФ:



Эта реакция практически необратима, $\Delta G^{\circ} = -16,74$ кДж/моль. Гексокиназа, присутствующая во всех тканях, за исключением паренхимы печени, имеет высокое сродство к глюкозе, а также способна фосфорилировать и дру-

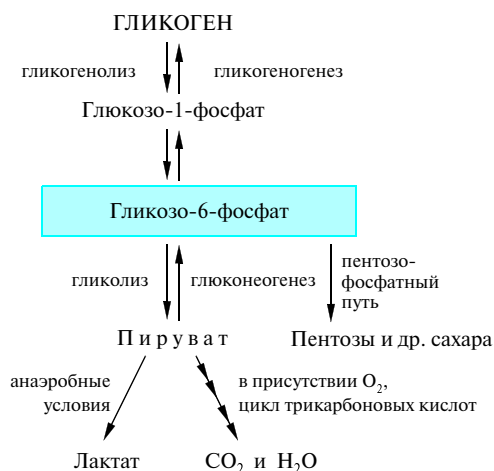
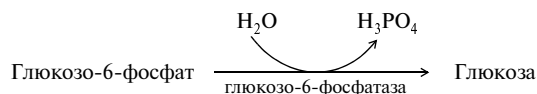


Рис. 18.3. Пути метаболизма глюкозо-6-фосфата

обмена и занимает важное положение в интеграции ряда метаболических путей (гликолиз, глюконеогенез, пентозофосфатный путь, гликогенолиз). Возможные пути метаболизма фосфорилированной глюкозы представлены на рис. 18.3.

Обратный процесс дефосфорилирования глюкозы идет только в трех тканях, клетки которых способны транспортировать глюкозу в кровь, а именно ткани печени, эпителия почечных канальцев и тонкого кишечника. Это становится возможным благодаря действию гидролитического фермента глюкозо-6-фосфатазы, который катализирует реакцию:



О регуляции активности этого фермента до сих пор известно мало, а следовательно, неясно, какие факторы предотвращают непрерывный цикл фосфорилирования и дефосфорилирования глюкозы.

18.2.2. Гликолиз — центральный путь катаболизма глюкозы

Основным катаболическим процессом деструкции глюкозы в клетках животных и человека является последовательность ряда реакций ее окисления, в результате которых в анаэробных условиях глюкоза превращается в лактат, а в аэробных — в конечные продукты: CO_2 и воду. Ниже приведена биологическая значимость окислительных превращений глюкозы:

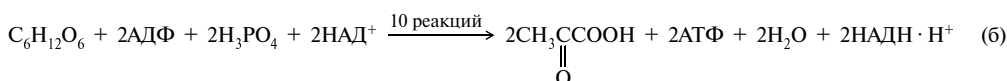
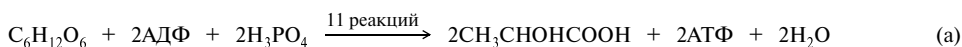
- освобождение энергии, способной трансформироваться в химическую энергию молекул АТФ, в том числе и в анаэробных условиях; в присутствии кислорода до 70% потребности в АТФ может обеспечиваться за счет окисления углеводов;

гие гексозы, но значительно с меньшей скоростью. В клетках печени эту функцию выполняет глюкокиназа, активность которой зависит от питания. Глюкокиназа специфична к глюкозе и эффективно функционирует только при высокой концентрации в крови глюкозы. Важным свойством гексокиназы является ее ингибирование продуктом реакции глюкозо-6-фосфатом по аллостерическому механизму.

Фосфорилированная глюкоза не способна проходить через цитоплазматическую мембрану и оказывается «запертой» в клетке. Таким образом, глюкозо-6-фосфат является центральным метаболитом углеводного

• образование в процессе катаболизма глюкозы промежуточных метаболитов, которые используются клеткой как структурные предшественники для синтеза аминокислот, стероидов, азотистых оснований, липидов и др.

Гликолиз — это последовательность десяти ферментативных реакций, в процессе которых в аэробных условиях глюкоза расщепляется до двух молекул пирувата (аэробный гликолиз), а в анаэробных — до двух молекул лактата (анаэробный гликолиз). Ниже приведены стехиометрические уравнения процессов анаэробного (а) и аэробного (б) гликолиза:



Разделение на анаэробный и аэробный гликолиз носит условный характер, так как реакции гликолиза в присутствии кислорода и его отсутствии одни и те же. Различия касаются лишь их скорости и конечных продуктов. При недостатке кислорода реокисление НАДН, образовавшегося в ходе гликолиза, осуществляется путем сопряжения с восстановлением пирувата в лактат, а в аэробных условиях НАДН окисляется в ходе кислородзависимого процесса окислительного фосфорилирования (гл. 15), результатом которого является образование большого количества АТФ.

Значение гликолиза. В клетках значимость гликолиза заключается в следующем.

• В анаэробных условиях гликолиз — единственный процесс в организме животных, растений и многих микроорганизмов, приводящий к образованию АТФ; в организме человека и животных гликолиз позволяет поддерживать интенсивную работу скелетной мышцы в условиях недостатка кислорода.

• В аэробных условиях реакции гликолиза, остановившиеся на стадии образования пирувата (непосредственного предшественника лактата), составляют первую, начальную фазу деструкции углеводов, связанную далее с циклом трикарбоновых кислот. Гликолиз и цикл трикарбоновых кислот приводят к полному окислению глюкозы до CO_2 и выделению больших количеств метаболической энергии (АТФ).

Последовательность реакций гликолиза. Гликолиз протекает в две стадии.

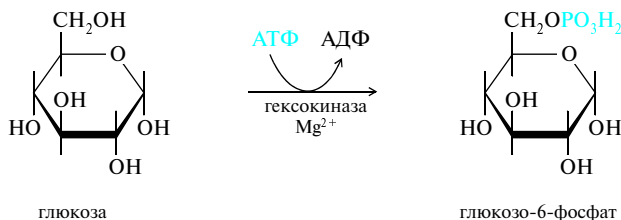
• Первая стадия — подготовительная, или стадия *активации глюкозы*, которая включает пять реакций и завершается расщеплением углеродного скелета глюкозы на две молекулы трехуглеродного скелета — глицеральдегидфосфата.

• Вторая стадия — *генерация АТФ*, в которой энергия окислительных реакций трансформируется в химическую энергию АТФ по механизму реакции субстратного фосфорилирования.

Процесс гликолиза протекает в цитозоле клетки, катализируется одиннадцатью ферментами, большинство из которых выделено в высокоочищенном состоянии из различных источников и хорошо изучено.

Подготовительная стадия гликолиза. В нее входят следующие реакции.

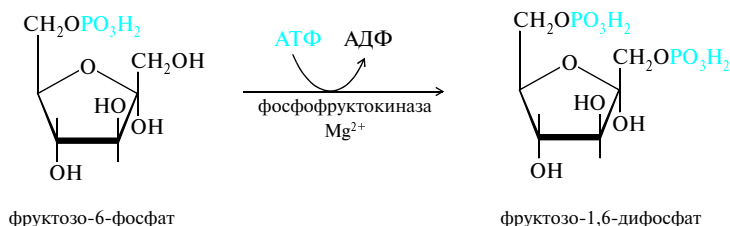
1. Необратимая реакция фосфорилирования глюкозы и образования глюкозо-6-фосфата, катализируемая ферментом **гексокиназой**, описана ранее (18.2.1):



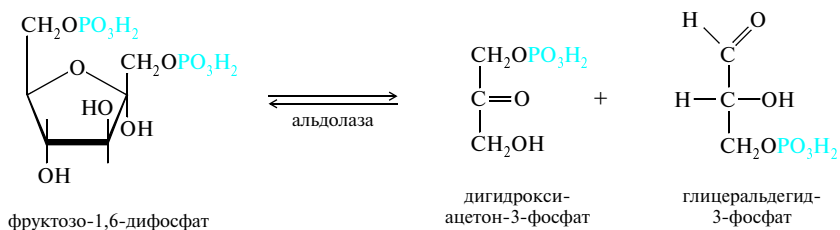
2. Обратимая реакция кето-альдольной изомеризации глюкозо-6-фосфата во фруктозо-6-фосфат, катализируемая ферментом **глюкозо-6-фосфатизомеразой**:



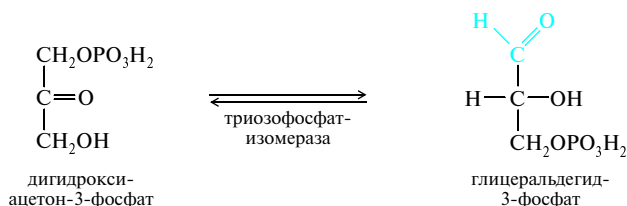
3. Необратимая реакция фосфорилирования фруктозо-6-фосфата молекулой АТФ до фруктозо-1,6-дифосфата, катализируемая ферментом **фосфофруктокиназой**:



4. Обратимая реакция *расщепления связи C—C* во фруктозо-1,6-дифосфате на две триозы, катализируемая ферментом **альдозазой**:



5. Обратимая реакция *кетто-альдольной изомеризации* дигидрооксиацетон-фосфата в глицеральдегид-3-фосфат, катализируемая ферментом **триозофосфатизомеразой**:

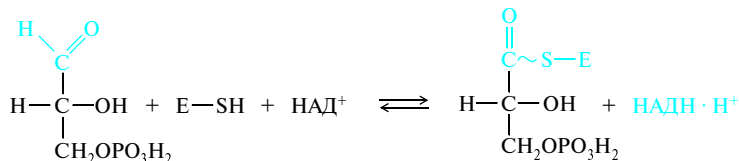


Поскольку в последующие реакции включается только глицеральдегид-3-фосфат, по мере его потребления дегидроацетонфосфат превращается также в эту триозу. Таким образом, каждая молекула глюкозы дает две триозные единицы, которые включаются во вторую стадию гликолиза, поэтому необходимо, чтобы каждая последующая реакция произошла дважды.

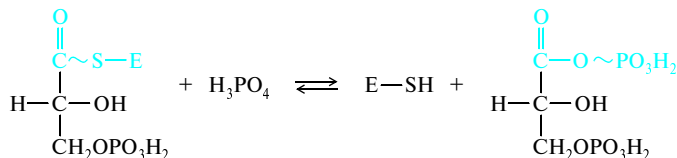
Стадия генерации АТФ. В эту стадию входят следующие реакции.

6. Обратимая реакция *окисления* глицеральдегид-3-фосфата до 1,3-дифосфоглицерата, которая катализируется ферментом **глицеральдегид-3-фосфат-дегидрогеназой** (E—SH). В этой реакции участвуют кофермент этого фермента НАД⁺ и неорганический фосфат. Реакция протекает в две стадии:

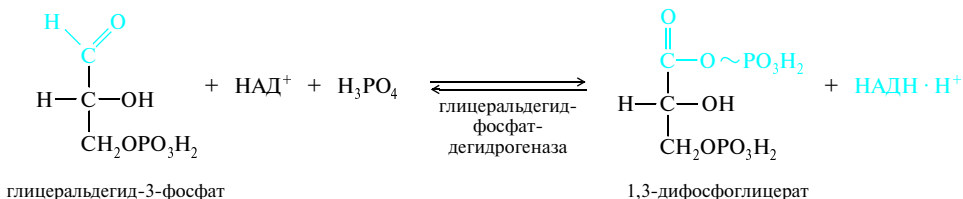
— соединение субстрата с остатком цистеина дегидрогеназы приводит к образованию тиополуацетала, который окисляется в тиоловый эфир; атомы водорода, отщепляемые при окислении, восстанавливают связанный с ферментом НАД⁺ до НАДН · Н⁺:



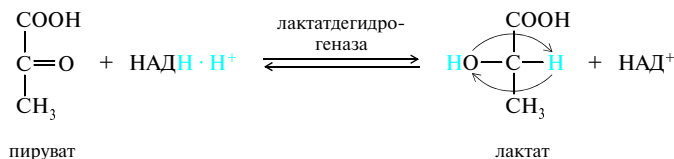
— фосфорилиз образовавшейся тиоэфирной связи происходит с присоединением неорганического фосфата, при этом образуется 1,3-дифосфоглицерат и свободный фермент:



Суммарная реакция:



11. Обратимая реакция *восстановления* пирувата до лактата (молочной кислоты) происходит в анаэробных условиях при участии фермента **лактатдегидрогеназы** и кофермента НАДН · Н⁺:



Таким образом, в тканях, функционирующих в условиях гипоксии, наблюдается образование лактата. Это особенно справедливо в отношении скелетной мышцы, интенсивность работы которой в определенных пределах не зависит от поступления кислорода. Гликолиз в эритроцитах даже в аэробных условиях всегда завершается образованием лактата, поскольку в них отсутствуют митохондрии, содержащие ферменты аэробного окисления пирувата.

В целом последовательность реакций гликолиза представлена на рис. 18.4, молекулярные свойства гликолитических ферментов приведены в табл. 18.1.

Таблица 18.1. Ферменты гликолиза

| Номер реакции | Фермент | Источник | Мол. масса, kDa | Кофермент, кофактор | Структура | Активатор | Ингибитор |
|---------------|--------------------------------------|----------|-----------------|-------------------------------------|-----------|---|--|
| 1 | Гексокиназа | Дрожжи | 96 | Mg ²⁺ | Димер | АДФ, H ₃ PO ₄ | Глюкозо-6-фосфат, фосфоеноилпируват |
| 2 | Глюкозо-6-фосфатизомераза | Дрожжи | 145 | Mg ²⁺ | Димер | | |
| 3 | Фосфофруктокиназа | Мышцы | 380 | Mg ²⁺ | Тетрамер | АДФ, АМФ, H ₃ PO ₄ , K ⁺ | АТФ, цитрат, НАДН |
| 4 | Альдолаза | Мышцы | 160 | | Тетрамер | Zn ⁺ , Fe ²⁺ , Co ²⁺ | Цистеин |
| 5 | Триозофосфатизомераза | Мышцы | 56 | Mg ²⁺ | Димер | | |
| 6 | Глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа | Мышцы | 146 | НАД ⁺ | Тетрамер | Арсенат | Mg ²⁺ , иодацетат |
| 7 | Фосфоглицераткиназа | Мышцы | 50 | Mg ²⁺ | Димер | | |
| 8 | Фосфоглицератмутаза | Мышцы | 65 | Mg ²⁺ | Димер | | |
| 9 | Енолаза | Мышцы | 88 | Mg ²⁺ , Mn ²⁺ | Димер | | Ca ²⁺ |
| 10 | Пируваткиназа | Мышцы | 240 | K ⁺ | Тетрамер | Mg ²⁺ | Ca ²⁺ , АТФ, ацетил-КоА, НАДН |
| 11 | Лактатдегидрогеназа | Мышцы | 240 | НАД ⁺ | | | |

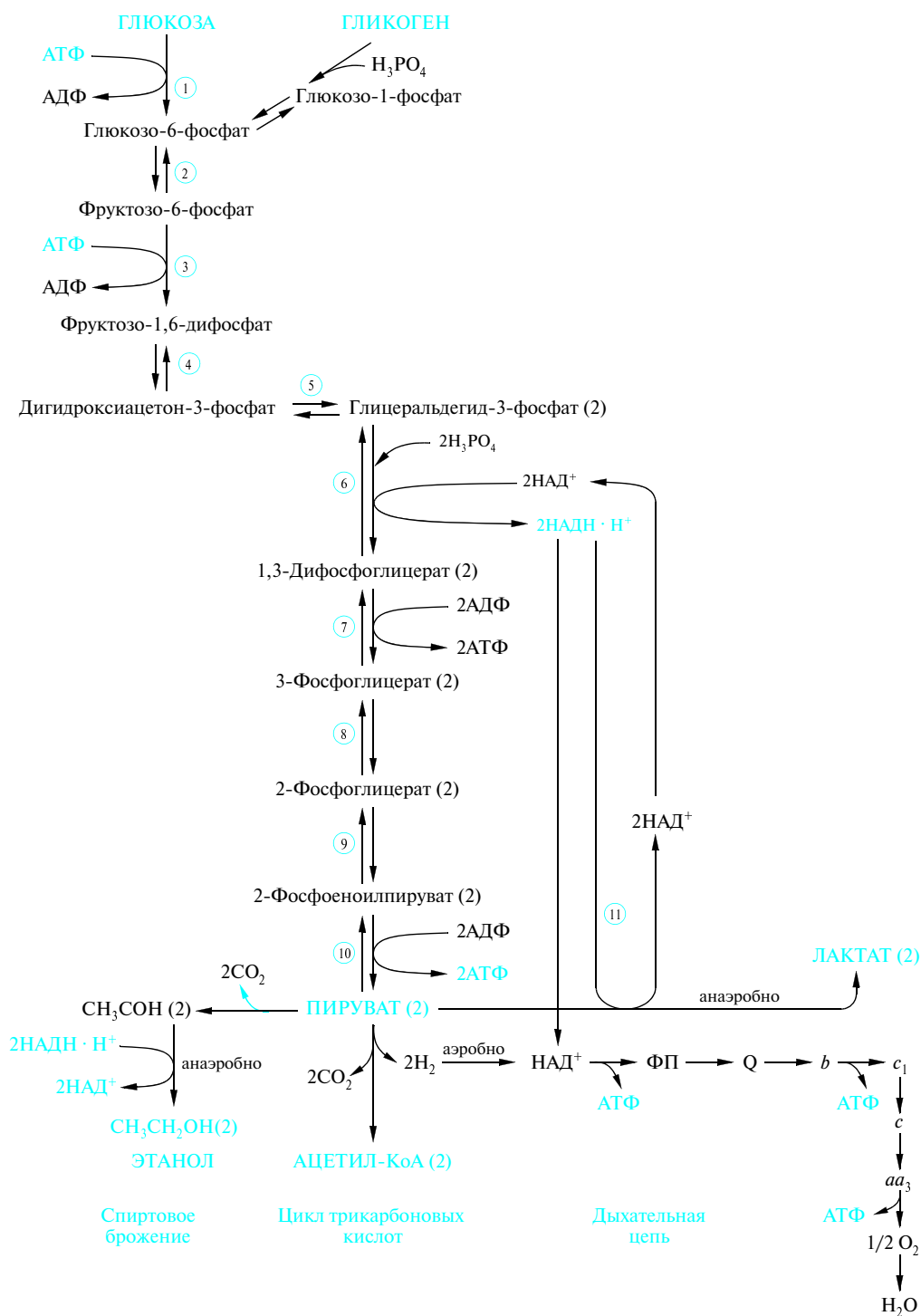
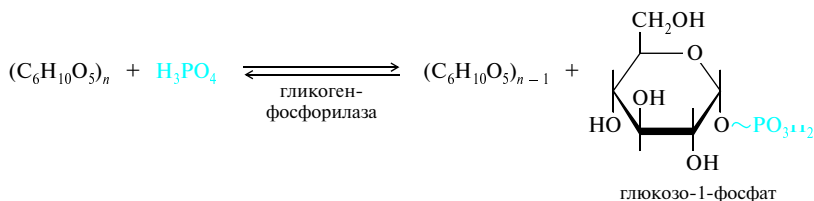


Рис. 18.4. Последовательность реакций гликолиза, его связь с аэробным окислением глюкозы, гликогенолизом, спиртовым брожением: цифры в кружке обозначают номера реакций; цифрой (2) — отмечены молекулы, представленные дважды в расчете на одну молекулу глюкозы

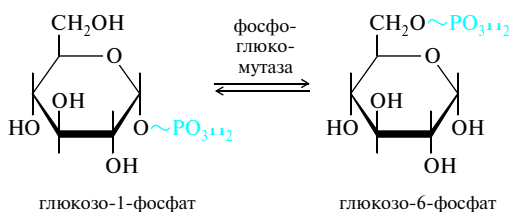
18.2.3. Гликогенолиз, его связь с гликолизом

Гликогенолиз — это процесс расщепления гликогена, приводящий к вовлечению глюкозных остатков этого запасного полисахарида в гликолиз. Глюкозные единицы боковых цепей гликогена и крахмала у растений вовлекаются в гликолиз в результате последовательного действия двух ферментов — гликогенфосфорилазы (или фосфорилазы крахмала) и фосфоглюкомутазы.

Гликогенфосфорилаза — сложный фермент, коферментом которого является пиродоксальфосфат, катализирует фосфоролитическое расщепление концевой α -(1 \rightarrow 4)-гликозидной связи в молекуле гликогена по реакции



В приведенной выше реакции $(C_6H_{10}O_5)_n$ — полисахаридная цепь гликогена, а $(C_6H_{10}O_5)_{n-1}$ — та же цепь, укороченная на один глюкозный остаток. Образовавшийся глюкозо-1-фосфат под действием фосфоглюкомутазы изомеризуется в глюкозо-6-фосфат, который далее вовлекается в процесс гликолиза:



Гликоген и амилопектин крахмала являются разветвленными полисахаридами. Остатки глюкозы отщепляются от концов молекулы гликогена до тех пор, пока на ветвях, идущих от точки ветвления, не останется примерно по четыре остатка глюкозы. Другой фермент (α -[1 \rightarrow 4] \rightarrow α -[1 \rightarrow 6]-глюкантрансфераза) переносит трехуглеродный фрагмент с одной цепи на другую, открывая (1 \rightarrow 6)-связь. Гидролиз этой связи происходит при действии еще одного фермента — α -(1 \rightarrow 6)-глюкозидазы (деветвящий фермент), что приводит к отщеплению одной молекулы свободной глюкозы и открывает для действия гликогенфосфорилазы новый участок, состоящий из остатков глюкозы, соединенных α -(1 \rightarrow 4)-связями (рис. 18.5).

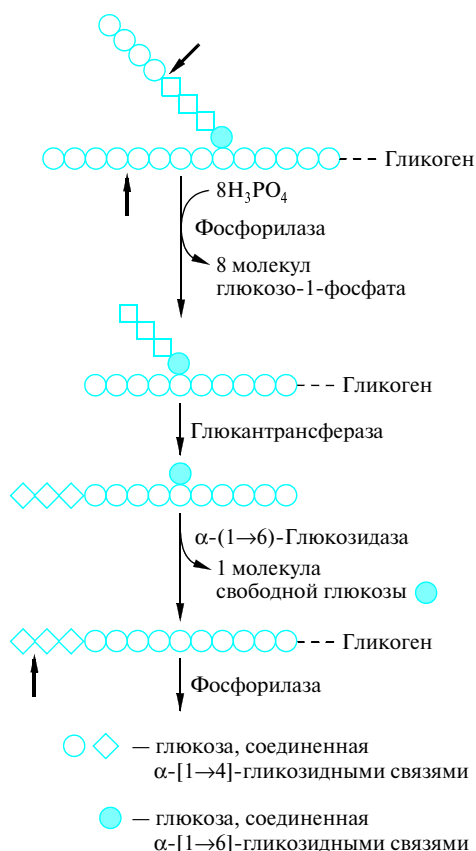
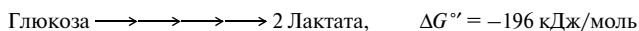


Рис. 18.5. Расщепление гликогена

18.2.4. Энергетический баланс гликолиза и гликогенолиза

Суммарно процесс гликолиза необратим и сопровождается изменением свободной энергии в количестве 196 кДж/моль:



Превращение субстратов в первую подготовительную стадию происходит с затратой энергии АТФ, во второй стадии энергия выделяется, часть ее запасается в молекулах АТФ (табл. 18.2).

Таблица 18.2. Баланс АТФ в гликолизе и гликогенолизе

| Номер реакции | Реакция | Изменение АТФ на одну молекулу глюкозы | |
|---------------|--|--|----------------|
| | | Гликолиз | Гликогенолиз |
| 1 | Глюкоза \longrightarrow Глюкозо-6-фосфат | -1 | — |
| 3 | Фруктозо-6-фосфат \longrightarrow Фруктозо-1,6-дифосфат | -1 | -1 |
| 7 | 2 молекулы 1,3-дифосфоглицерата \longrightarrow \longrightarrow 2 молекулы 3-фосфоглицерата | +2 | +2 |
| 10 | 2 молекулы фосфоенолпирувата \longrightarrow \longrightarrow 2 молекулы пирувата | +2 | +2 |
| Итого | | 2 молекулы АТФ | 3 молекулы АТФ |

Таким образом, энергетический баланс анаэробного гликолиза составляет на одну молекулу окисленной глюкозы две молекулы АТФ, а гликогенолиза — три молекулы АТФ, образовавшихся в реакциях *субстратного* фосфорилирования [реакции (7) и (10)]. Известно, что конечная макроэргическая связь АТФ способна аккумулировать примерно 31,0 кДж/моль свободной энергии. Учитывая, что образуется две молекулы АТФ (62,0 кДж/моль), энергетическая эффективность анаэробного гликолиза составляет примерно 32%. Поскольку при гликогенолизе на образование глюкозо-6-фосфата АТФ не затрачивается, образуется не две, а три молекулы АТФ в расчете на одну молекулу окисленной глюкозы.

В аэробных условиях конечным продуктом гликолитического расщепления является пируват и две молекулы НАДН, образовавшиеся в результате окисления двух молекул глицеральдегид-3-фосфата [реакция (6) гликолиза]; последние окисляются до НАД⁺, отдавая свои электроны в митохондриальную цепь переноса электронов (см. рис. 18.4). Таким образом, к суммарному итогу гликолиза (две молекулы АТФ) добавляется еще шесть молекул АТФ, образующихся в результате окислительного фосфорилирования. Следовательно, баланс АТФ при гликолитическом расщеплении глюкозы в аэробных условиях составляет 8 молекул АТФ, из них 2 молекулы АТФ образовались за счет субстратного, а 6 — окислительного фосфорилирования.

18.2.5. Регуляция гликолиза и гликогенолиза

Как отмечалось ранее, три гликолитических реакции являются необратимыми. Это реакции, катализируемые гексокиназой, фосфофруктокиназой и пируваткиназой; они являются главными участками, на которых происходит

регуляция гликолиза по аллостерическому механизму. Отрицательными модуляторами регуляторных ферментов гликолиза являются АТФ, НАДН, которые ингибируют гликолиз и тем самым предотвращают дальнейшее накопление этих веществ. Активирующее действие на эти ферменты оказывают АМФ и АДФ (положительные модуляторы).

Кроме того, скорость процесса гликолиза зависит от поступления в клетку исходных продуктов и накопления ряда промежуточных метаболитов. Так, гексокиназа ингибируется также продуктом этой реакции глюкозо-6-фосфатом. Роль главного регуляторного фермента гликолиза играет фосфофруктокиназа, которая, кроме АТФ, ингибируется цитратом — центральным метаболитом цикла трикарбоновых кислот.

Регуляторным ферментом гликогенолиза является гликогенфосфорилаза — первый фермент в катаболической цепи мобилизации гликогена. Этот фермент переводит углеводы из запасной формы в форму метаболически активную (фосфорилированную). Фермент фосфорилаза существует в двух формах, одна из которых (фосфорилаза *a*) активна, в то время как другая (фосфорилаза *b*) неактивна. Обе формы могут диссоциировать на одинаковые субъединицы. Фосфорилаза *b* состоит из двух субъединиц, а фосфорилаза *a* — из четырех. Превращение фосфорилазы *b* в фосфорилазу *a* осуществляется фосфорилированием белка по уравнению



Катализируется эта реакция ферментом киназой фосфорилазы *b*, который также существует как в активной, так и неактивной формах. Активация киназы фосфорилазы *b* происходит подобно активации фосфорилазы, т. е. путем ее фосфорилирования, которое катализируется цАМФ-зависимой протеинкиназой (гл. 13). Важная роль в активации киназы фосфорилазы принадлежит также Ca^{2+} -кальмодулину — белку, участвующему в регуляции активности многих киназ (гл. 13). Активация протеинкиназы при участии цАМФ, который, в свою очередь, образуется из АТФ в реакции катализируемой аденилатциклазой, стимулируется гормонами адреналином и глюкагоном. Увеличение содержания этих гормонов приводит в результате каскадной цепи реакций к превращению фосфорилазы *b* в фосфорилазу *a* и, следовательно, к освобождению глюкозы в виде глюкозо-1-фосфата из запасного полисахарида гликогена. Обратное превращение фосфорилазы *a* в фосфорилазу *b* катализируется ферментом протеинфосфатазой. На рис. 18.6 приведен каскадный механизм мобилизации гликогена. Активация первого фрагмента каскада — аденилатциклазы — в конечном счете активирует распад гликогена и одновременно ингибирует фермент его синтеза — гликогенсинтазу (гл. 20). Следовательно, фосфорилирование гликогенфосфорилазы и гликогенсинтазы приводит к противоположным изменениям их активности: гликогенсинтаза ингибируется, а гликогенфосфорилаза активируется, что вызывает повышение содержания глюкозы в мышцах, печени и крови, т. е. происходит быстрое включение реакций, поставляющих энергию.

Кроме указанного выше механизма активации фосфорилазы, фосфорилаза *b* активируется по аллостерическому механизму: АМФ — положительный

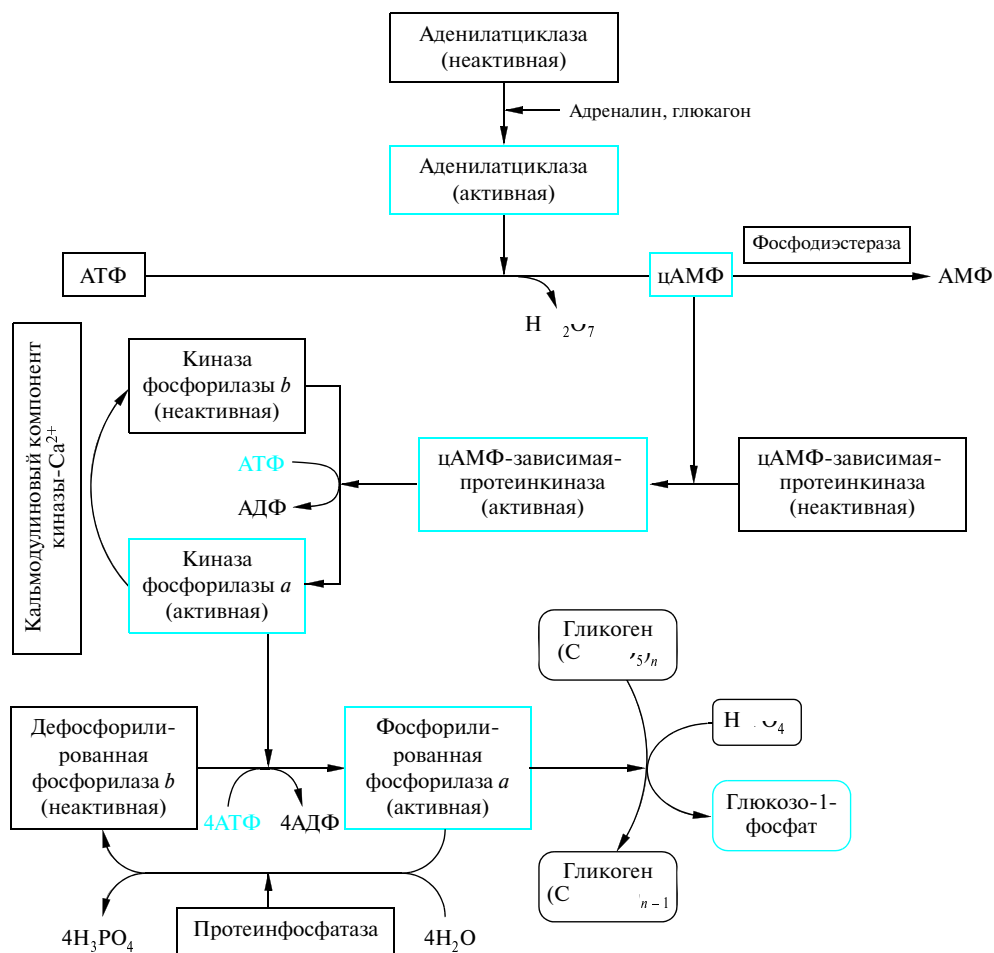


Рис. 18.6. Каскадный механизм регуляции процесса гликогенолиза

эффектор, а конкурирующий с ним АТФ — отрицательный, т. е., будучи связанным с фосфорилазой *b*, он не способен вызывать то изменение конформации, которое усиливает активность фермента. Как отмечалось выше, следует помнить, что активность киназы фосфорилазы *b* регулируется не только путем фосфорилирования—дефосфорилирования, но она также активируется ионами кальция. Это происходит за счет взаимодействия фермента с Ca^{2+} -связывающим белком кальмодулином, который участвует во многих видах воздействия кальция на клетку.

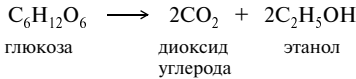
18.2.6. Брожение, связь с гликолизом

Гликолиз лежит в основе ряда процессов брожения, т. е. катаболических превращений углеводов микроорганизмами в анаэробных условиях (табл. 18.3). Брожение, как и анаэробное расщепление углеводов, — это внутренние окислительно-восстановительные процессы, в результате которых

роль конечного акцептора электронов и протонов играет не кислород, а органические соединения (рис. 18.7).

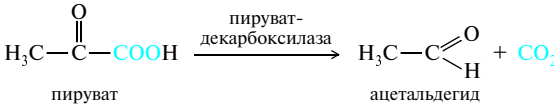
Гомоферментативное молочнокислое брожение идентично по химизму реакциям гликолиза в анаэробных условиях. В результате из глюкозы образуется молочная кислота с почти 100%-м выходом, при гетероферментативном (смешанном) молочнокислом брожении из глюкозы, кроме молочной кислоты, образуются другие продукты в процессе ее метаболизма по пентозофосфатному пути (18.2.7).

Для дрожжевых грибов характерен процесс спиртового брожения:



В этом процессе до образования пирувата реакции идут по механизму гликолиза, превращение которого в продукты спиртового брожения включает две реакции.

1. Декарбоксилирование пирувата под действием фермента пируватдекарбоксилазы, которая в качестве кофермента содержит тиаминпирофосфат и активируется ионами магния. Эта реакция полностью необратима:



Т а б л и ц а 18.3. Виды брожений, основанные на гликолизе

| Вид брожения | Микроорганизмы, вызывающие брожение | Конечный продукт |
|------------------------------------|---|---|
| Молочнокислое гомоферментативное | <i>Streptococcus sp.</i> , <i>Lactobacterium sp.</i> | Молочная кислота |
| Молочнокислое гетероферментативное | Бактерии из родов <i>Escherichia</i> , <i>Proteus</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Scnigella</i> | Молочная, муравьиная, янтарная кислоты, этанол |
| Спиртовое | Некоторые грибы, преимущественно дрожжи <i>Saccharomyces sp.</i> | Этанол |
| Маслянокислое | <i>Butyribacterium sp.</i> , <i>Sarcina maxima</i> , некоторые виды из родов <i>Clostridium</i> <i>Neisseria</i> | Бутанол, изопропанол, этанол, ацетон, уксусная и масляная кислоты |
| Бутиленгликолевое | Некоторые виды из родов <i>Aeromonas</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Enterobacter</i> | Ацетон, бутиленгликоль, молочная и муравьиная кислоты |
| Пропионовокислое | <i>Clostridium propionium</i> , <i>Propionibacterium sp.</i> , <i>Corynebacterium diphtheriae</i> , некоторые виды из родов <i>Micromonospora</i> , <i>Neisseria</i> , <i>Veillonella</i> | Пропионовая, янтарная, уксусная кислоты |

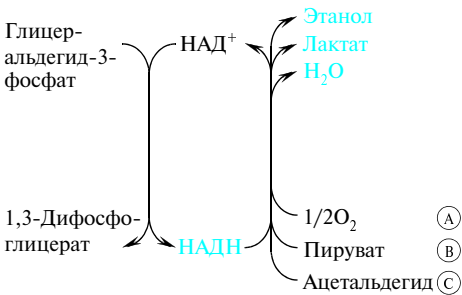


Рис. 18.7. Схема регенерации окисленного НАД⁺ в аэробных (A) и анаэробных условиях:
В — молочнокислое брожение;
С — спиртовое брожение

2. Восстановление ацетальдегида до этанола при действии фермента алкогольдегидрогеназы, содержащего в качестве кофермента НАДН, восстановленный в реакции гликолитической редукции процесса гликолиза. Таким образом, в этой реакции идет регенерация окисленного НАД⁺, необходимого для продолжения процессов гликолиза и брожения, так как содержание НАД⁺ в клетках ограничено:

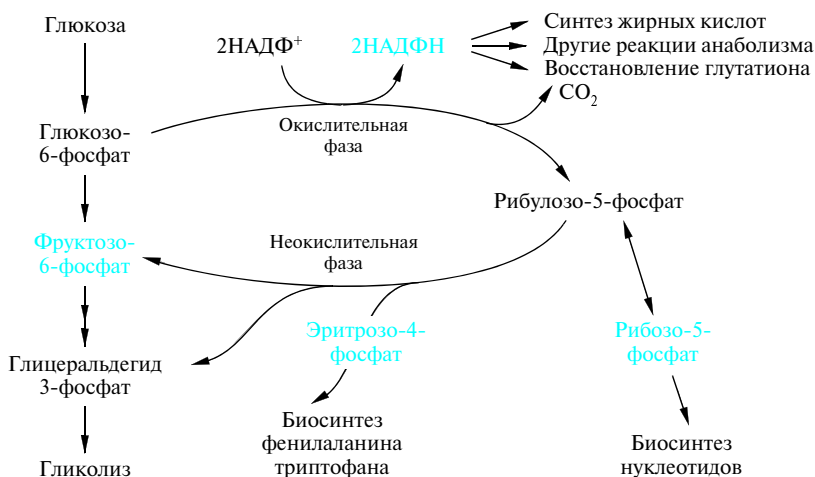


Примеры других видов брожений, представленных в табл. 18.3, являются результатом превращения метаболита гликолиза пирувата в различные вторичные метаболиты, образование которых определяется ферментным спектром соответствующих организмов.

18.2.7. Пентозомонофосфатный путь

Альтернативным гликолизу окислительным путем катаболизма гексоз является пентозомонофосфатный, или пентозный путь. Поскольку при этом глюкозо-6-фосфат выключается из метаболического превращения по пути гликолиза, его также называют *гексозомонофосфатным шунтом*. Пентозный путь широко распространен в природе (животные, бактерии, растения). В организме человека активность этого пути высока в клетках лактирующей молочной железы, жировой ткани, зрелых эритроцитах; низкий уровень этого процесса выявлен в печени (5–10%), скелетных и сердечной мышцах (5%), мозге (10%), щитовидной железе (15%), легких (15%).

Функции пентозомонофосфатного пути. Этот процесс выполняет две важнейшие метаболические функции (рис. 18.8). Во-первых, поставляет восстановительные эквиваленты (НАДФН) для реакций восстановления в процессах анаболизма, например синтеза высших жирных кислот, холестерина и др.



8.8. Метаболические функции пентозофосфатного пути

Во-вторых, в пентозофосфатном пути окисления глюкозы образуются важнейшие структурные предшественники для анаболических процессов в клетке, в том числе **рибозо-5-фосфат** — для биосинтеза нуклеотидов и нуклеиновых кислот, **эритрозо-4-фосфат** — для биосинтеза трех аминокислот: фенилаланина, тирозина, триптофана.

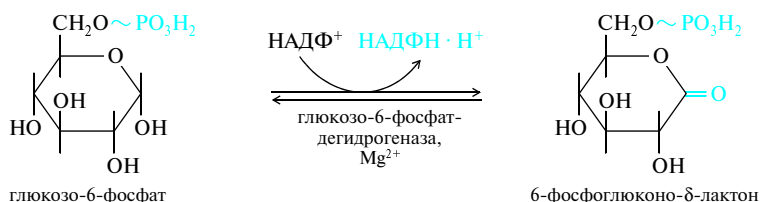
Кроме этого, в аэробных условиях данный путь может выполнять энергетическую функцию, благодаря действию ферментов, вызывающих взаимопревращение НАДФН и НАДН. Последний, как известно, способен запустить процесс окислительного фосфорилирования для синтеза АТФ. У некоторых анаэробных микроорганизмов, например облигатных гетероферментативных молочнокислых бактерий (*Leuconostoc mesenteroides*), пентозный путь является единственным путем сбраживания углеводов и, следовательно, обеспечения их энергией.

В зеленых растениях метаболиты пентозного пути выполняют важную функцию фиксации CO_2 в цикле фотосинтеза (гл. 16).

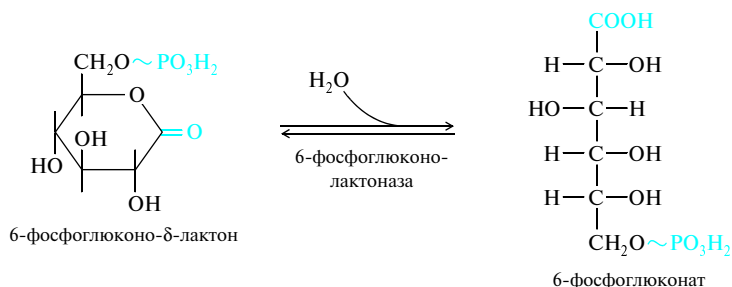
Реакции пентозомонофосфатного пути. Пентозомонофосфатный путь составляют восемь реакций, в нем условно выделяют две фазы. Первая фаза — *окислительная*, включает три реакции и завершается окислением глюкозо-6-фосфата до пентозофосфатов. Вторая фаза — *неокислительная* (пять реакций), она представляет собой взаимопревращения трех-, четырех-, пяти-, шести- и семиуглеродных сахарофосфатов, в результате которых регенерируется глюкозо-6-фосфат. Все реакции протекают в цитоплазме клетки и являются *обратимыми*.

Окислительная фаза. Она включает следующие реакции.

1. Реакция дегидрирования глюкозо-6-фосфата при действии **глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы**, коферментом которой является НАДФ⁺:

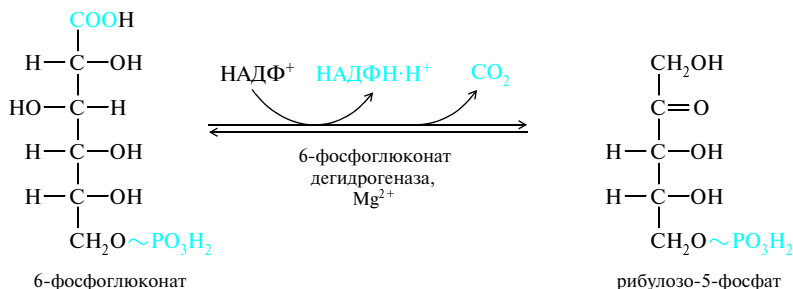


2. Реакция гидролиза лактона, происходящая спонтанно либо с помощью фермента **6-фосфоглюконолактоназы**:

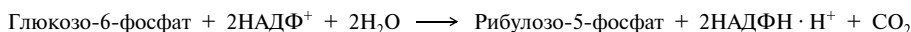


3. Реакция окислительного декарбоксилирования 6-фосфоглюконата, катализируемая ферментом **6-фосфоглюконатдегидрогеназой**, НАДФ⁺-зависимой,

активируемой ионами Mg^{2+} . В результате реакции образуется первая кетопентоза-рибулозо-5-фосфат:



Этой реакцией завершается окислительная фаза, в которой глюкозо-6-фосфат окисляется до рибулозо-5-фосфата и восстанавливается $2\text{НАДФН} \cdot \text{Н}^+$, последние используются как доноры восстановительных эквивалентов для анаболических реакций процессов метаболизма. Стехиометрическое уравнение окислительной фазы пентозофосфатного пути описывается уравнением

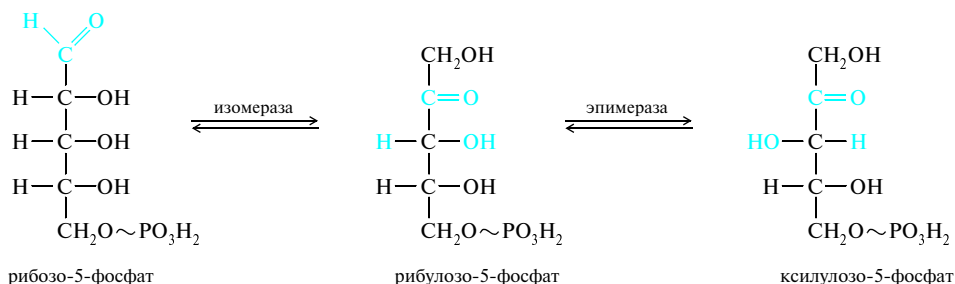


Неокислительная фаза. Основными ферментами неокислительной фазы являются два фермента: **транскетолаза** и **трансальдолаза**. Они отщепляют от фосфорилированных кетосахаров соответственно C_2 - и C_3 -фрагменты, перенося их на фосфоальдосахара. В результате взаимодействия фосфосахаров регулируется их количество в соответствии с потребностями клетки.

Неокислительная стадия начинается с реакций изомеризации (4) и (5). В процессе этих реакций одна часть рибулозо-5-фосфата изомеризуется в рибозо-5-фосфат (акцептор C_2 -фрагмента), другая — в ксилулозо-5-фосфат, который служит донором этого фрагмента.

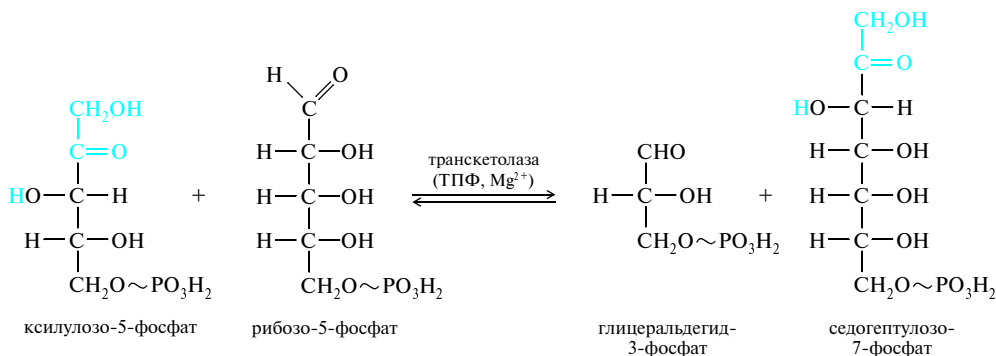
4. Реакция кето-альдольной изомеризации рибулозо-5-фосфата при действии фермента **изомеразы**, в результате которой образуется рибозо-5-фосфат.

5. Реакция эпимеризации, в процессе которой идет обращение конфигурации рибулозо-5-фосфата при третьем углероде при действии фермента **эпимеразы** и образуется другая фосфопентоза — ксилулозо-5-фосфат:

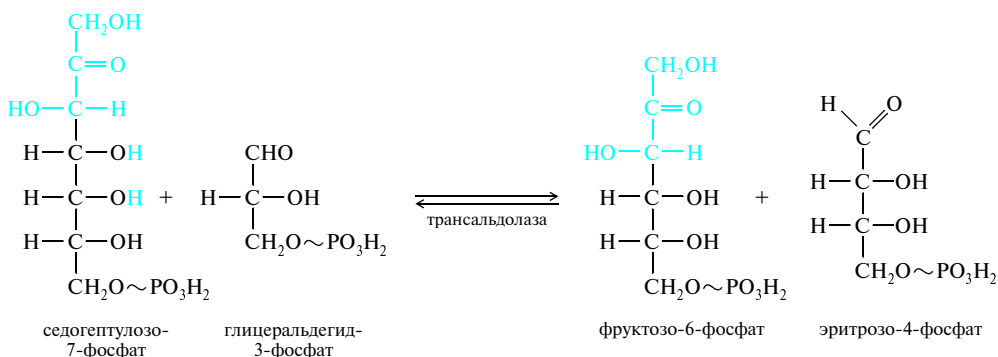


Если рибозо-5-фосфат вовлекается в анаболические процессы, пентозный путь на этом этапе может завершаться.

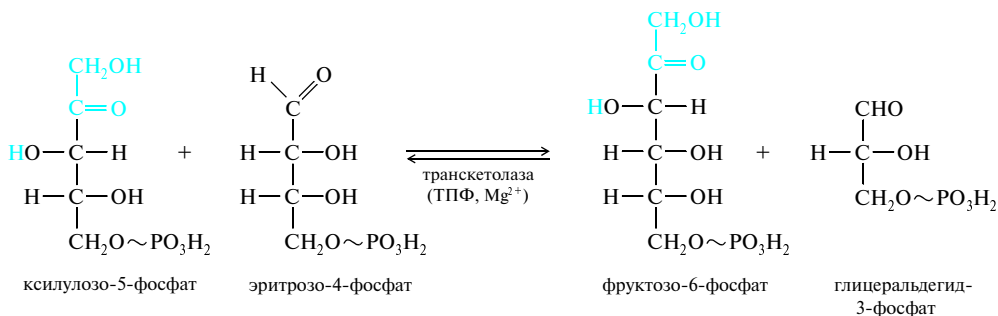
6. Первая транскетолазная реакция идет между продуктами четвертой и пятой реакций при действии фермента транскетолазы, кофакторами которого являются тиаминпирофосфат (ТПФ) и катионы двухвалентных металлов. Реакцию можно рассматривать как обратимый перенос гликоальдегидного остатка от донора кетозы на акцептор альдозу:



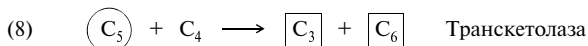
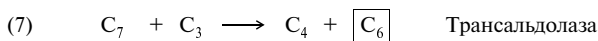
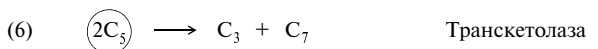
7. Трансальдолазная реакция протекает при помощи фермента **трансальдолазы**, который катализирует перенос остатка диоксиацетона от донора кетозы, представленной седогептулозо-7-фосфатом, на акцептор альдозу — глицеральдегид-3-фосфат:



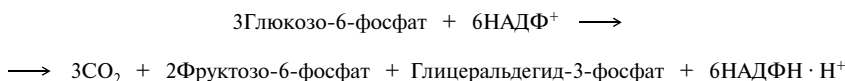
8. Вторая транскетолазная реакция, в которой донором гликоальдегидной группы выступает, как и в шестой реакции, ксилулозо-5-фосфат, акцептором — продукт седьмой реакции эритрозо-4-фосфат:



Таким образом, первая транскетолазная реакция между двумя фосфопентозами открывает серию реакций превращения моносахаров (6), (7), (8), которые можно представить в виде следующей схемы:



В результате этих реакций три молекулы C_5 -сахаров (обведены в кружок) превращаются в две молекулы C_6 -сахаров и одно C_3 -соединение — глицеральдегид-3-фосфат (обведены в квадрат). Этот процесс можно описать уравнением



Все конечные продукты этих превращений могут далее метаболизировать по пути гликолиза, обеспечивая как энергетические потребности клетки, так и потребности в НАДФН (рис. 18.9).

Если же клетка не нуждается в НАДФН, а ей нужен рибозо-5-фосфат для синтеза нуклеотидов, то промежуточные метаболиты гликолиза — фруктозо-6-фосфат и 3-фосфоглицериновый альдегид — при действии ферментов неокислительной фазы пентозофосфатного пути могут превращаться в рибозо-5-фосфат. Схема этого превращения приведена на рис. 18.10.

Таким образом, пентозофосфатный путь отличается крайней гибкостью. Если в клетке потребности в рибозо-5-фосфат и НАДФН сбалансированы, то неокислительной стадии не нужно. Но если, например, жировым клеткам НАДФН нужно значительно больше, чем рибозо-5-фосфата, то избыток последнего в результате реакций неокислительной фазы превращается в глюкозо-6-фосфат:

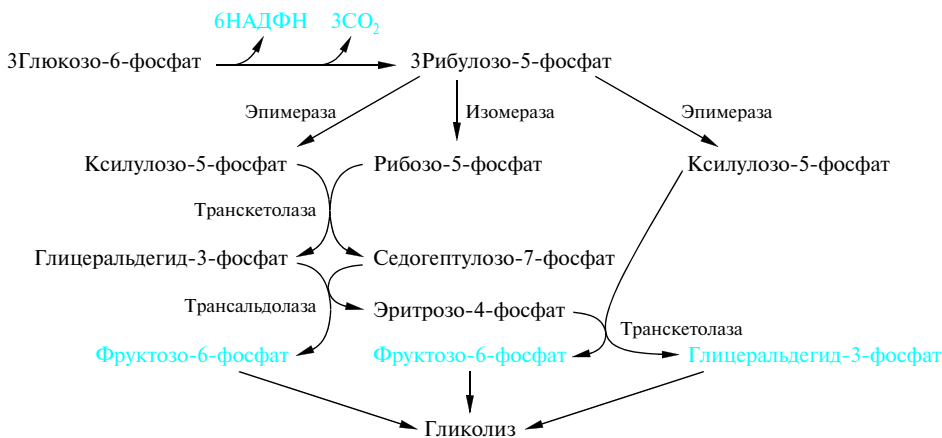
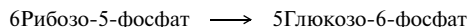
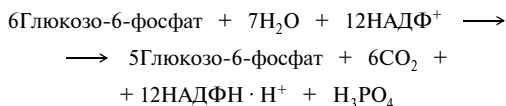
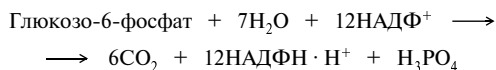


Рис. 18.9. Схема реакций пентозофосфатного пути

Посредством пентозофосфатного пути может происходить полное окисление глюкозо-6-фосфата до CO_2 , если провести расчет на шесть молекул глюкозо-6-фосфата, которые образуют пять молекул глюкозо-6-фосфата и шесть молекул CO_2 по уравнению



После сокращения общих членов получаем:



Однако следует помнить, что все шесть молекул CO_2 образуются из С-1-атомов шести молекул глюкозо-6-фосфата, а из образовавшихся при этом шести молекул рибозо-5-фосфата снова регенерируются пять молекул глюкозо-6-фосфата.

Регуляция пентозомонофосфатного пути. Главным регуляторным ферментом пентозного пути является глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, катализирующая первую реакцию. Активатором фермента является НАДФ^+ , а роль отрицательного эффектора (ингибитора) выполняет восстановленная форма этого кофермента $\text{НАДФН} \cdot \text{H}^+$. Чувствителен к соотношению $[\text{НАДФ}^+]/[\text{НАДФН} \cdot \text{H}^+]$ и второй окислительный фермент — 6-фосфоглюконатдегидрогеназа. При величине соотношения 0,02 их активность максимальна, при 0,01 она уменьшается на 90%.

В переключении пентозного пути и гликолиза друг на друга роль регулятора выполняет эритрозо-4-фосфат. Если пентозофосфатов много, то эритрозо-4-фосфат участвует в транскетолазной реакции, приводящей к образованию фруктозо-6-фосфата и его альдоизомера глюкозо-6-фосфата. Если же много гексозофосфатов, то эритрозо-4-фосфат вступает в трансальдолазную реакцию, пополняющую пул седогептулозо-7-фосфата.

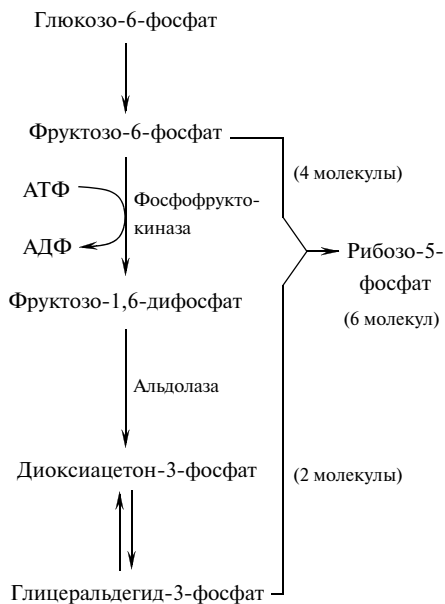


Рис. 18.10. Схема превращения метаболитов гликолиза в рибозо-5-фосфат

Глава 19

АЭРОБНОЕ ОКИСЛЕНИЕ УГЛЕВОДОВ. ЦИКЛ ТРИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ

19.1. Общая характеристика

Большинство организмов в биосфере находятся в аэробных условиях. В присутствии кислорода в организме происходит полное «сжигание» углеводов и других молекул «клеточного топлива» до конечных продуктов — CO_2 и H_2O .

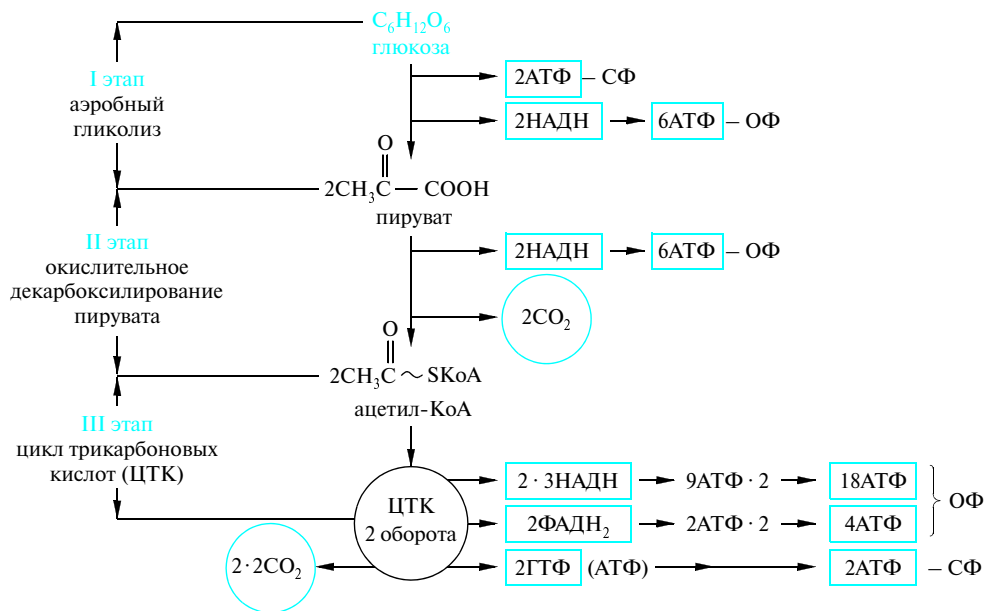
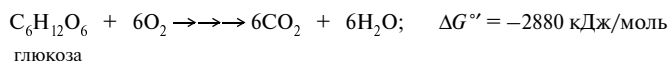


Рис. 19.1. Схема полного окисления глюкозы до шести молекул CO_2 и энергетическая эффективность этого процесса (баланс АТФ); пути образования АТФ: СФ — субстратное фосфорилирование; ОФ — окислительное фосфорилирование

Суммарный процесс полного окисления глюкозы в аэробных условиях описывается стехиометрическим уравнением



В этом сложном, многостадийном процессе окисления глюкозы можно выделить три этапа (рис. 19.1).

- На первом этапе протекают реакции аэробного гликолиза, в процессе которых глюкоза расщепляется на две молекулы пирувата. Этот этап составляет начальную фазу разложения углеводов, его называют «подготовительным».

- На втором этапе протекает цепь реакций окислительного декарбоксилирования пирувата, в результате которых происходит образование одного из центральных метаболитов клетки ацетил-S-КоА и окисление одного атома углерода пирувата до CO_2 . Поскольку в расчете на одну молекулу глюкозы образуется две молекулы пирувата, на этом этапе уже происходит окисление двух атомов углерода глюкозы до CO_2 .

- Третий этап представляет собой крайне важный набор реакций полного окисления ацетильного остатка, который получил название цикла трикарбоновых кислот (ЦТК).

Процесс аэробного окисления углеводов сопровождается освобождением большого количества энергии (2880 кДж/моль глюкозы). Если суммировать общий выход АТФ в этом процессе, то он составит 38 молекул (см. рис. 19.1). Как отмечалось ранее (гл. 15), на синтез одной макроэргической связи АТФ

необходимо 31 кДж, а на синтез 38 молекул АТФ расходуется 1178 кДж, т. е. более 40% свободной энергии полного окисления глюкозы запасается в молекулах АТФ. Это свидетельствует о высокой эффективности окислительных процессов, протекающих в аэробных условиях по сравнению с анаэробными. В процессе аэробного окисления метаболически доступная энергия кумулируется в молекулах восстановленных НАДН и ФАДН₂, которые затем окисляются в ходе кислородзависимого процесса *окислительного фосфорилирования*, результатом которого является образование 34 молекул АТФ, и только 4 молекулы АТФ образуются путем субстратного фосфорилирования: 2АТФ в гликолизе (I этап) и 2АТФ — в ЦТК (2 оборота, III этап).

Следует отметить, что, если первый этап аэробного окисления углеводов — гликолиз является специфическим процессом катаболизма глюкозы, то два последующие — окислительное декарбоксилирование пирувата и ЦТК относятся к общим путям катаболизма (ОПК). После образования пирувата (С₃-фрагмент) и ацетил-КоА (С₂-фрагмент), образующихся при распаде не только глюкозы, но и липидов и аминокислот, пути окисления этих веществ до конечных продуктов происходят одинаково по механизму реакций ОПК.

19.2. Окислительное декарбоксилирование пирувата (ОДП)

Пируват, образовавшийся в цитоплазме клетки, поступает в митохондрии, где он превращается в ацетил-КоА и СО₂, при действии сложноорганизованного мультиферментного пируватдегидрогеназного комплекса (ПД-комплекс). В состав ПД-комплекса (табл. 19.1) входят три сложных фермента, коферменты которых достаточно прочно ассоциированы с апоферментами, и два кофермента — легко диссоциирующие (HS-КоА и НАД⁺).

Ферменты ПД-комплекса и коферменты, локализованные в матриксе митохондрий, объединены в мультиферментную систему, молекулярная масса которой превышает $6 \cdot 10^3$ kDa. «Ядро» этого комплекса составляет **дегидролипоеилтрансацилаза**, к которой присоединены крупные молекулы двух других ферментов — **пируватдегидрогеназы** и **дегидролипоеилдегидрогеназы**, что позволяет продукту действия одного фермента быстро взаимодействовать с другим.

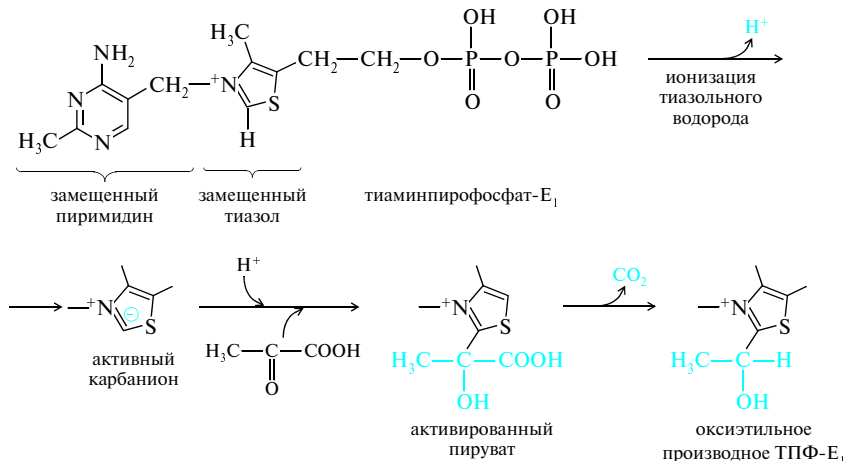
Т а б л и ц а 19.1. Ферменты и коферменты ПД-комплекса

| Фермент E | Название | Кофермент | Функция |
|----------------|------------------------------------|------------------------|---|
| E ₁ | Пируватдегидрогеназа (ПДГ) | Тиаминпирофосфат (ТПФ) | Декарбоксилирование пирувата |
| E ₂ | Дегидролипоеилтрансацилаза (ДЛТА) | Липоевая кислота (ЛК) | Перенос водорода и ацетила |
| E ₃ | Дегидролипоеилдегидрогеназа (ДЛДГ) | ФАД | Перенос водорода |
| — | — | Коэнзим А (HS-КоА) | Перенос ацетила |
| — | — | А ⁺ | Перенос восстановительных эквивалентов в дыхательную цепь митохондрий |

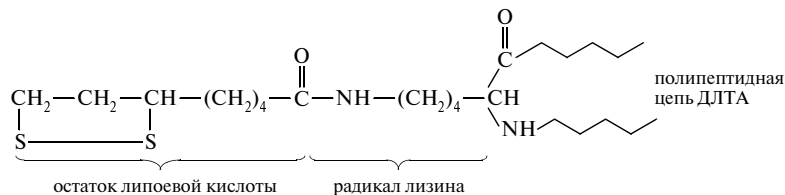
Установлено, что в состав комплекса входят также ферменты киназа и фосфатаза, выполняющие регуляторную функцию, механизм которой будет рассмотрен ниже.

Каждый фермент ПД-комплекса катализирует определенную стадию ОДП.

На первой стадии катализируемой ПДГ (E_1) пируват взаимодействует с коферментом этого фермента (ТПФ), происходит активация пирувата, его декарбоксилирование и образование оксиэтильного производного ТПФ- E_1 :

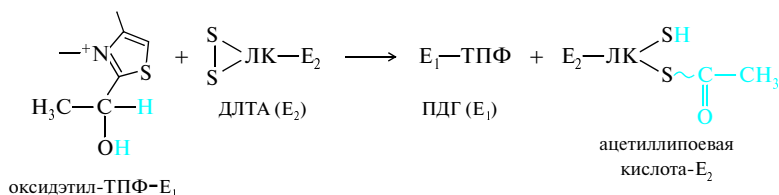


На второй стадии ДЛТА (E_2) окисляет оксиэтильную группу комплекса $CH_3-CHON-ТПФ-E_1$ и переносит образующийся ацетиловый остаток на окисленную форму липоевой кислоты — кофермента ДЛТА (E_2), который ковалентной пептидной связью присоединен к остатку лизина пептидной цепи фермента:



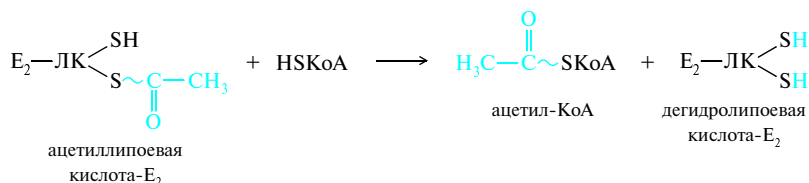
Структура окисленной формы ДЛТА ($S-S$ ЛК- E_2).

Ниже приведена реакция, катализируемая E_2 :



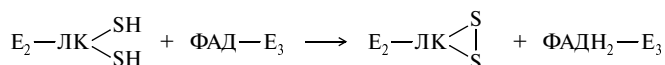
Ацетиллипоевая кислота содержит активированную ацетильную группу, в тиоэфирной связи которой кумулирована энергия окислительной реакции дегидрирования оксиэтильной группы ТПФ.

На третьей стадии ДЛТА катализирует перенос ацетильной группы на HS-KoA. Образуется один из конечных продуктов ОДП-ацетил-KoA и восстановленная форма липоевой кислоты — кофермента ДЛТА (E₂):

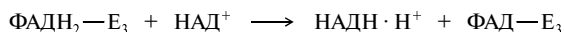


На четвертой и пятой стадиях регенерируются окисленные формы катализаторов ПД-комплекса.

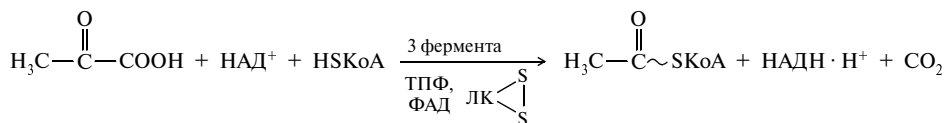
На четвертой стадии окисляется дегидролипоевая кислота, входящая в состав восстановленного комплекса E₂-ЛК $\begin{array}{l} \text{SH} \\ \diagdown \\ \text{S} \\ \text{SH} \end{array}$. Реакция катализируется ДЛДГ (E₃), переносящей атомы водорода от восстановленных сульфгидрильных групп дегидролипоевой кислоты на ФАД-кофермент данного фермента:



На пятой стадии окисленная форма ФАДH₂-E₃ регенерирует при участии НАД⁺:



Суммарную реакцию ОДП можно записать в виде следующего уравнения:



Образовавшийся в процессе ОДП ацетильный остаток в форме ацетил-KoA далее полностью окисляется в ЦТК до CO₂ и H₂O. Следует обратить внимание, что включение ацетильной группы в ЦТК не потребует затраты АТФ, поскольку в комплексе с коэнзимом А он находится в активированной форме.

Процесс ОДП является энергетически выгоден еще и потому, что в расчете на одну молекулу глюкозы происходит восстановление двух молекул НАДH, а следовательно, в процессе их окисления дыхательной цепью митохондрий синтезируется шесть молекул АТФ.

Следует помнить, что окислительное декарбоксилирование пирувата представляет собой один из общих путей катаболизма, поскольку на уровне пирувата в этот процесс вовлекается ряд метаболитов обмена аминокислот и липидов.

Регуляция окислительного декарбоксилирования пирувата. Процесс, катализируемый ПД-комплексом в животных тканях, необратим, и регуляция его активности составляет одну из важных стадий в регуляции общих путей катаболизма, связывая между собой такие метаболические процессы, как глико-

лиз, глюконеогенез, синтез и распад жирных кислот, ЦТК. Как отмечалось выше, в состав ПД-комплекса входят регуляторные ферменты киназа и фосфатаза. Киназа катализирует фосфорилирование ПДГ (E_1) и переводит этот фермент в неактивное состояние, а фосфатаза отщепляет от него фосфорную кислоту и активирует его.

Активность киназы и фосфатазы регулируется по аллостерическому механизму. Аллостерическими ингибиторами киназы являются пируват, АДФ, HS-KoA, Ca^{2+} . Следовательно, их высокая концентрация поддерживает ферменты ПД-комплекса в активной, нефосфорилированной форме, в клетке создаются условия для образования из пирувата ацетил-KoA, который может вовлекаться в ЦТК либо использоваться на синтез жирных кислот.

Аллостерическими активаторами киназы являются конечные продукты ОДП: ацетил-KoA, НАДН, АТФ. Их накопление переводит ПДГ (E_1) в неактивную фосфорилированную форму, прекращается превращение пирувата в ацетил-KoA, и он может быть использован, например, для синтеза глюкозы.

Следовательно, ПД-комплекс представляет собой сложную, саморегулирующую систему, которая играет важную роль как в биологическом контроле дыхания и энергетическом обеспечении организма, так и в регуляции общих путей катаболизма в целом.

19.3. Цикл трикарбоновых кислот

Активированный ацетильный остаток, образовавшийся при окислительном декарбоксилировании пирувата, далее полностью окисляется до CO_2 в цикле трикарбоновых кислот (лимоннокислом цикле или цикле Кребса). Этот путь назван циклом Кребса в честь английского ученого Г. Кребса (лауреата Нобелевской премии 1953 г.), определившего последовательность реакций окисления ацетила.

Последующие исследования подтвердили высказанное Г. Кребсом положение о центральной роли ЦТК в распаде веществ в организме до конечных продуктов CO_2 и H_2O . Наряду с окислительным декарбоксилированием пирувата этот процесс относится к общим путям катаболизма и является *конечным путем окислительного катаболизма* всех видов биомолекул (углеводы, липиды, аминокислоты), которые в аэробных условиях либо превращаются в ацетил-KoA, либо в промежуточные соединения ЦТК. Следовательно, ЦТК выполняет функции единого интегрального механизма, взаимосвязи и взаимозависимости процессов клеточного метаболизма (рис. 19.2).

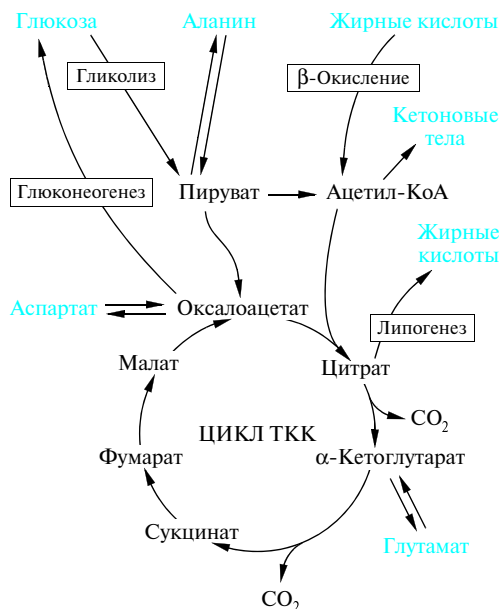


Рис. 19.2. Интегративная и амфиболическая функции цикла трикарбоновых кислот

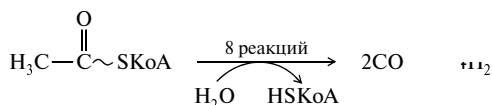
Исключительно важную роль ЦТК играет в *энергетическом обмене* организма. В этом процессе образуются первичные доноры водорода для дыхательной цепи митохондрий, которые окисляются НАД⁺- или ФАД-зависимыми дегидрогеназами, передающими водород в цепь переноса электронов, где энергия электронов окисляемых субстратов способна трансформироваться в химическую энергию макроэргических связей АТФ.

Цикл трикарбоновых кислот следует рассматривать как *универсальный механизм* окисления ацетильной группы в аэробных условиях, поскольку практически он обнаружен во всех видах аэробнодышащих организмов: в животных, растениях, микроорганизмах.

Оценивая значение ЦТК как процесса катаболических превращений ацетилата, необходимо отметить его анаболические функции. Следовательно, ЦТК относится к *амфиболическим путям метаболизма*, т. е. выполняет не только функции окислительного катаболизма, но и связан с анаболическими процессами: поставляет промежуточные метаболиты для реакций биосинтеза, например сукцинил-КоА — для синтеза гема, α-кетоглутарат-глутаминовой кислоты и др. (см. рис. 19.2).

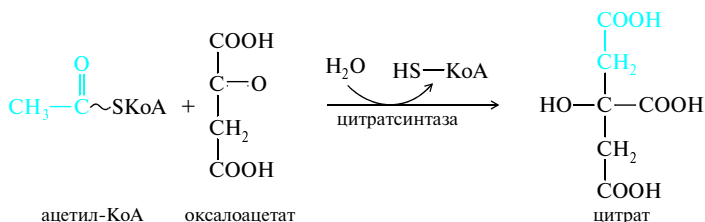
19.3.1. Химизм реакций цикла трикарбоновых кислот (цикл ТКК)

Цикл ТКК представляет собой последовательность восьми реакций, протекающих в матриксе митохондрий. Схематически этот процесс можно записать следующим образом:



ЦТК начинается с взаимодействия ацетил-КоА с четырехуглеродной дикарбоновой кислотой — оксалоацетатом, в результате чего образуется первая шестиуглеродная трикарбоновая кислота — цитрат. Далее следует серия реакций, в процессе которых происходит высвобождение двух молекул СО₂ и регенерация оксалоацетата. Характеристика ферментов ЦТК приведена в табл. 19.2.

• Первая реакция цикла ТКК — это необратимая реакция конденсации ацетил-КоА с оксалоацетатом, катализируемая ферментом **цитратсинтазой**. В результате реакции происходит синтез цитрата:

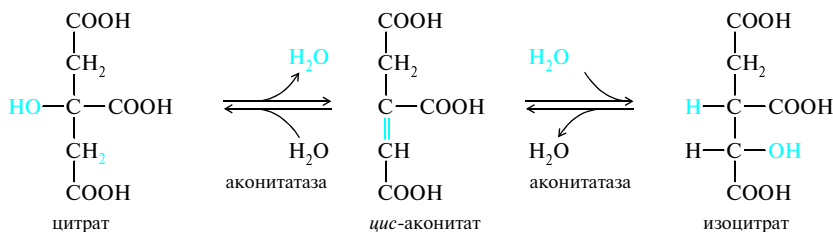


• Вторая реакция — это изомеризация цитрата в изоцитрат, в процессе которой происходит перенос гидроксигруппы к другому атому углерода, катали-

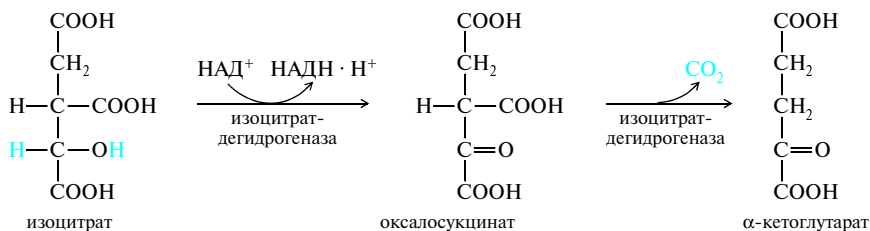
Т а б л и ц а 19.2. Ферменты цикла трикарбоновых кислот;
источник — ткани млекопитающих

| Реакция | Фермент | Кофермент, кофактор | Мол. масса, kDa | Структура | Активатор | Ингибитор |
|---------|--|---|------------------|---------------|------------------|-------------------------|
| 1 | Цитратсинтаза | | $\sim 10^2$ | Димер | | АТФ, НАДН, сукцинил-КоА |
| 2 | Аконитаза | Fe^{2+} | 89 | Димер | Fe^{2+} | Фторацетат |
| 3 | Изоцитратдегидрогеназа | НАД^+ | $\sim 10^2$ | Октамер | АДФ, цитрат | НАДН, АТФ |
| 4 | α -Кетоглутаратдегидрогеназный комплекс | ТПФ, ЛК $\begin{smallmatrix} \text{S} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{I} \end{smallmatrix}$, ФАД, НАД^+ , HS-CoA | $2,5 \cdot 10^3$ | 48 субъединиц | | Сукцинил-КоА, арсенат |
| 5 | Сукцинил-КоА-синтетаза | | 140 | Мономер | Mg^{2+} | |
| 6 | Сукцинатдегидрогеназа | ФАД, негеминное Fe^+ | 97 | Димер | | Малонат, оксалоацетат |
| 7 | Фумараза | | 194 | Тетрамер | | |
| 8 | Малатдегидрогеназа | НАД^+ | 66 | Димер | | |

зируется ферментом **аконитазой**. Реакция идет через образование промежуточного продукта *цис*-аконитата:



• Третья реакция, подобно первой, является необратимой. В ней происходит окислительное декарбоксилирование изоцитрата: гидроксигруппа изоцитрата окисляется до карбонильной с помощью НАД^+ и одновременно отщепляется карбоксильная группа в β -положении. Промежуточный продукт реакции — оксалосукцинат. Это первая реакция цикла, в которой восстанавливается НАД^+ -кофермент фермента **изоцитратдегидрогеназы**:



• В четвертой реакции цикла трикарбоновых кислот происходит окислительное декарбоксилирование α -кетоглутарата до высокоэнергетического со-

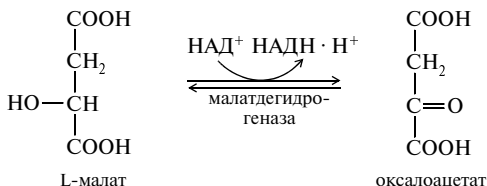
• В шестой реакции происходит дегидрирование сукцината до фумарата. Она катализируется ферментом **сукцинатдегидрогеназой**, в молекуле которого с апобелком ковалентно связан кофермент ФАД:



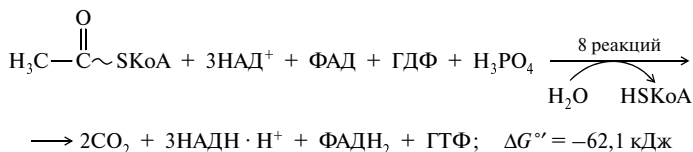
• В ходе седьмой реакции осуществляется гидратация фумарата до L-малата. Она катализируется стереоспецифичным ферментом **фумаразой**:



• В восьмой, заключительной, реакции ЦТК происходит регенерация оксалоацетата. Под действием НАД⁺-зависимой **малатдегидрогеназы** L-малат дегидрируется и превращается в оксалоацетат:



Суммарное уравнение цикла трикарбоновых кислот можно представить в следующем виде:



19.3.2. Баланс АТФ в ЦТК

На рис. 19.3 приведена схема реакций цикла трикарбоновых кислот. Как видно из схемы стехиометрического уравнения ЦТК, в этом процессе восстанавливаются три молекулы НАДН · Н⁺ [реакции (3), (4), (8)] и одна молекула ФАДН₂ [реакция (6)]. Известно, что при кислородзависимом окислении этих молекул в цепи переноса электронов в процессе *окислительного фосфорилирования* образуется при окислении одной молекулы НАДН · Н⁺ — 3АТФ, ФАДН₂ — 2АТФ. Одна молекула ГТФ (равнозначно АТФ) образуется в реакции субстратного фосфорилирования [реакция (5)].

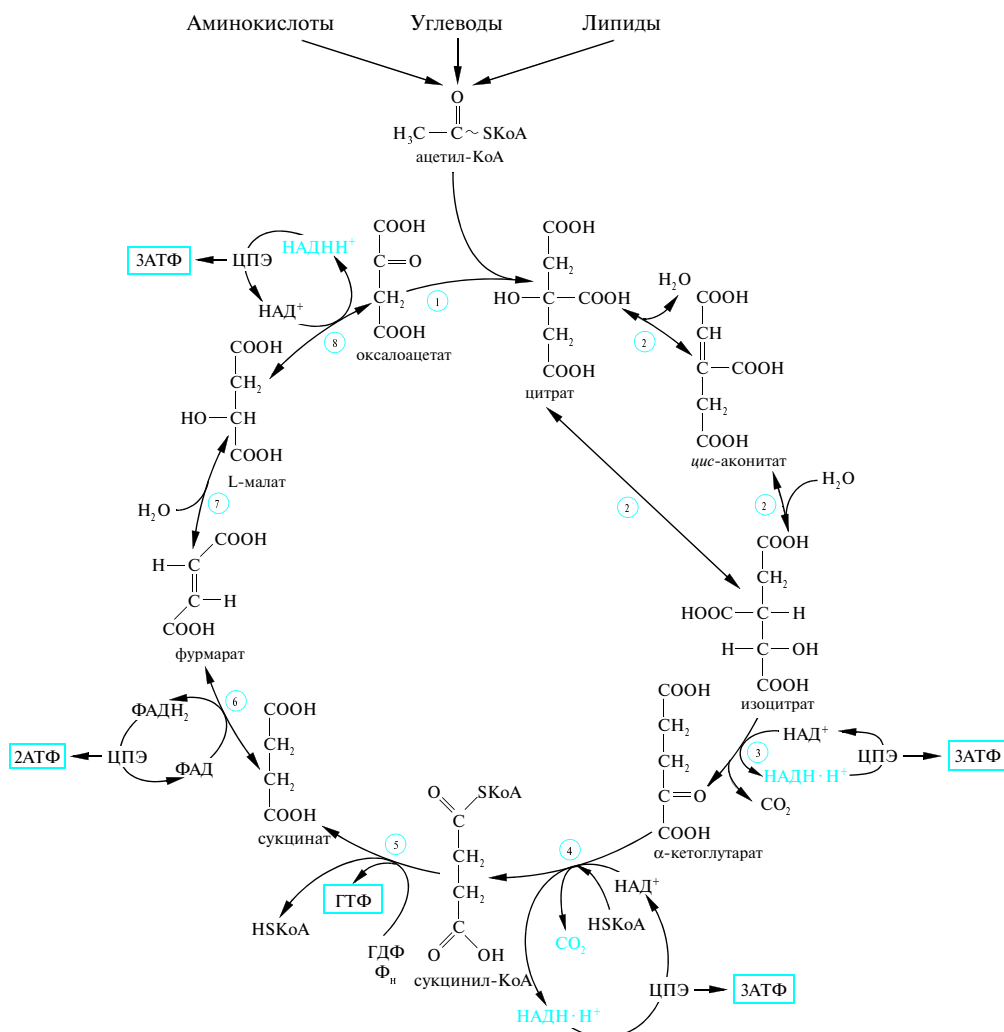


Рис. 19.3. Схема цикла трикарбоновых кислот:

ЦПЭ — цепь переноса электронов; в рамках показано число молекул АТФ, образующихся в ЦПЭ в процессе окислительного фосфорилирования

Всего это составит: $3\text{АТФ} \cdot 3 + 2\text{АТФ} + \text{АТФ} = 12\text{АТФ}$.

Таким образом, за один оборот цикла ТКК образуется 12 молекул АТФ, из них 11 макроэргов — путем окислительного фосфорилирования и один — на субстратном уровне. Выше на рис. 19.1 приведен расчет баланса АТФ при полном аэробном окислении одной молекулы глюкозы (38АТФ), соответственно окисление одной молекулы пирувата составит 15АТФ.

Следует обратить внимание, что восстановленные в цитоплазме в процессе реакции гликолитической редукции [гликолиз, реакция (6), гл. 18] две молекулы НАДН могут при окислении в митохондриях давать не шесть молекул АТФ, а только четыре. Это объясняется тем, что для НАДН внутренняя мембрана митохондрий непроницаема и они могут включаться в дыхательную цепь

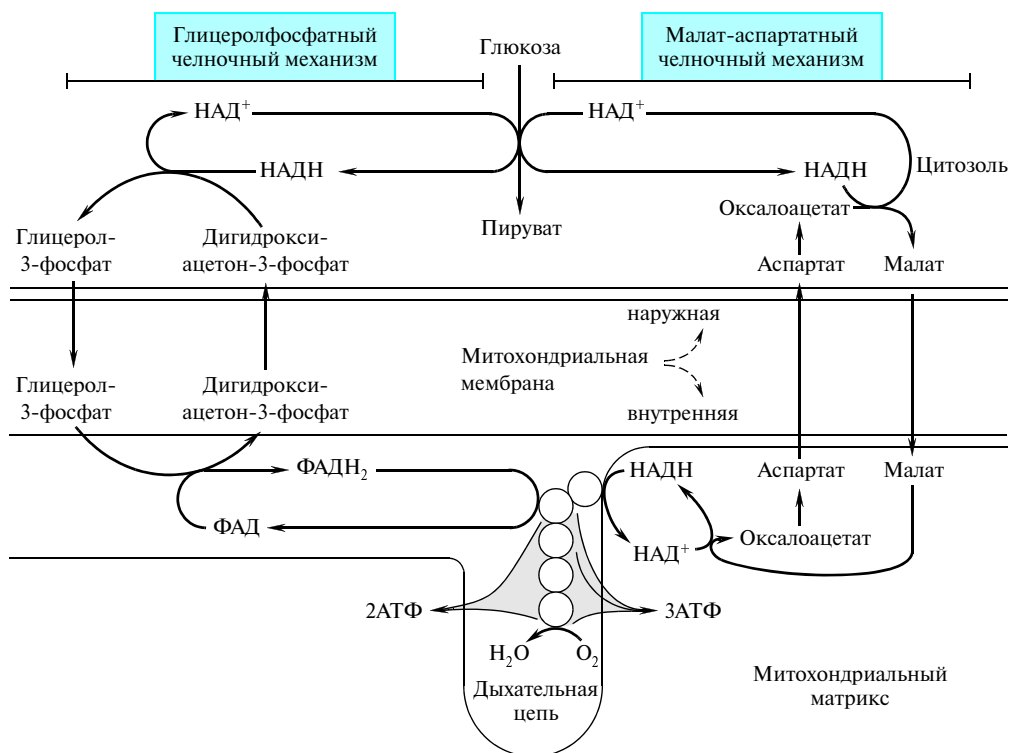


Рис. 19.4. Глицеролфосфатный и малат-аспартатный челночные механизмы транспорта НАДН через внутреннюю мембрану митохондрий

с помощью так называемого глицеролфосфатного челночного механизма (рис. 19.4).

Цитоплазматический НАДН вначале восстанавливает дигидроксиацетон-3-фосфат (ДОАФ) до глицерол-3-фосфата, который легко проникает через митохондриальную мембрану, где снова окисляется до дигидроксиацетон-3-фосфата, но при действии фермента, коферментом которого является ФАД:



Окисление в дыхательной цепи ФАДН₂ приводит к синтезу не трех, а двух молекул АТФ. Таким образом, если функционирует глицеролфосфатный челночный механизм, то при полном окислении одной молекулы глюкозы синтезируется не 38, а 36 АТФ. Известно, что с помощью данного челночного механизма осуществляется перенос восстановительных эквивалентов от цитозольного НАДН в митохондрии в тканях скелетных мышц и мозга.

В клетках печени, сердечной мышцы и других функционирует так называемая *малат-аспартатная челночная система* переноса восстановительных эквивалентов от цитоплазматического НАДН в митохондриальный матрикс. Этот механизм происходит без затраты энергии, поскольку восстановительные эквиваленты цитоплазматического НАДН в митохондриях восстанавливают также НАДН, окисление которого в дыхательной цепи приводит к синтезу трех молекул АТФ, и суммарный баланс АТФ при полном окислении одной молекулы глюкозы в этом случае составит 38 АТФ.

19.3.3. Регуляция цикла трикарбоновых кислот

Основными регулярными ферментами цикла являются ферменты, катализирующие практически необратимые реакции: цитратсинтаза [реакция (1)] и изоцитратдегидрогеназа [реакция (3)]. Известными ингибиторами первого фермента являются АТФ, НАДН и сукцинил-SКоА. Однако полагают, что главную регуляторную функцию в этом процессе выполняет **изоцитратдегидрогеназа**. Положительными аллостерическими эффекторами (активаторами) являются АДФ и НАД⁺; ингибиторами — АТФ и НАДН.

Регуляторную функцию выполняет также α -кетоглутаратдегидрогеназный комплекс [реакция (4)]. Его активность регулируется, по-видимому, аналогично пируватдегидрогеназе, т. е. продуктами этой реакции (АТФ, НАДН, сукцинил-КоА). Таким образом, решающим фактором при регуляции скорости цикла ТКК является обеспечение клеток энергией, поскольку для большинства тканей основная функция цикла ТКК — обеспечение АТФ и дыхательный контроль. Активность регуляторных ферментов этого цикла зависит от соотношения НАДН/НАД⁺, от доступности АДФ, т. е. в конечном счете от скорости потребления АТФ. Кроме этого, осуществляется регуляция активности ферментов по аллостерическому механизму собственно промежуточными метаболитами самого цикла: сукцинил-КоА ингибирует цитратсинтазу, цитрат активирует изоцитратдегидрогеназу. Установлена также важная роль в регуляции скорости образования цитрата внутримитохондриальной концентрации оксалацетата — метаболита, способного инициировать включение пирувата в процесс глюконеогенеза. Вклад перечисленных выше механизмов в регуляцию скорости цикла ТКК in vivo пока окончательно не выяснен.

Глава 20

АНАБОЛИЗМ УГЛЕВОДОВ

20.1. Биосинтез глюкозы (глюконеогенез)

В растительном мире огромные количества глюкозы образуются путем восстановления диоксида углерода в процессе фотосинтеза. В организме животных глюкоза непрерывно синтезируется в строго регулируемых реакциях из простых предшественников. Предшественниками могут быть: 1) **пируват** или **лактат**; 2) некоторые аминокислоты; 3) любой другой компонент, который в процессе катаболизма может быть превращен в пируват или один из метаболитов ЦТК.

Биосинтез глюкозы из неуглеводных предшественников носит название *глюконеогенез*, а пируват обуславливает вхождение в этот процесс. Как отмечалось выше, в процесс глюконеогенеза вовлекают ряд аминокислот, после превращения их в пируват или оксалоацетат. Такие аминокислоты получили название *глюкогенных*, подробно их метаболические превращения, приводящие к синтезу глюкозы, рассмотрены в гл. 24. Из продуктов деградации триацилглицеролов только глицерол может участвовать в глюконеогенезе путем превращения его в дегидроксиацетон (метаболит гликолиза), а затем в глюкозу.

Подобно тому как гликолиз представляет собой центральный путь катаболизма глюкозы, в процессе которого она распадается до двух молекул пирувата, превращение последних в глюкозу составляет центральный путь глюконеогенеза. Таким образом, глюконеогенез в основном протекает по тому же пути, что и гликолиз, но в обратном направлении. Однако три реакции гликолиза [(1), (3) и (10)] необратимы, и в обход этих реакций в глюконеогенезе протекают другие реакции с иной стехиометрией, катализируемые другими фермента-

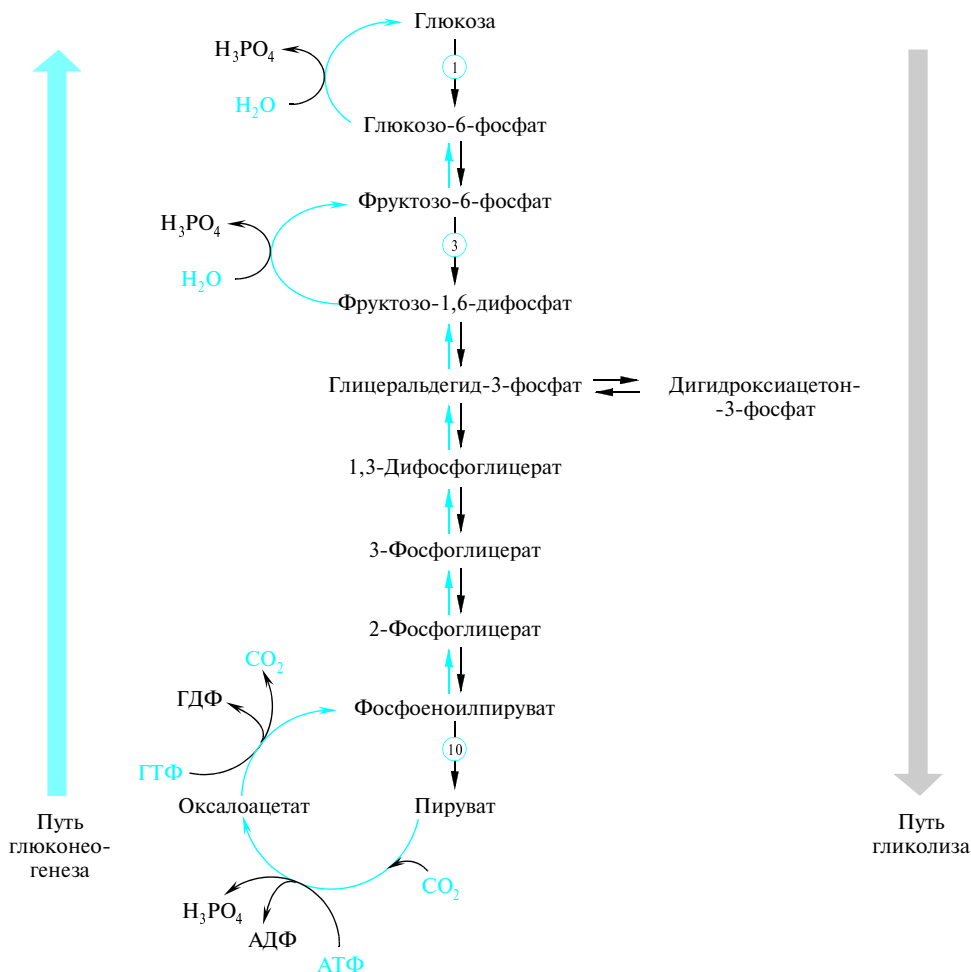


Рис. 20.1. Противоположно направленные пути гликолиза и глюконеогенеза

ми (рис. 20.1). Известны четыре фермента, катализирующие реакции глюконеогенеза и не принимающие участие в гликолизе: пируваткарбоксилаза, фосфоеноилпируваткарбоксикиназа, фруктозо-1,6-дифосфатаза и глюкозо-6-фосфатаза.

Они локализованы преимущественно в печени, где и происходит главным образом глюконеогенез. Значительно менее интенсивно этот процесс идет в корковом веществе почек.

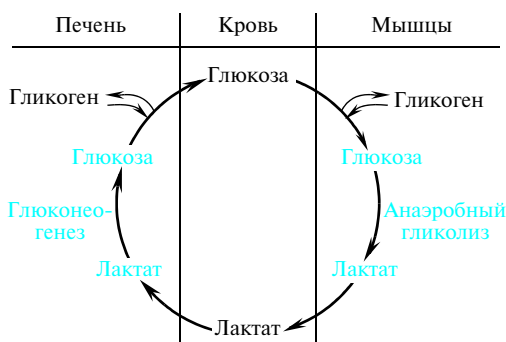


Рис. 20.2. Цикл Кори

После того как в мышцах истощается запас гликогена, основным источником пирувата становятся аминокислоты, образующиеся после деградации белков. При этом более 30% аминокислот, поступающих из крови в печень, приходится на аланин — одну из гликогенных аминокислот, углеродный скелет которой используется в печени как предшественник для синтеза глюкозы. Механизм превращения мышечных аминокислот в аланин, схема его участия в глюконеогенезе представлены в гл. 24. Другим источником пирувата является лактат, который накапливается в интенсивно работающих мышцах в процессе анаэробного гликолиза, когда митохондрии не успевают реокислить накапливающийся НАДН. Лактат транспортируется в печень, где снова превращается в пируват, а затем в глюкозу и гликоген. Этот физиологический цикл (рис. 20.2) называют циклом Кори (по имени его первооткрывателя). У цикла Кори две функции — сберечь лактат для последующего синтеза глюкозы в печени и предотвратить развитие ацидоза.

20.1.1. Обходные реакции глюконеогенеза

Фосфорилирование пирувата. Превращение пирувата в фосфоеноилпируват идет при участии двух ферментов митохондриальной **пируваткарбоксилазы** (ПК) и цитозольного фермента **фосфоеноилпируваткарбоксикиназы** (ФЕКК). Следовательно, на этой стадии процесса принимают участие два отдельных субклеточных компартмента — цитозоль и митохондрии. Схема метаболических превращений пирувата, в том числе образования фосфоеноилпирувата, представлена на рис. 20.3.

Химизм реакции обходного пути фосфорилирования пирувата приведен в табл. 20.1. Первая необратимая реакция глюконеогенеза катализируется митохондриальной пируваткарбоксилазой, которая содержит в качестве кофермента **витамин Н (биотин)**. В митохондриях этот фермент катализирует АТФ-зависимую реакцию карбоксилирования пирувата, в ходе которой образуется оксалоацетат. Для оксалоацетата внутренняя мембрана митохондрий непроницаема, и транспорт его в цитоплазму происходит с помощью *малатного челночного механизма*. Митохондриальная малатдегидрогеназа восстанавливает оксалоацетат до малата, который может выходить в цитоплазму. Затем уже цитоплазматическая малатдегидрогеназа окисляет малат до оксалоацетата для последующего участия в реакции, катализируемой фосфоеноилпируваткарбоксики-

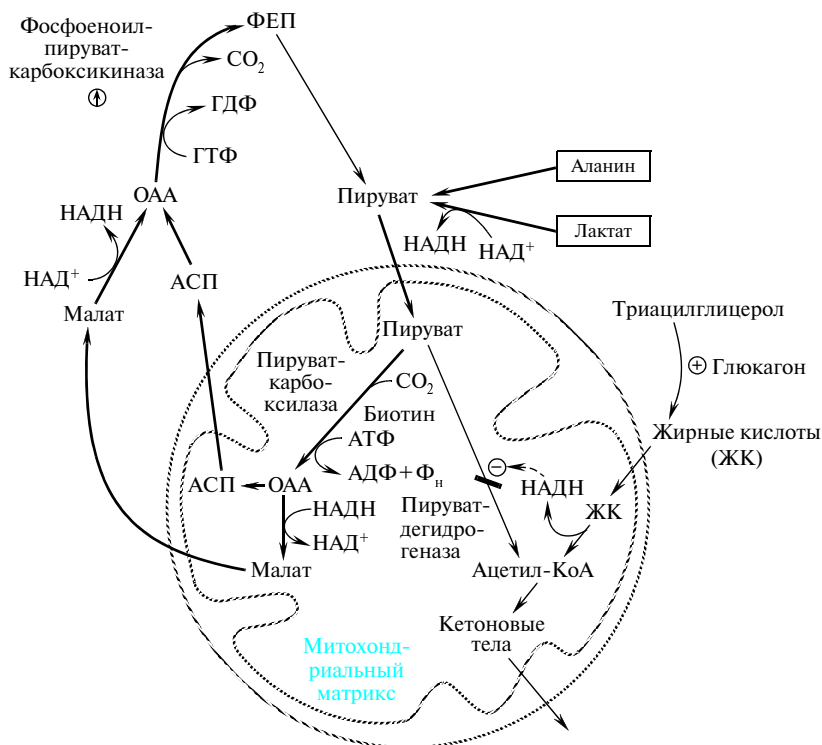
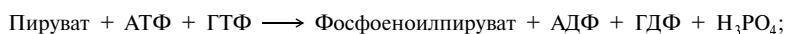


Рис. 20.3. Схема метаболических превращений пирувата

назой. Продуктом этой Mg^{2+} -зависимой реакции, в которой донором фосфата служит ГТФ, является фосфоеноилпируват. Обратите внимание, что фиксированный в пируваткарбоксилазной реакции CO_2 теперь снова отщепляется.

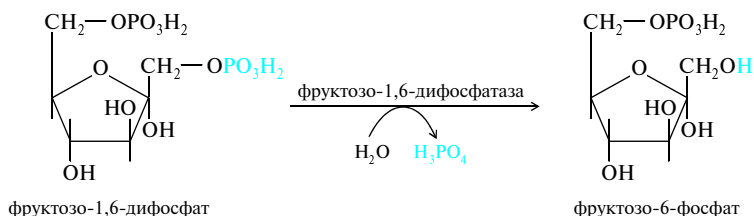
Таким образом, карбоксилирование пирувата в митохондриях имело лишь энергетическое значение, и углерод CO_2 (отмечен звездочкой) в углеродную цепь продукта реакции не включается. Стехиометрическое уравнение реакции:



$$\Delta G^{\circ} = +0,84 \text{ кДж/моль}$$

Дефосфорилирование фруктозо-1,6-дифосфата и глюкозо-6-фосфата.

Эти реакции осуществляются высокоспецифическими ферментами, гидролизующими фосфоэфирную связь. Реакции являются экзергоническими и не требуют затраты энергии. Превращение фруктозо-1,6-дифосфата во фруктозо-6-фосфат катализируется ферментом **фруктозо-1,6-дифосфатазой**:



<http://chemistry-chemists.com>

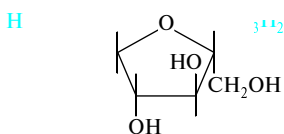
Таким образом, синтез глюкозы из пирувата требует значительной затраты энергии — шесть высокоэнергетических связей (четыре от АТФ и две от ГТФ). Кроме этого, для восстановительных процессов требуются еще две молекулы НАДН.

20.1.2. Регуляция глюконеогенеза

Регуляторным ферментом в глюконеогенезе является пируваткарбоксилаза, катализирующая первую необратимую реакцию этого процесса. Положительным аллостерическим эффектором фермента (активатором) является ацетил-КоА. Поэтому биосинтез глюкозы происходит тогда, когда в митохондриях накапливается больше ацетил-КоА, чем требуется для ЦТК. Кроме того, ацетил-КоА является ингибитором пируватдегидрогеназного комплекса, т. е. замедляет окисление пирувата и способствует биосинтетическому превращению его в глюкозу.

Важную роль в регуляции глюконеогенеза играет другой регуляторный фермент — фруктозо-1,6-дифосфатаза, ингибитором которой является АМФ. Таким образом, при высоком отношении АТФ/АМФ происходит активация глюконеогенеза и ингибирование гликолиза, так как АТФ является ингибитором фермента фосфофруктокиназы, катализирующей обратную реакцию, т. е. образование из фруктозо-6-фосфата фруктозо-1,6-дифосфата.

Недавно было установлено, что наиболее мощным аллостерическим регулятором активности обоих перечисленных выше ферментов является фруктозо-2,6-дифосфат:



фруктозо-2,6-дифосфат (2,6-ФДФ)

Подобно АМФ, он ингибирует фруктозо-1,6-дифосфатазу и активирует фосфофруктокиназу. Известно, что синтез 2,6-ФДФ ингибируется цАМФ. Следовательно, индуцированный глюкагоном рост внутриклеточной концентрации цАМФ в клетках печени должен снижать уровень 2,6-дифосфата, что приводит к активации глюконеогенеза, гликолиз при этом блокируется.

20.2. Биосинтез углеводов из двухуглеродных соединений (ацетил-КоА)

Биосинтез глюкозы из ацетил-КоА происходит у высших растений и микроорганизмов, выращиваемых на среде, в которой единственным источником углерода служит этанол или ацетат. Превращение осуществляется с помощью реакций так называемого глиоксилатного цикла (рис. 20.4).

В животных клетках отсутствуют два ключевых фермента этого цикла — **малатсинтаза** и **изоцитратаза**, или **лиаза изоцитрата**.

Помимо этих двух новых реакций, для осуществления глиоксилатного цикла необходимо еще и одновременное участие трех ферментов цикла три-

карбоновых кислот: **цитратсинтазы, аконитазы и малатдегидрогеназы**. Необходимо также наличие цепи переносчиков электронов для окисления восстановленного НАДН молекулярным кислородом — этот процесс вместе с реакцией, катализируемой малатсинтазой, служит «движущей силой» цикла. В результате в один оборот цикла вовлекаются две молекулы ацетил-КоА и образуется одна молекула сукцината. Образовавшийся таким путем сукцинат может быть затем превращен в углевод в цепи реакций, показанных в правой части

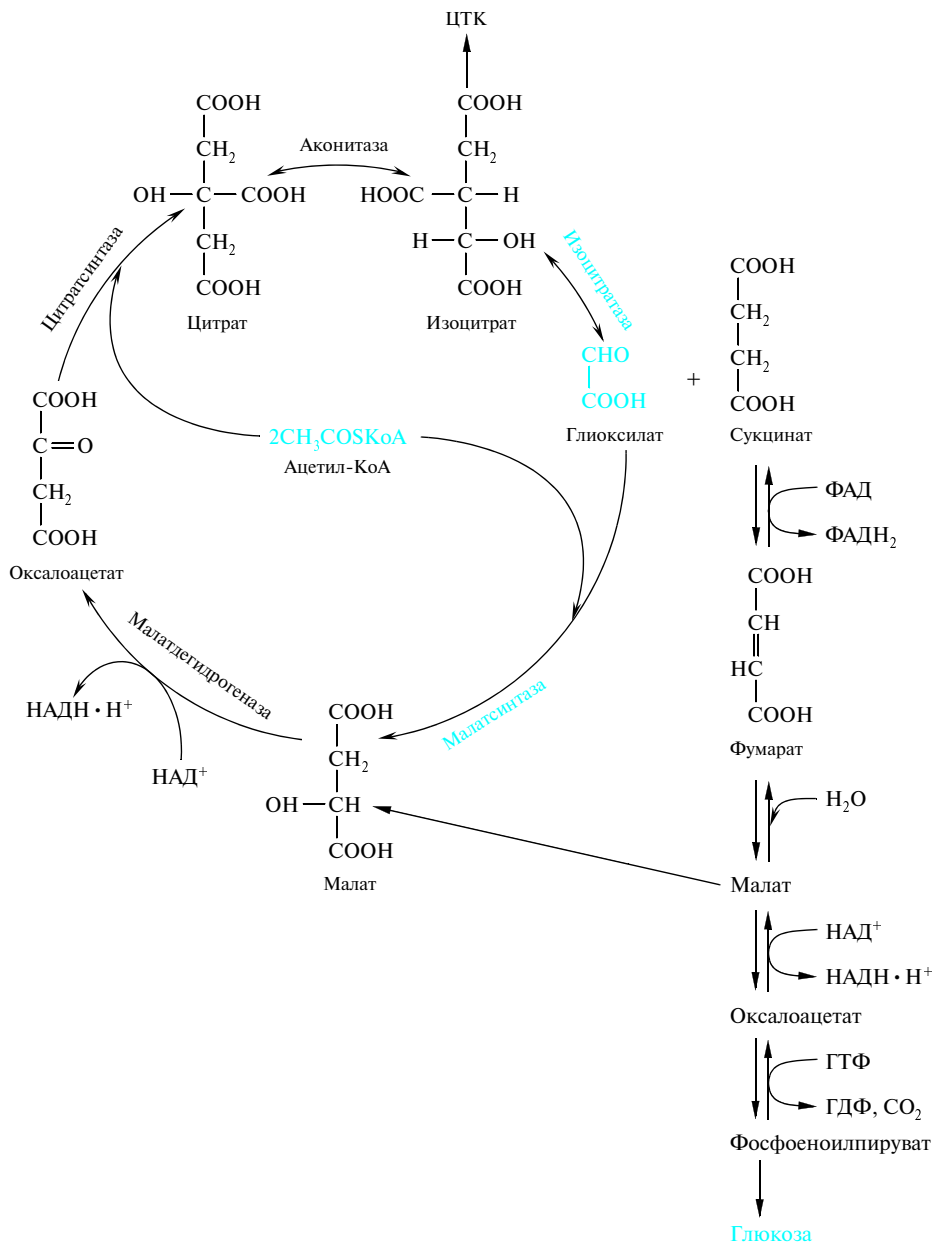


Рис. 20.4. Глиоксилатный цикл

рис. 20.4. Эта цепь включает три дополнительные реакции, катализируемые ферментами ЦТК — **сукцинатдегидрогеназой**, **фумаразой**, **малатдегидрогеназой**, а также реакцию глюконеогенеза, катализируемую ферментом фосфоеноилпируваткарбоксикиназой.

Из всех ферментов, участвующих в цикле, по-видимому, только изоцитратаза, действующая в точке разветвления двух метаболических путей, чувствительна к аллостерическому контролю: у *E.coli* этот фермент ингибируется фосфоеноилпируватом.

20.3. Биосинтез гликогена (гликогеногенез)

Гликоген — основная форма депонирования углеводов у животных — синтезируется главным образом в печени, составляя до 6% от массы печени, и в мышцах, где его содержание редко превышает 1%.

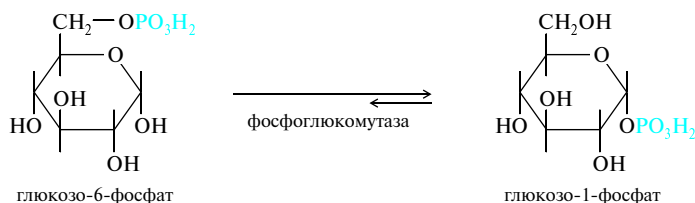
Гликоген печени выполняет важную функцию в поддержании физиологической концентрации глюкозы в крови, прежде всего в промежутках между приемами пищи. Функция мышечного гликогена состоит в том, что он является легкодоступным источником глюкозы в самой мышце. Гликоген локализован в цитозоле клеток в форме гранул, которые кроме гликогена содержат ферменты, участвующие в его обмене.

Следует обратить внимание, что распад и синтез гликогена катализируются разными ферментами и, следовательно, протекают по разным метаболическим путям.

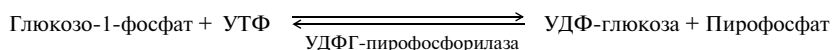
Синтез гликогена начинается через 1—2 ч после приема пищи, содержащей углеводы. Процесс синтеза гликогена требует затраты энергии АТФ.

1. В этой реакции молекула АТФ затрачивается на **фосфорилирование** свободной глюкозы, в результате чего образуется глюкозо-6-фосфат. Это та же реакция, которая является первой в процессе гликолиза (гл. 18). Фосфорилирование глюкозы катализируется в мышцах **гексокиназой**, в печени — **глюкокиназой**.

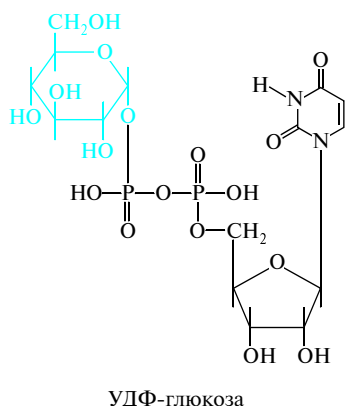
2. Далее следует реакция изомеризации глюкозо-6-фосфата в глюкозо-1-фосфат, которая катализируется ферментом **фосфоглюкомутазой**:



3. Образовавшаяся фосфорилированная глюкоза уже непосредственно вовлекается в синтез гликогена. Однако предварительно она взаимодействует с УТФ, и при действии фермента **глюкозо-1-фосфатуридинтрансферазы** (другое название УДФГ-пирофосфорилаза) образуется **уридиндифосфатглюкоза** (УДФ-глюкоза):



Структурная формула УДФ-глюкозы:



Образовавшаяся УДФ-глюкоза является переносчиком и донором активированных глюкозильных остатков в последующей ферментативной реакции синтеза гликогена. Эта функция нуклеозиддифосфатсахаров была установлена аргентинским биохимиком Л. Лелуаром, удостоенным Нобелевской премии за эти работы.

4. Реакция, приводящая к **образованию гликогена**, происходит при переносе глюкозного остатка, входящего в состав УДФ-глюкозы, на гликозидную «затравочную» цепь гликогена. При этом образуется $\alpha(1 \rightarrow 4)$ -гликозидная связь между первым атомом углерода, добавляемого остатка глюкозы и 4-гидроксильной группой остатка глюкозы в цепи гликогена. Эта реакция катализируется ферментом **гликогенсинтазой** (рис. 20.5).



Таким образом, в результате этой реакции происходит только удлинение цепи, т. е. она требует присутствия полиглюкозной «затравки»: самого гликогена, амилозы, амилопектина или какого-либо олигосахарида с длиной цепи не менее четырех глюкозных остатков и приводит к образованию линейного полимера α -1 \rightarrow 4-глюкана.

У растений донором глюкозильных групп при синтезе крахмала служит АДФ-Д-глюкоза, а не УДФ-производные (гл. 16).

Ветвление цепей гликогена в результате образования α -1 \rightarrow 6-связей (по одной на каждые 8—12 остатков, соединенных α -1 \rightarrow 4-связями) катализируется другим ферментом — α -глюкан-ветвящей **глюкозилтрансферазой** (извест-

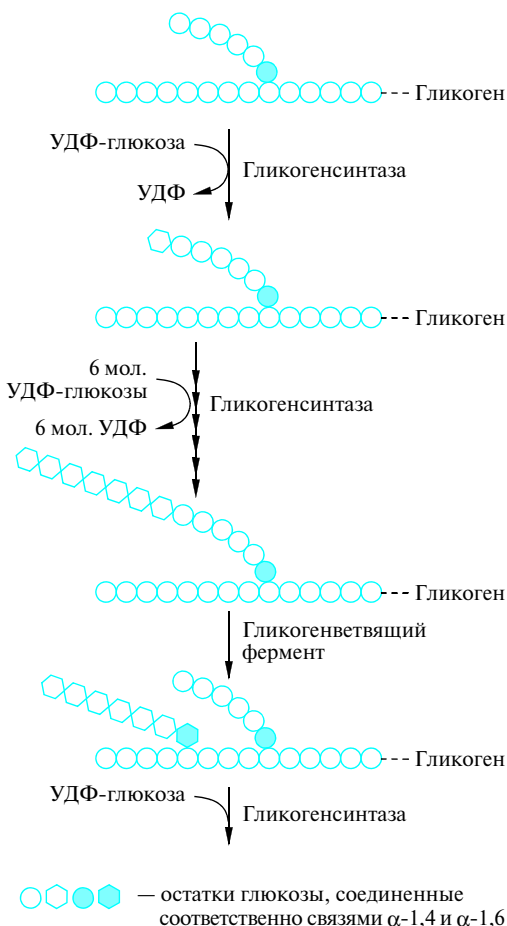
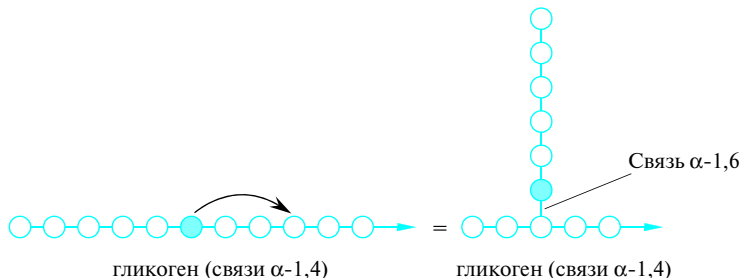
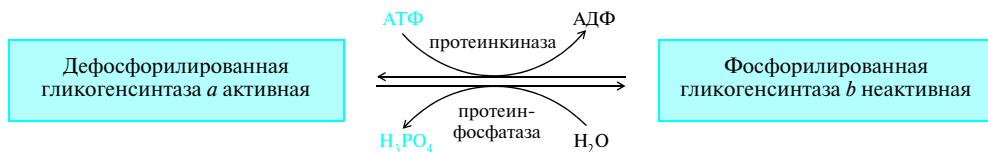


Рис. 20.5. Синтез гликогена

ной также под названием «гликогенветвящий фермент»). Этот фермент отщепляет небольшие фрагменты цепи 1,4-глюкана (шесть или семь мономерных единиц) и переносит их на ту же самую (или другую аналогичную) цепь, но в положение 6, в результате чего образуется 1,6-связь по схеме:



Регуляция гликогеногенеза. В гл. 18 приведена регуляция расщепления гликогена (гликогенолиза) посредством обратимой ковалентной химической модификации фермента гликогенфосфорилазы (фосфорилирование — дефосфорилирование). Гликогенсинтаза также существует в двух формах — фосфорилированной и дефосфорилированной, но она регулируется реципропно по отношению к гликогенфосфорилазе, т. е. прямо противоположным образом. В результате сложного каскада реакций фосфорилирование активной гликогенсинтазы *a* приводит к переходу ее в фосфорилированную неактивную форму:



Протеинкиназа и протеинфосфатаза — это те же самые ферменты, которые участвовали во взаимопревращении *a*- и *b*-форм гликогенфосфорилазы.

Таким образом, такие гормоны, как **адреналин** и **глюкагон**, действие которых опосредовано цАМФ, синхронно ингибируют синтез гликогена и активируют гликогенолиз, тем самым их гормональное воздействие приведет к повышению сахара в клетках печени и крови (рис. 20.6).

Следует отметить, что в мышечной ткани рецепторы глюкагона отсутствуют и регуляторное действие этого гормона на обмен гликогена отмечено лишь в печени.

Известна также аллостерическая регуляция активности гликогенсинтазы *b*. Будучи фосфорилированным, этот фермент мало или полностью неактивен, однако глюкозо-6-фосфат (при высокой концентрации) по аллостерическому механизму в значительной степени повышает активность гликогенсинтазы. Эта форма гликогенсинтазы называется D-формой или зависимой (dependent) формой от присутствия глюкозо-6-фосфата, а дефосфорилированная форма — активной и в отсутствие глюкозо-6-фосфата — I-формой или независимой (independent) от присутствия этого модулятора.

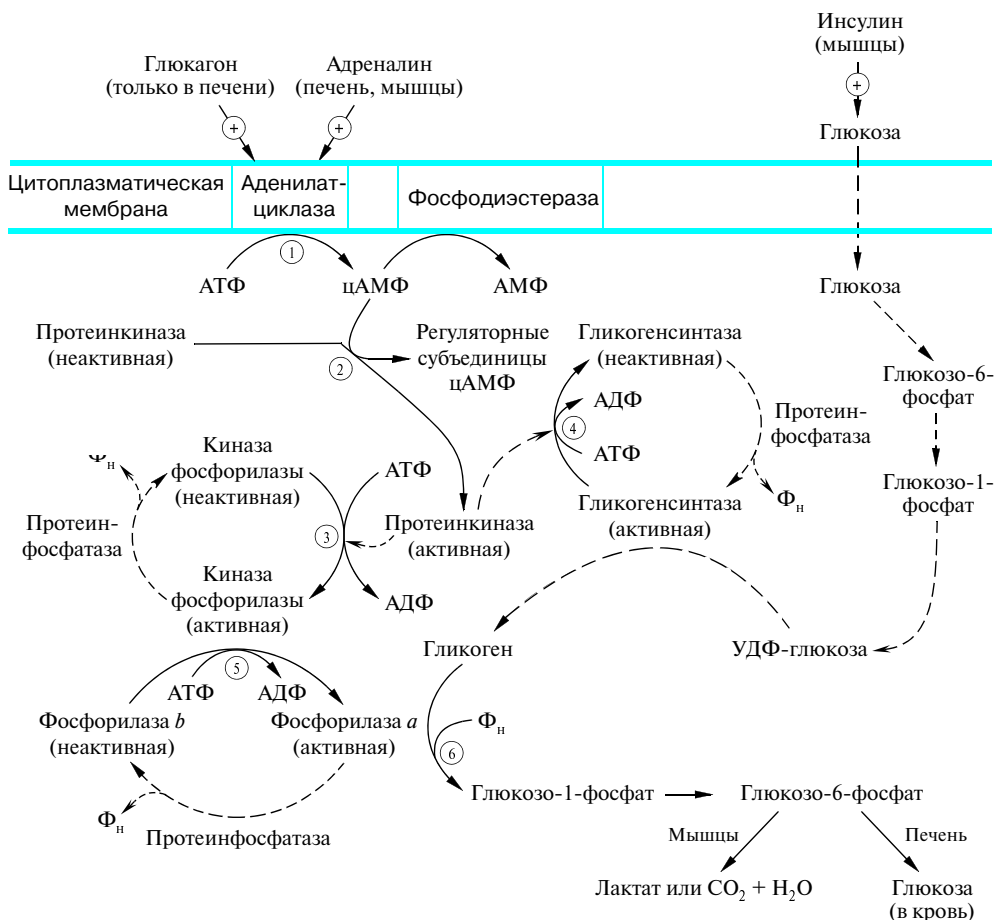


Рис. 20.6. Гормональная регуляция синтеза и деградации гликогена:

①—⑥ — каскад реакций после действия глюкагона и адреналина (сплошная линия);
стимулирующее действие инсулина на синтез гликогена (пунктирная линия)

Активирующее действие на синтез гликогена в мышцах оказывает также инсулин, способствуя дефосфорилированию гликогенсинтазы за счет активации протеинфосфатазы, катализирующей реакцию дефосфорилирования этого фермента.

20.4. Общие принципы регуляции углеводного обмена

Процессы регуляции углеводного обмена находятся под контролем большого количества различных факторов, обеспечивающих координацию и сбалансированность сложных химических процессов распада и синтеза углеводов.

Существует два основных уровня контроля:

- нейрогормональный (у высших животных);
- метаболический (во всех типах организмов).

Однако независимо от уровня регуляции регуляторный сигнал реализуется через внутриклеточные механизмы, т. е. путем изменения активности или

количества фермента либо скорости трансмембранного переноса веществ (метаболическая регуляция).

На активность ферментов углеводного обмена влияют концентрации субстратов и продуктов реакции, кислородный режим, избирательная проницаемость биомембран, концентрация коферментов и др. (гл. 18 и 19).

В основе регуляторных механизмов изменения активности ферментов углеводного обмена лежат два пути: аллостерическая регуляция по типу прямой и обратной связи и обратимая ковалентная модификация ферментов (фосфорилирование — дефосфорилирование). Ранее уже рассматривались регуляторные механизмы различных процессов метаболизма углеводов. На рис. 20.7 приведена обобщенная схема механизмов регуляции углеводного обмена в организме млекопитающих, в том числе и гормонального (через цАМФ). В схеме приведены только основные пункты контроля.

Как видно из рис. 20.7, можно выделить три группы регуляторных сигналов:

- АТФ, АДФ и АМФ;
- НАДН, НАД^+ ;
- промежуточные метаболиты: глюкозо-6-фосфат, изоцитрат, ацетил-КоА, сукцинил-КоА.

Повышение уровней АДФ, АМФ, НАД^+ представляет сигнал, увеличивающий скорость катаболизма и уменьшающий скорость анаболизма, в то время как высокие уровни АТФ, НАДН (первичный источник энергии для синтеза АТФ) представляют собой сигналы, снижающие скорость реакций катаболизма. Все влияния по типу прямой и обратной связи согласованы друг с другом и с влиянием АТФ, АДФ, АМФ, НАД^+ , НАДН. Следует помнить, что в организме человека, высших животных на всех стадиях синтеза и распада уг-

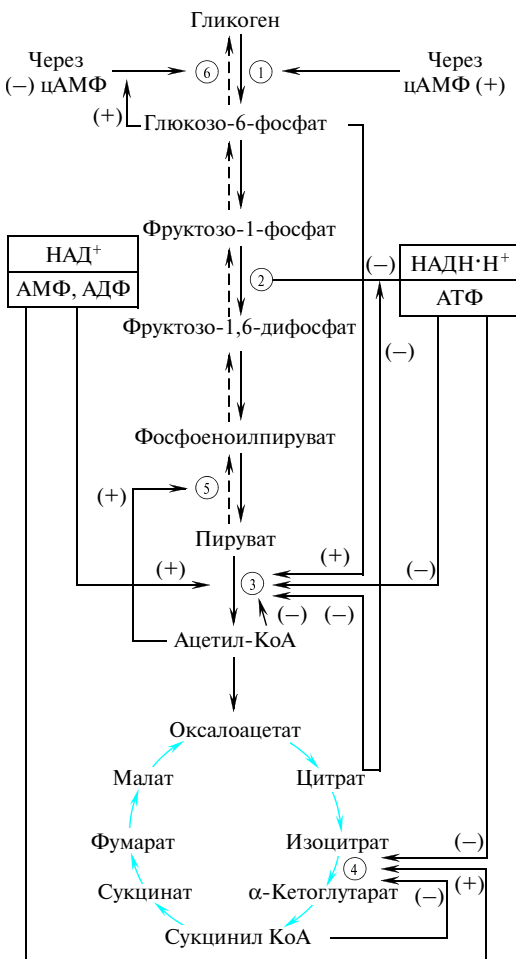


Рис. 20.7. Схема регуляторных механизмов ряда процессов углеводного обмена млекопитающих:

реакции катаболизма (гликогенолиз, гликолиз, окислительное декарбоксилирование пирувата, цикл ТКА) — сплошные линии; реакции анаболизма (глюконеогенез, синтез гликогена) — пунктирные линии. Активация ферментов (+); ингибирование (-). Главные регуляторные ферменты: ① — гликогенфосфорилаза; ② — фосфофруктокиназа; ③ — пируватдекарбоксилаза; ④ — изоцитратдегидрогеназа; ⑤ — пируваткарбоксилаза; ⑥ — гликогенсинтаза

леводов регуляция углеводного обмена осуществляется при участии ЦНС и гормонов. Механизмы этого уровня регуляции подробно рассмотрены в гл. 13.

Регуляция метаболизма углеводов осуществляется гормонами поджелудочной железы — инсулином и глюкагоном; гормонами коркового слоя надпочечников — глюкокортикоидами.

Инсулин является единственным гормоном, резко снижающим содержание сахара в крови. Его действие на углеводный обмен полифункционально. Основные механизмы регуляции связаны с повышением в присутствии инсулина проницаемости клеточных мембран для транспорта глюкозы внутрь клетки, а также опосредовано через активацию синтеза регуляторных ферментов катаболизма глюкозы — гексокиназы и фосфофруктокиназы, фермента синтеза гликогена — гликогенсинтазы (гл. 13).

Адреналин и глюкагон осуществляют регуляцию метаболизма гликогена путем изменения активности гликогенфосфорилазы и гликогенсинтазы (через цАМФ) таким образом, что торможение гликогеногенеза и стимуляция гликогенолиза осуществляются одновременно, т. е. реципропно. Глюкокортикоиды (11-гидроксистероиды) усиливают глюконеогенез за счет интенсификации катаболизма белков и аминокислот в тканях и вовлечения промежуточных метаболитов в процесс глюконеогенеза. Таким образом, в рассмотренных случаях адреналин, глюкагон, глюкокортикоиды действуют как *антагонисты* инсулина. На содержание сахара в крови влияет также гормон щитовидной железы тироксин (подобно инсулину). Гормоны передней доли гипофиза — гормон роста (соматотропин), АКТГ и, вероятно, другие факторы повышают уровень сахара в крови, однако механизмы действия этих гормонов в значительной степени являются опосредованными, поскольку они стимулируют мобилизацию из жировой ткани свободных жирных кислот, которые являются ингибиторами потребления глюкозы.

20.5. Нарушения углеводного обмена

Наиболее информативным показателем состояния углеводного обмена является уровень глюкозы в крови. В постабсорбтивный период (после завершения периода пищеварения), обычно утром после сна, в норме концентрация глюкозы равна 3,3—5,5 ммоль/л.

Гипергликемия — повышение сахара в крови, появление глюкозы в моче (глюкозурия) — наблюдается при различных заболеваниях: сахарном диабете, гипофизарных заболеваниях, опухолях коркового вещества надпочечников, гиперфункции щитовидной железы. Гипергликемия может также возникать при органических поражениях ЦНС, расстройствах мозгового кровообращения, болезнях печени воспалительного или дегенеративного характера.

Гипогликемия — понижение содержания сахара в крови — нередко связана с поражением эндокринных желез, а именно гипофункции щитовидной железы (гипотиреоз), паращитовидных желез, гиперфункции поджелудочной железы и повышенной продукции инсулина. Гипогликемия может наблюдаться также при голодании, большой физической нагрузке, приеме β -ганглиоблокаторов.

Постоянное поступление глюкозы необходимо в качестве основного источника энергии для нервной системы и эритроцитов. При понижении кон-

центрации глюкозы в крови ниже определенного критического уровня нарушается функционирование мозга. При тяжелой гипогликемии может возникнуть коматозное состояние и наступить летальный исход.

Наследственные заболевания. Известны заболевания, возникшие в связи с полным отсутствием или синтезом дефектных ферментов обмена гликогена — *гликогенозы*. Этот термин является общим для группы заболеваний, характеризующихся отложением в тканях либо чрезвычайно больших количеств гликогена, либо необычных его видов. Выделен ряд типов гликогенозов, молекулярной причиной которых является дефект или отсутствие таких ферментов, как глюкозо-6-фосфатаза, гликогенфосфорилаза, фосфоглюкомутаза, киназа фосфорилазы *b* и др.

Известен ряд болезней, сопровождающихся отставанием скорости окисления пирувата от гликолиза. Так, при опухолевых заболеваниях гликолиз идет со скоростью, превышающей возможность цикла трикарбоновых кислот, что приводит к локальному повышению кислотности в опухолевой ткани; эту особенность метаболизма рекомендуется использовать в терапии некоторых форм опухоли. Недостаточная активность ферментов, участвующих в метаболизме фруктозы и галактозы, приводит к таким метаболическим заболеваниям, как идеопатическая фруктозурия и галактоземия (гл. 7; 7.3.2).

Глава 21

ЛИПИДЫ. СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИИ

21.1. Общая характеристика

Липиды (от греч. *λίπος* — жир) — низкомолекулярные органические соединения, полностью или почти полностью нерастворимые в воде, могут быть извлечены из клеток животных, растений и микроорганизмов неполярными органическими растворителями, такими, как хлороформ, эфир, бензол.

Гидрофобность (или липофильность) является отличительным свойством этого класса соединения, хотя по природе — химическому строению и структуре — они весьма разнообразны. В их состав входят спирты, жирные кислоты, азотистые соединения, фосфорная кислота, углеводы и др. Следовательно, учитывая различия в химическом строении, функциях соединений, относящихся к липидам, дать единое определение для представителей этого класса веществ невозможно.

21.2. Биологические функции липидов

Роль липидов в процессах жизнедеятельности организма велика и разнообразна. К основным функциям липидов относятся структурная, энергетическая, резервная, защитная, регуляторная.

Структурная. В комплексе с белками липиды являются структурными компонентами всех биологических мембран клеток, а следовательно, влияют на их проницаемость, участвуют в передаче нервного импульса, в создании межклеточного взаимодействия и других функциях биомембран.

Энергетическая. Липиды являются наиболее энергоемким «клеточным топливом». При окислении 1 г жира выделяется 39 кДж энергии, что в два раза больше, чем при окислении 1 г углеводов.

Резервная. Липиды являются наиболее компактной формой депонирования энергии в клетке. Они резервируются в адипоцитах — клетках жировой ткани. Содержание жира в организме взрослого человека составляет 6—10 кг.

Защитная. Обладая выраженными термоизоляционными свойствами, липиды предохраняют организм от термических воздействий; жировая прокладка защищает тело и органы животных от механических и физических повреждений; защитные оболочки в растениях (восковой налет на листьях и плодах) защищают от инфекции и излишней потери или накопления воды.

Регуляторная. Некоторые липиды являются предшественниками витаминов, гормонов, в том числе гормонов местного действия — эйкозаноидов: простагландинов, тромбоксанов и лейкотриенов. Регулярная функция липидов проявляется также в том, что от состава, свойств, состояния мембранных липидов во многом зависит активность мембрано-связанных ферментов.

У бактерий липиды определяют таксономическую индивидуальность, дифференциацию видов, тип патогенеза и многие другие особенности. Нарушение липидного обмена у человека приводит к развитию таких патологических состояний, как атеросклероз, ожирение, метаболический ацидоз, желчнокаменная болезнь и др.

21.3. Классификация липидов

Липиды представляют собой разнородные в химическом отношении вещества. В связи с этим существуют разные подходы к их классификации. На рис. 21.1 приведена классификация липидов, в соответствии с которой они сгруппиро-

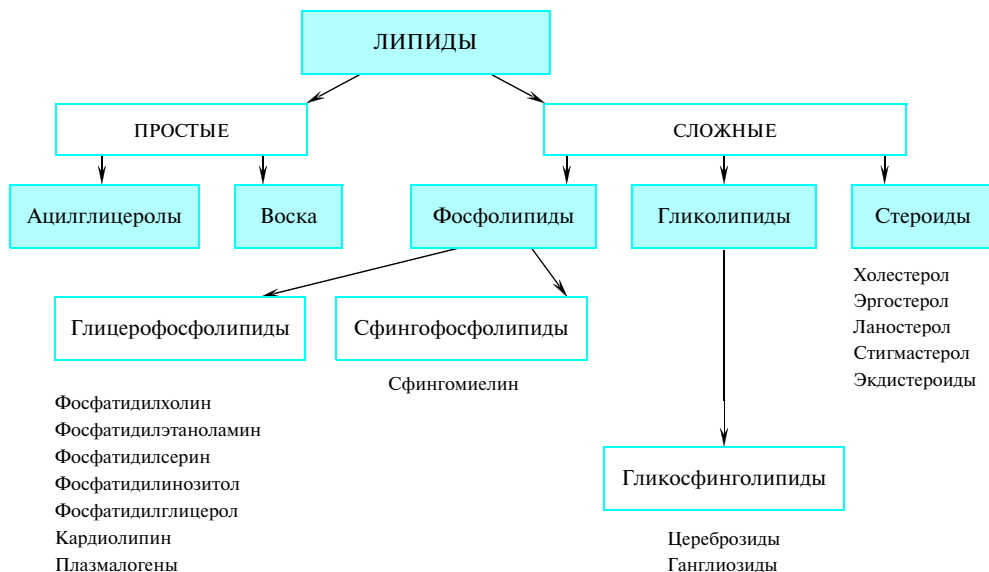


Рис. 21.1. Классификация липидов

ваны в отдельные классы и группы на основании их химического строения и состава.

Определяющим признаком для первичной классификации липидов, приведенной выше, являются входящие в состав липидов многоатомные алифатические спирты, содержащие две или три гидроксильные группы.

21.4. Жирные кислоты

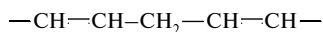
Структурное многообразие, физико-химические свойства липидов в основном обусловлены наличием в их составе жирных кислот. В природе жирные кислоты в свободном виде встречаются редко. Они входят в состав различных классов липидов, образуя *эфирные* или *амидные* связи.

Свойства и особенности природных жирных кислот. В природе обнаружено более 200 жирных кислот. Однако широкое распространение имеют не более 20, которым присущ ряд общих свойств и особенностей.

- Жирные кислоты, входящие в состав липидов высших растений и животных, — это *монокарбоновые* кислоты, содержащие линейные углеводородные цепи (обычно $C_{12}-C_{20}$) общей формулы $CH_3(CH_2)_nCOOH$.

- Жирные кислоты обычно содержат четное число атомов углерода. Однако в природе, хотя и редко, встречаются также кислоты с нечетным числом углеродных атомов.

- В липидах содержатся кислоты как *насыщенные*, так и с одной или несколькими *ненасыщенными* (этиленовыми) связями. Они всегда разделены одной метиленовой группой



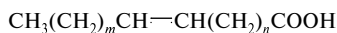
Следовательно, все природные ненасыщенные кислоты являются *несопряженными* и могут быть изображены общей формулой



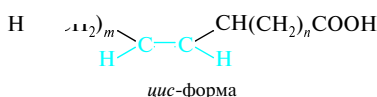
Следует отметить, что на долю ненасыщенных кислот в природных липидах приходится примерно $\frac{3}{4}$ всех жирных кислот.

- Как правило, природные ненасыщенные жирные кислоты имеют *цис-конфигурацию*, и крайне редко в полиеновых кислотах встречается *транс-конфигурация*. Конфигурация и свойства *цис*-изомеров жирных кислот приведены ниже.

Общая формула



моноеновые кислоты



Ниже приведены формулы наиболее распространенных жирных кислот.

Насыщенные жирные кислоты

| | |
|-----------------------------------|---|
| Лауриновая (C ₁₂) | CH ₃ —(CH ₂) ₁₀ —COOH |
| Миристиновая (C ₁₄) | CH ₃ —(CH ₂) ₁₂ —COOH |
| Пальмитиновая (C ₁₆) | CH ₃ —(CH ₂) ₁₄ —COOH |
| Стеариновая (C ₁₈) | CH ₃ —(CH ₂) ₁₆ —COOH |
| Арахидовая (C ₂₀) | CH ₃ —(CH ₂) ₁₈ —COOH |
| Бегеновая (C ₂₂) | CH ₃ —(CH ₂) ₂₀ —COOH |
| Лигноцериновая (C ₂₄) | CH ₃ —(CH ₂) ₂₂ —COOH |

Моноеновые жирные кислоты

| | |
|--------------------------------------|--|
| Пальмитоолеиновая (C ₁₆) | CH ₃ —(CH ₂) ₅ —CH=CH—(CH ₂) ₇ —COOH |
| Олеиновая (C ₁₈) | CH ₃ —(CH ₂) ₇ —CH=CH—(CH ₂) ₇ —COOH |
| Эруковая (C ₂₂) | CH ₃ —(CH ₂) ₇ —CH=CH—(CH ₂) ₁₁ —COOH |
| Нервоновая (C ₂₄) | CH ₃ —(CH ₂) ₇ —CH=CH—(CH ₂) ₁₃ —COOH |

Полиеновые жирные кислоты

| | |
|------------------------------|--|
| Линолевая (C ₁₈) | CH ₃ —(CH ₂) ₄ —CH=CH—CH ₂ —CH=CH—(CH ₂) ₇ —COOH (с двумя двойными связями) |
|------------------------------|--|

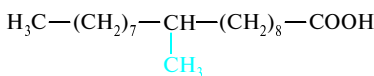
| | |
|--------------------------------|---|
| Линоленовая (C ₁₈) | CH ₃ —CH ₂ —CH=CH—CH ₂ —CH=CH—CH ₂ —CH=CH—(CH ₂) ₇ —COOH (с тремя двойными связями) |
|--------------------------------|---|

| | |
|---|--|
| Дигомо-γ-линоленовая (C ₂₀) | CH ₃ (CH ₂) ₄ (CH=CHCH ₂) ₃ (CH ₂) ₃ —COOH (с тремя двойными связями) |
|---|--|

| | |
|---------------------------------|---|
| Арахидоновая (C ₂₀) | CH ₃ —(CH ₂) ₄ —CH=CH—CH ₂ —CH=CH—CH ₂ —CH=CH—CH ₂ —CH=CH—(CH ₂) ₃ —COOH (с четырьмя двойными связями) |
|---------------------------------|---|

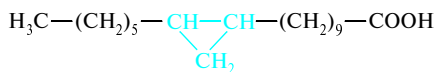
| | |
|-----------------------------------|---|
| Клупанодоновая (C ₂₂) | CH ₃ —CH ₂ —CH=CH—CH ₂ —CH=CH—CH ₂ —CH=CH—CH ₂ —CH=CH—CH ₂ —CH=CH—(CH ₂) ₅ —COOH (с пятью двойными связями) |
|-----------------------------------|---|

Наряду с насыщенными и ненасыщенными жирными кислотами с линейной цепью углеродных атомов в природе встречаются жирные кислоты с разветвленной цепью. В частности, к ним относится туберкулостеариновая кислота, выделенная из туберкулезной палочки:



туберкулостеариновая кислота (C₁₉)

В некоторых бактериях и растениях были найдены жирные кислоты, содержащие циклопропановое кольцо, например лактобацилловая кислота:



лактобацилловая кислота (C₁₉)

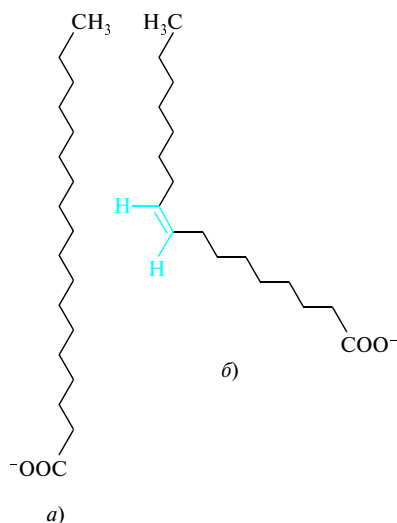
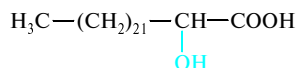


Рис. 21.2. Пространственная структура насыщенной (а) и *цис*-изомера ненасыщенной моноеновой (б) жирных кислот

К числу так называемых необычных жирных кислот относятся также гидроксикислоты. В частности, в состав цереброзидов белого вещества мозга входит цереброновая кислота (C_{24}):



Как правило, гидроксикислоты входят в состав липидов бактериальных клеток. Их представителями являются 2-гидроксипальмитиновая, 2-гидроксистеариновая и 2-гидроксигноцериновая (цереброновая) кислоты. Следует отметить, что состав бактериальных липидов отличается большим разнообразием и спектр жирных кислот разных видов приобрел значение таксономического критерия для идентификации организмов.

Большое число неполярных связей $C-C$ и $C-H$ в углеводородной цепи жирных кислот придает неполярный характер молекуле липида в целом, хотя в ней имеется полярная, заряженная, группа $-COO^-$. Неполярность высших жирных кислот является причиной нерастворимости липидов в воде. Помимо этого, фактор гидрофобности обуславливает также особую сборку липидов в биомембране.

По данным рентгеноструктурного анализа монокристаллов высших жирных кислот, насыщенные углеводородные цепи представляют собой зигзагообразные структуры, в которых угол между $C-C$ -связями лежит в пределах $110-114^\circ$ для насыщенной и 123° — для двойной связи природного *цис*-изомера кислоты (рис. 21.2).

Таким образом, *цис*-конфигурация двойной связи придает углеводородной цепи укороченный вид за счет ее изгиба. Введение *цис*-этиленовой связи существенно влияет на свойства жирных кислот. Так, с увеличением числа двойных связей значительно снижается температура плавления жирных кислот, возрастает их растворимость в неполярных растворителях (табл. 21.1).

Таблица 21.1. Некоторые свойства ненасыщенных высших жирных кислот, содержащих 18 атомов углерода

| Кислота | Число двойных связей | Температура плавления, $^\circ C$ | Растворимость в этаноле, % |
|-------------|----------------------|-----------------------------------|----------------------------|
| Стеариновая | 0 | 70 | 2,5 |
| Олеиновая | 1 | 14 | Неограничена |
| Линолевая | 2 | 5 | |
| Линоленовая | 3 | -11 | |

Все природные ненасыщенные жирные кислоты при комнатной температуре находятся в жидком состоянии. В водном растворе жирные кислоты образуют мицеллы, конформация которых зависит от длины углеводородной цепи, числа двойных связей, соотношения полярной и неполярной частей молекулы. В обычных мицеллах гидрофильные полярные головки ($-\text{COO}^-$ -группа) жирных кислот обращены в сторону водной фазы, тогда как неполярные углеводородные цепи образуют гидрофобное ядро, изолированное от водного окружения (рис. 21.3). Такие мицеллы имеют суммарный отрицательный заряд и в водном растворе остаются в состоянии суспензии. Изгиб в углеводородной цепи ненасыщенной жирной кислоты, а следовательно, больший объем этой кислоты приводят к тому, что они упаковываются не так плотно, как насыщенные кислоты. Подобная конфигурация является менее стабильной и метаболически более активной.

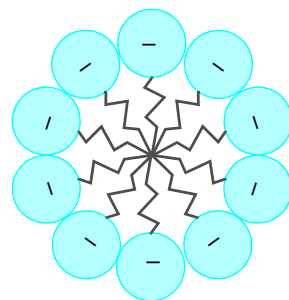


Рис. 21.3. Конформация мицеллы жирной кислоты в воде

Линолевая, линоленовая и другие полиеновые кислоты не синтезируются в организме высших животных и человека и должны поступать в организм с пищей. В связи с тем что эти кислоты необходимы для нормальной жизнедеятельности организма, их относят к *незаменимым* (эссенциальным) жирным кислотам или чаще комплекс этих кислот объединяют в группу витаминов F.

Особая роль в организме принадлежит 20-углеродным (эйкозановым) ненасыщенным кислотам — арахидоновой и дигомо-γ-линоленовой, из которых образуется обширная группа биологически активных веществ *эйкозаноидов*. Наиболее активным предшественником является арахидоновая кислота, из которой синтезируются простагландины, тромбоксаны и лейкотриены. Эйкозаноиды по биологическим функциям относятся к гормонам местного действия, т. е. они образуются во всех тканях и органах, а не в эндокринных железах (гл. 13). Простагландины регулируют физиологические функции тех клеток, в которых они образуются.

Лейкотриены выполняют функцию медиаторов воспалительных реакций и анафилаксии (болезненной аллергической реакции немедленного типа, возникающей в ответ на введение аллергена).

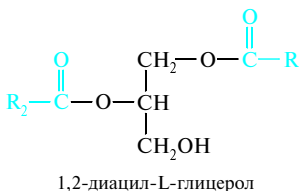
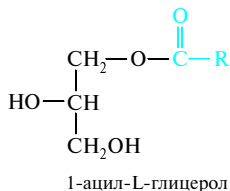
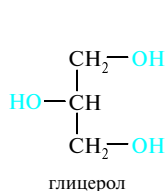
Следует отметить, что многие противовоспалительные лекарственные вещества как стероидной, так и нестероидной природы ингибируют синтез эйкозаноидов.

Практическое применение. Широкое применение нашли соли высших кислот — мыла, — моющее действие которых заключается в эмульгировании жиров и масел и суспендировании мельчайших твердых частичек грязи. Мыла используют также для стабилизации эмульсий, синтетических латексов, пен, в качестве присадок, структурирующих добавок и т. п.

Для анализа смесей жирных кислот наиболее пригоден метод газожидкостной хроматографии (ГЖХ). Этот метод характеризуется высокой разрешающей способностью и обладает достаточно высокой чувствительностью.

21.5. Ацилглицеролы

Ацилглицеролы, или *нейтральные* липиды, — наиболее распространенная в природе группа липидов. Эти соединения представляют собой сложные эфиры жирных кислот и трехатомного спирта глицерола (глицериды), в котором могут быть этерифицированы одна, две или три гидроксильные группы глицерола с образованием соответственно *моно-*, *ди-* и *триацилглицеролов*:



В природе наиболее часто встречаются триацилглицеролы. Поскольку все приведенные выше ацилглицеролы не содержат ионных групп, они относятся к *нейтральным* липидам. Если все три кислотных радикала принадлежат одной и той же жирной кислоте, то такие триацилглицеролы называют простыми, если же разным жирным кислотам, — то смешанными.

Жирные кислоты, входящие в состав триацилглицеролов, определяют их физико-химические свойства. Чем больше в липидах остатков короткоцепочечных и ненасыщенных кислот, тем ниже температура плавления и выше растворимость. Так, животные жиры обычно содержат значительное количество насыщенных жирных кислот, благодаря чему они при комнатной температуре остаются твердыми. Жиры, в состав которых входит много ненасыщенных кислот, будут при этих условиях жидкими; их называют маслами.

Большинство животных жиров содержат в различных соотношениях эфиры пальмитиновой, стеариновой, пальмитоолеиновой, олеиновой и линолевой кислот. В жире человека, плавящемся при 15 °С, содержится около 70% ненасыщенных жирных кислот, и при температуре тела он находится в жидком состоянии. Жиры из различных тканей одного организма так же, как и растительные масла, могут различаться между собой как длиной углеводородных цепей, так и степенью их ненасыщенности.

Для характеристики свойств жира используют константы, или *жировые числа*, — кислотное число, число омыления, иодное число.

Кислотное число — это масса гидроксида калия (мг), необходимая для нейтрализации свободных жирных кислот, содержащихся в 1 г жира.

Число омыления — это масса гидроксида калия (мг), необходимая для гидролиза нейтральных липидов (омыления) и нейтрализации всех жирных кислот (в том числе свободных), содержащихся в 1 г жира.

Иодное число — это масса иода (г), связываемая 100 г жира. Поскольку связывание иода происходит по месту двойных связей ненасыщенных кислот, иодное число характеризует степень ненасыщенности данного жира.

Нейтральные липиды играют важную роль в процессах метаболизма в организме.

Триацилглицеролы жировой ткани являются самой компактной и энергоемкой формой хранения энергии, а также выполняют в подкожном слое роль физической защиты, термо- и электроизоляторов.

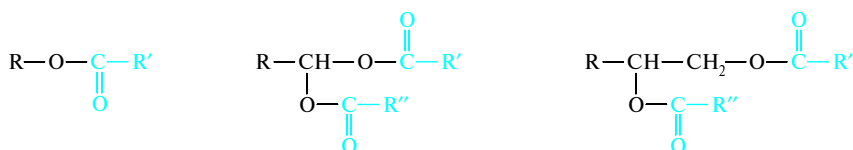
В лимфе и кровяном русле триацилглицеролы входят в состав липопротеиновых комплексов, доставляя и распределяя по всем тканям высшие жирные кислоты, которые наряду с глюкозой являются важнейшим источником энергии.

Липиды нашли широкое применение в медицине и технике. Из них получают основу для лекарственных мазей, мыло, масляные краски, олифу и др.

21.6. Воска

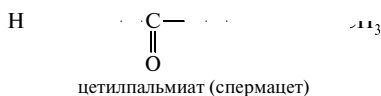
Воска — сложные эфиры высших жирных кислот и высших моноатомных или двухатомных спиртов.

Формулы воска в общем виде можно представить следующим образом:

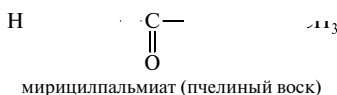


Помимо эфиров, воска содержат свободные высшие жирные спирты, например цетиловый спирт и другие спирты с четным числом углеродных атомов (от C_{22} — C_{32}), а также свободные жирные кислоты с длинной углеводородной цепью (от C_{14} до C_{34}).

Природные воска — пчелиный воск и спермацет — нашли широкое применение в медицине, парфюмерной промышленности. Спермацет, получаемый из головного мозга кашалотов, является сложным эфиром цетилового спирта (первичный спирт, соответствующий пальмитиновой кислоте) и пальмитиновой кислоты:



Пчелиный воск состоит в основном из мирицилпальмиата:



Следует помнить, что природные воска — это комплексы, содержащие кроме эфиров свободные жирные кислоты и спирты, вещества, обуславливающие цвет и запах, минеральные соединения. Воска выполняют в организ-

ме преимущественно защитную функцию, которая сводится к образованию защитных покрытий. Они входят в состав жира, покрывающего кожу, шерсть, перья. У растений около 80% от всех липидов, образующих пленку на поверхности листьев, составляют воска. Известно также, что воска являются нормальными метаболитами некоторых микроорганизмов.

Практическое применение. Спермацет хорошо всасывается через кожные покровы и издавна используется в парфюмерии и медицине как основа для приготовления кремов и мазей. Пчелиный воск применяется в медицине для приготовления мазей, пластырей; входит в состав питательных, отбеливающих, очищающих кремов и масок. Он также находит применение в различных отраслях промышленности благодаря таким свойствам, как кислотоустойчивость, водо- и электроизоляционность, устойчивость к действию света, нагреванию.

21.7. Фосфолипиды

Общий признак всех фосфолипидов — наличие в их составе фосфорной кислоты. В зависимости от спиртового компонента они делятся на *глицерофосфолипиды* и *сфингофосфолипиды*.

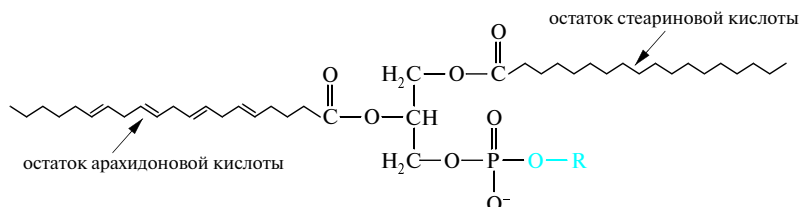
21.7.1. Глицерофосфолипиды

Общим структурным фрагментом всех глицерофосфолипидов является **фосфатидная кислота** (1,2-диацил,3-фосфоглицерол):



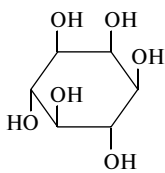
фосфатидная кислота

Фосфатидная кислота образуется в организме в процессе биосинтеза триацилглицеролов и глицерофосфолипидов как общий промежуточный метаболит; в тканях она присутствует в незначительных количествах. Следует отметить, что все природные глицерофосфолипиды относятся к L-ряду. Различные *глицерофосфолипиды* отличаются друг от друга дополнительными группировками, присоединенными фосфоэфирной связью к фосфатидной кислоте. Состав жирных кислот различных глицерофосфолипидов различается даже в пределах одного организма и наряду с замещающими группировками определяет специфичность фосфолипидов:



фосфоэфир фосфатидной кислоты

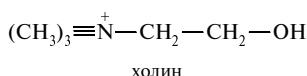
Т а б л и ц а 21.2. Структура заместителей HO-R различных групп фосфолипидов

| Название глицеро- фосфолипида | HO—R | |
|-------------------------------------|--------------------|--|
| | Название | Строение |
| Содержащие азот | | |
| Фосфатидилэтанол-амин (кефалин) | Этаноламин | $\text{HO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2\text{NH}_3^+$ |
| Фосфатидилхолин (лецитин) | Холин | $\text{HO}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$ |
| Фосфатидилсерин | Серин | $\text{HO}-\text{CH}_2\underset{\text{NH}_3^+}{\text{CH}}-\text{COO}^-$ |
| Не содержащие азот | | |
| Фосфатидилглицерол | Глицерол | $\text{HO}-\text{CH}_2\underset{\text{OH}}{\text{CH}}-\text{CH}_2\text{OH}$ |
| Кардиолипин | Фосфатидилглицерол | $\text{HO}-\underset{\text{OH}}{\text{CH}_2}\text{CH}-\text{CH}_2-\text{O}-\underset{\text{OH}}{\overset{\text{O}}{\text{P}}}-\text{O}-\text{CH}_2-\underset{\text{O}-\text{CR}_2}{\text{CH}}-\text{CH}_2-\text{O}-\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}-\text{R}_1$ |
| Фосфатидилинозитол | Инозитол |  |

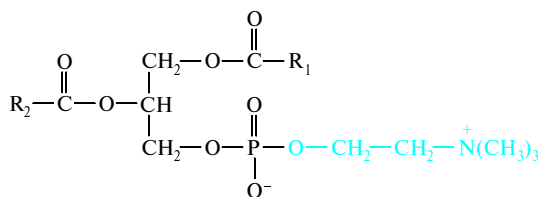
Основные представители глицерофосфолипидов, отличающиеся группой HO-R, приведены в табл. 21.2.

Таким образом, молекулы фосфолипидов имеют гидрофобную часть, образованную радикалами жирных кислот, и гидрофильную — остатки фосфорной кислоты, аминокислот, аминокспиртов. Глицерофосфолипиды широко распространены в организме животных. Ниже приведены характеристика структур, функций и распространение в природе основных глицерофосфолипидов.

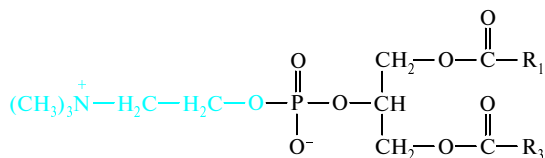
Фосфатидилхолин (лецитин). В своем составе содержит аминокспирт холин (гидроксид 3-гидроксиэтилтриметиламмония):



В зависимости от того, с каким атомом углерода глицерола связана фосфорная кислота (α — в крайнем положении, β — в срединном), различают два типа фосфатидилхолинов (α и β).



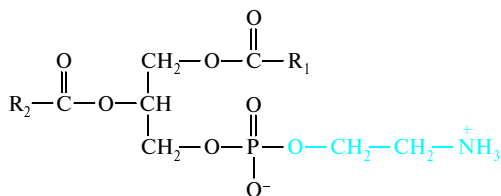
α -фосфатидилхолин



β -фосфатидилхолин

Фосфатидилхолины широко распространены в клетках, особенно мозговой ткани человека и животных; в растениях они встречаются в соевых бобах, семенах подсолнечника, зародышах пшеницы. В бактериях их содержание крайне невелико.

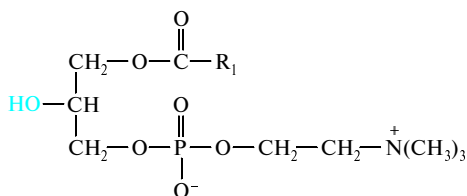
Фосфатидилэтаноламин (кефалин). В состав фосфатидилэтаноламинов вместо холина входит азотистое основание этаноламин $\text{HO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}^+\text{H}_3$.



фосфатидилэтаноламин

В организме животных и в высших растениях в наибольшем количестве встречаются фосфатидилхолины и фосфатидилэтаноламины. Эти две группы глицерофосфолипидов являются главными липидными компонентами мембран клеток.

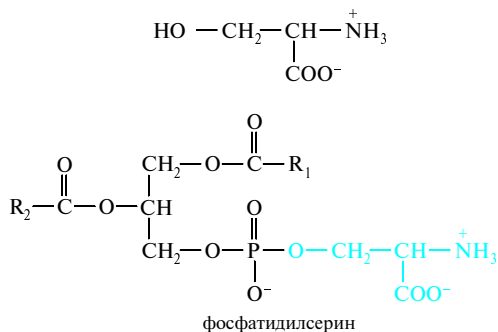
Лизофосфатидилхолин и лизофосфатидилэтаноламин. Образуются при гидролизе в фосфатидилхолине или фосфатидилэтаноламине сложноэфирной связи в положении 2 при действии специфичного фермента — фосфолипазы A_2 , особенно активного, например, в змеином яде:



лизофосфатидилхолин

Образующиеся лизофосфолипиды обладают сильным гемолитическим действием.

Фосфатидилсерин. В молекуле фосфатидилсерина полярной группой является остаток аминокислоты серина:



Фосфатидилсерины распространены менее широко, чем фосфатидилхолины и фосфатидилэтаноламины. Метаболически все три группы фосфолипидов связаны между собой. Значение фосфатидилсерина определяется тем, что он является предшественником в синтезе двух других групп.

Кроме того, были выделены фосфолипиды, содержащие вместо аминокислоты серина остаток аминокислоты треонина.

Плазмалогены. Известны также глицерофосфолипиды, которые в отличие от приведенных выше — фосфатидилэтаноламина, фосфатидилхолина, фосфатидилсерина — отличаются тем, что вместо остатка кислоты при атоме углерода C_1 они содержат α , β -ненасыщенный спирт, образующий простую эфирную связь с гидроксильной группой глицерола.

При гидролизе этой эфирной связи образуется альдегид соответствующего спирта. Отсюда название группы — фосфатидали: фосфатидальэтаноламин, фосфатидальхоллин, фосфатидальсерин. Использование термина плазмалогены для обозначения веществ этой группы фосфолипидов обусловлено тем, что альдегид жирной кислоты называется плазмалем.

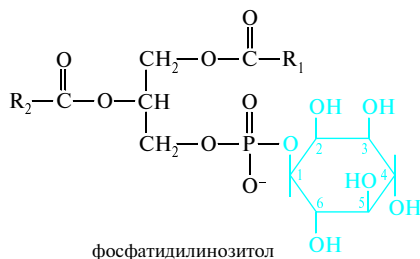
Для примера приведена формула представителя плазмалогенов — фосфатидальэтанолamina:



На долю плазмалогенов приходится до 10% фосфолипидов мозга и мышечной ткани. Они обнаружены также в эритроцитах, тканях некоторых беспозвоночных (до 25%), входят в состав бактериальных мембран, но практически не встречаются в растениях.

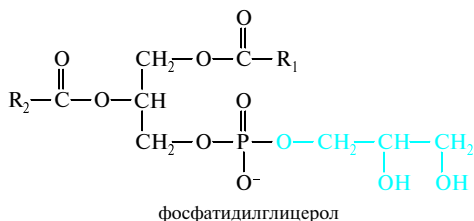
Фосфатидилинозитол. В отличие от других групп глицерофосфолипидов в состав фосфатидилинозитола вместо азотсодержащих соединений входит

шестиуглеродный циклический спирт инозитол, представленный одним из его стереоизомеров — моноинозитолом.



Фосфатидилинозитол входит в состав клеточных мембран животных, высших растений, различных микроорганизмов, особенно высоко его содержание в миелиновых оболочках нервных волокон. Важное значение имеют фосфорилированные производные фосфатидилинозитолов, например фосфатидилинозитол-4,5-дифосфат, который под действием фосфолипазы С гидролизуется до моноинозитол-1,4,5-трифосфата и диацилглицерола, играющих роль вторичных посредников в Ca^{2+} -зависимом действии ряда гормонов (гл. 13).

Фосфатидилглицерол. Так же как фосфатидилинозитол, фосфотидилглицерол не содержит азотсодержащего соединения. В этих фосфолипидах полярной группой служит еще одна молекула глицерола.



Фосфатидилглицеролы и их аминокислотные производные (например, L-лизилфосфатидилглицерол) в значительном количестве содержатся в бактериальных мембранах, а также хлоропластах растений.

Кардиолипин. Этот фосфолипид можно рассматривать как производное фосфатидилглицерола, в котором 3-гидроксигруппа второго остатка молекулы глицерола этерифицирована молекулой фосфатидной кислоты.



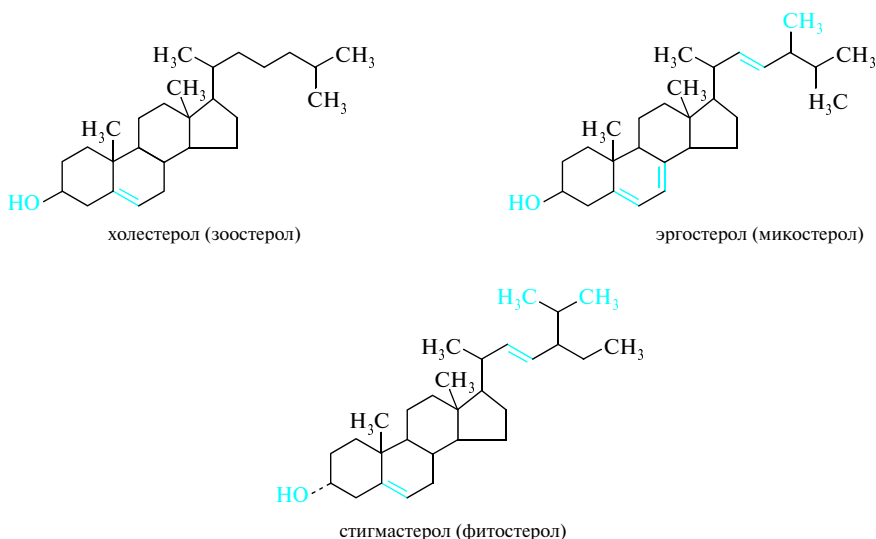
Кардиолипин впервые был выделен из ткани сердечной мышцы. Установлено, что он локализован почти исключительно в митохондриях и играет важную роль в структурной организации и функционировании дыхательных комплексов. Кардиолипин является также обязательным компонентом бактериальных клеточных мембран и хлоропластов растений.

К стероидам относится большое количество биологически важных соединений: собственно стеролы (или стерины), витамины группы D, половые гормоны, гормоны коры надпочечников, зоо- и фитоэкдистероидные гормоны, сердечные гликозиды, растительные сапонины и алкалоиды, некоторые яды.

Классификация стероидов основана на структуре заместителя у С-17 углеродного атома (длина углеродной цепи), числе и положении гидроксигрупп, степени ненасыщенности.

Ниже приведена структура стероидов, содержащих одну или несколько гидроксигрупп; 8—10 углеродных атомов в боковой цепи при С-17; не содержащих карбонильных или карбоксильных групп.

Различают зоостерины (из животных), фитостерины (из растений), микостерины (из грибов) и стерины микроорганизмов:



Наиболее известный среди стеролов — холестерол, содержащийся почти во всех тканях организма. Особенно много его в центральной и периферической нервной системе, подкожном жире, почках и др. Холестерол является одним из главных компонентов цитоплазматической мембраны, а также липопротеинов плазмы крови. В липопротеиновых фракциях крови примерно только одна треть его находится в виде спирта, а две трети — в форме эфиров жирных кислот (холестеридов):



Холестерол служит исходным предшественником для синтеза всех стероидов, функционирующих в организме, — половых гормонов и гормонов коркового слоя надпочечников (кортикостероидов), желчных кислот, витами-

на D₃. Кроме этого, холестерол, входящий в состав клеточных мембран, оказывает существенное влияние на состояние мембраны и таким образом участвует в регуляции ее проницаемости. Много холестерола содержится в молоке, сливочном масле, яичном желтке.

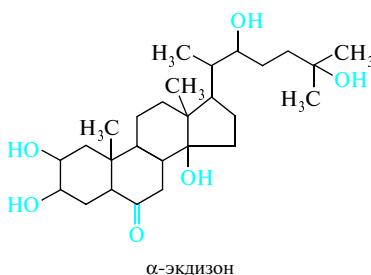
Среди других стеролов следует отметить стерины растительного происхождения — **стигмастерол** и **ситостерол**, а также **эргостерол**, содержащийся в дрожжах и плесневых грибах. Эргостерол является предшественником (провитамином) витамина D₂.

К биологически важным стеролам относится также ланостерол, впервые обнаруженный в липидах шерсти:



Ланостерол является промежуточным метаболитом в биосинтезе холестерола в организме.

Большой интерес представляют стероидные гормоны — *экдистероиды*, выделенные первоначально из коконов тутового шелкопряда (*экдизон*), а впоследствии найденные также в растениях и морских членистоногих.



В зависимости от источников выделения экдистероидов их делят на две большие группы — фито- и зооэкдистероиды, насчитывающие несколько десятков соединений. Установлено, что фитоэкдистероиды часто высокотоксичны для насекомых. Это позволило предположить, что фитоэкдистероиды в растениях служат одним из способов их самозащиты от вредителей. Выявлено также, что фитогормоны стероидной природы обладают сильным адаптогенным действием.

21.10. Амфифильные свойства сложных липидов

В отличие от нейтральных липидов (триацилглицеролов) молекулы всех сложных липидов, с одной стороны, имеют длинные углеводородные остатки, отличающиеся низким сродством к воде, т. е. гидрофобные (липофильные) радикалы, а с другой — более компактные гидрофильные области, получившие

название полярных головок. Подобные молекулы называются *амфифильными* (амфипатическими), т. е. обладающими двойным сродством к воде. Наличие гидрофильных радикалов позволяет отнести эти группы липидов к *полярным липидам*. Именно они являются главными компонентами всех биологических мембран, поэтому их принято называть мембранными липидами.

Глава 22

БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕМБРАНЫ

22.1. Общая характеристика

Мембранология как самостоятельная наука, изучающая строение, свойства, механизмы функционирования биологических мембран, сформировалась сравнительно недавно (1950—1970 гг.). Однако сам термин «мембрана» используется вот уже почти 150 лет для обозначения клеточной границы, служащей, с одной стороны, барьером между содержимым клетки и внешней средой, а с другой — полупроницаемой перегородкой, через которую могут проходить вода и растворенные в ней вещества. Однако мембраны представляют собой не только статически организованные поверхности раздела. Быстрое развитие биохимии мембран и прежде всего широкое исследование мембранных белков и липидов обусловили прогресс в понимании структуры и функций биологических мембран.

22.2. Биологические функции мембран

Биологическим мембранам принадлежит важная роль в структурной организации и функционировании клетки. Функции мембран чрезвычайно многообразны: структурная, транспортная, рецепторная, регуляторная, метаболическая, энергообразующая и др.

Структурная. Клеточная мембрана отделяет клетку от окружающей среды. Внутриклеточные мембраны делят клетку на компартменты, выполняющие специфические биологические функции.

Транспортная. Мембрана обеспечивает селективный транспорт веществ, т. е. является высокоизбирательным фильтром, и с ее помощью регулируется поступление внутрь клетки питательных веществ и выход наружу продуктов обмена.

Рецепторная. Интегрированные в плазматическую мембрану рецепторы участвуют в восприятии внешних сигналов, передают информацию в клетку и позволяют ей быстро отвечать на изменения, происходящие в окружающей среде.

Мембранные рецепторы также обеспечивают межклеточные контакты и формирование тканей (адгезию). Выделены специальные тканеспецифичные адгезионные белки, обеспечивающие объединение однотипных клеток в ткань. Важную роль мембранные рецепторы играют также в регуляции активности ионных каналов (электрическая возбудимость, создание мембранного потенциала).

Метаболическая. Биологические мембраны прямо или косвенно участвуют в процессах метаболических превращений веществ в клетке, поскольку большинство ферментов связано с мембранами. Липидное окружение ферментов в мембране создает определенные условия для их функционирования, накладывает ограничения на активность мембранных белков и таким образом оказывает *регуляторное* действие на процессы метаболизма.

Энергопреобразующая. Важнейшей функцией многих биомембран служит превращение одной формы энергии в другую. К энергопреобразующим мембранам относятся внутренняя мембрана митохондрий, цитоплазматическая мембрана бактерий, мембраны бактериальных хромофоров, тилакоидов хлоропластов, цианобактерий и ряд других.

Таким образом, мембраны — это *активные биохимические системы*, играющие ключевую роль в процессах биологической регуляции и жизнедеятельности клетки и организма в целом.

22.3. Строение биологических мембран

Мембраны прокариот и эукариот, так же как и мембраны животных и растительных клеток, отличаются друг от друга по набору органелл, составу и свойствам. Наиболее сложноорганизованными являются клетки эукариот.

У эукариот выделяют следующие основные группы мембран: плазматическую, ядерную, эндоплазматического ретикулума, митохондрий, хлоропластов, возбудимые мембраны, миелиновые оболочки аксонов, нейронов и др. Несмотря на то что каждый тип мембран отличается по химическому составу и строению, выполняет специфические функции, мембраны имеют общие структурные особенности и построены по единому типу.

22.3.1. Химический состав

Все мембраны, включая плазматическую и внутренние мембраны эукариотических клеток, представляют собой двумерные системы. Это ансамбли липидных и белковых молекул, удерживаемых вместе нековалентными взаимодействиями. Относительное число каждого класса молекул для различных мембран существенно варьирует (табл. 22.1).

В состав мембран эукариотических клеток входят также углеводы в форме либо *гликопротеинов*, либо *гликолипидов*, составляя 0,5—10% от общего веще-

Т а б л и ц а 22.1. Примерное соотношение между белками и липидами различных типов мембран эукариотических клеток

| Мембраны | Соотношение, % | |
|---------------------------------|----------------|--------|
| | Белки | Липиды |
| Обычная плазматическая | 50 | 50 |
| Внутренняя мембрана митохондрий | 75 | 25 |
| Миелиновые мембраны мозга | 25 | 75 |
| Эндоплазматического ретикулума | 55 | 45 |

ства мембраны. Свободные углеводы в составе биомембран не встречаются. Особенно велика концентрация углеводов на наружной поверхности плазматической мембраны. Полагают, что углеводы клеточной поверхности участвуют в процессе межклеточного узнавания, связывании сигнальной молекулы (гормон, нейромедиатор) с мембранным белком — рецептором.

Кроме того, в состав мембран входят вода, неорганические соли и некоторые минорные компоненты, например РНК (до 0,1%).

22.3.2. Молекулярная организация биологических мембран

Первые представления о липидной природе биологических мембран относятся к 1899 г. (Э. Овертон). В 1925 г. голландские ученые Э. Гorter и Ф. Грендель выдвинули представление о липидном бислое как о полупроницаемом барьере, окружающем клетку. Представление о том, что с мембранами связаны белки, впервые в 1935 г. высказал Дж. Даниелли. В том же 1935 г. Дж. Даниелли совместно с Х. Давсоном выдвинули гипотезу об общем принципе структурной организации клеточных мембран как трехслойной структуре — своеобразном сендвиче, где двойной слой ориентированных одинаковым образом липидных молекул заключен между двумя слоями глобулярного белка, формирующего границу мембраны с водой. Развитие техники электронной микроскопии, совершенствование электрофоретических методов позволило выявить более сложную картину структурной организации биологических мембран. Таким образом, к началу 70-х гг. накопилось достаточно много новых фактов, на основании которых С. Дж. Синджер и Л. Г. Николсон предложили новую модель молекулярной организации биологических мембран, получившую название *жидкостно-мозаичной модели*. В соответствии с этой моделью структурной основой биологических мембран является липидный бислой, в котором углеводородные цепи молекул фосфолипидов находятся в жидкокристаллическом состоянии. В липидный бислой погружены и встроены молекулы белков, способные передвигаться в мембране. Следовательно, мембраны не являются системами, состоящими из жесткофиксированных элементов; жидкостно-мозаичная модель представляет мембрану как «море» жидких липидов, в котором плавают «айсберги» белков (рис. 22.1).

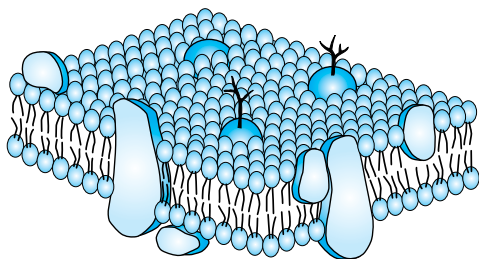


Рис. 22.1. Жидкостно-мозаичная модель структуры мембраны

22.3.3. Мембранные липиды: липидный бислой

Липиды мембран представлены тремя основными классами полярных липидов: *фосфолипидами* (глицеро- и сфингофосфолипиды), *гликолипидами* и *стероидами*. Все мембранные липиды (несмотря на различие в составе) являются амфифильными молекулами, построены по единому плану и имеют две области, отличающиеся сродством к воде: гидрофобные радикалы (хвосты) и полярные головки (рис. 22.2).

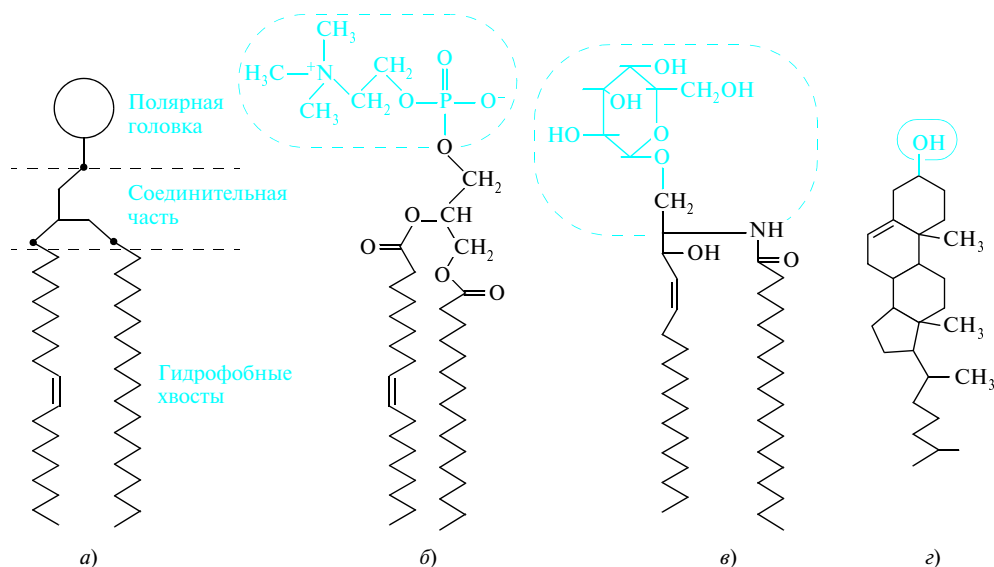


Рис. 22.2. Схематическое изображение мембранных липидов (а) и формулы фосфатидилолина (б), галактоцерамида (в), холестерина (з)

Подобные амфифильные молекулы в водной среде стремятся к агрегации таким образом, что липофильные участки молекул (хвосты), стремясь попасть в гидрофобную фазу, образуют сплошные неполярные области, а полярные формируют границу между гидрофобной фазой и водой. Этот процесс происходит самопроизвольно, и среди ассоциатов наиболее известны мономолекулярные пленки (монослои), мицеллы и бимолекулярные липидные слои. Формирование ассоциата того или иного типа определяется прежде всего соотношением размеров полярной и неполярной частей молекулы. Для фосфо- и гликолипидов, являющихся основными компонентами биомембран, термодинамически наиболее выгодно формирование бислоя или бимолекулярного липидного слоя. В бислое агрегированные молекулы липидов уложены в виде параллельных монослоев, обращенных друг к другу своими гидрофобными ра-

Т а б л и ц а 22.2. Примерный липидный состав различных клеточных мембран (по Д. Албертсу)

| Липиды | Процент от общего содержания липидов | | | | | |
|----------------------|--------------------------------------|-------------|--------|---------------------------------------|-------|---------|
| | Плазмат. мембрана | | Миелин | Внешняя и внутр. мембрана митохондрий | ЭПР | E. coli |
| | клеток печени | эритроцитов | | | | |
| Холестерол | 17 | 23 | 22 | 3 | 6 | 0 |
| Фосфатидилэтаноламин | 7 | 18 | 15 | 35 | 17 | 70 |
| Фосфатидилсерин | 4 | 7 | 9 | 2 | 5 | Следы |
| Фосфатидилхолин | 24 | 17 | 10 | 39 | 40 | 0 |
| Сфингомиелин | 19 | 18 | 8 | 0 | 5 | 0 |
| Гликолипиды | 7 | 3 | 28 | Следы | Следы | 0 |
| Другие | 22 | 13 | 8 | 21 | 27 | 3 |

дикалами. Полярные группы липидных молекул образуют две гидрофильные поверхности, отделяющие внутреннюю углеводородную фазу от водной среды. Толщина липидного слоя определяется прежде всего длиной углеводородных цепей и обычно варьирует в пределах 4—5 нм. Присутствие в углеводородных цепях двойных связей в *цис*-конфигурации, боковых метильных групп и других заместителей нарушает плотность упаковки молекул и приводит к уменьшению толщины бислоя. Главную часть липидной фракции составляют фосфолипиды (70—80%), помимо них в мембраны входят гликолипиды, холестерол, а также нейтральные липиды (моно-, ди-, триацилглицеролы). Содержание последних в плазматической мембране может составлять до 16—20%; нейтральные липиды способны увеличивать упругость и механическую прочность бислоя (табл. 22.2). Плазматическую мембрану отличает также высокое содержание холестерола (15—20%), и только очень незначительное его количество находится во внутриклеточных мембранах (3—6%).

22.3.4. Мембранные белки

По расположению белков в мембране, способу ассоциации с липидным бислоем их можно разделить на:

- поверхностные (или периферические) мембранные белки, связанные с гидрофильной поверхностью липидного бислоя;
- погруженные в гидрофобную область бислоя — интегральные мембранные белки.

Периферические белки связаны с гидрофильной поверхностью бислоя своими полярными радикалами с образованием нековалентных (ионных, водородных) связей. Многие периферические белки ассоциированы с мембраной за счет нековалентного взаимодействия с экспонированной на поверхность бислоя частью интегрального белка. Белки такого типа легко отделить от мембраны, не нарушив ее интактность.

Интегральные белки различаются по степени их погруженности в гидрофобную область бислоя (рис. 22.3).

Трансмембранные белки могут в виде нескольких α -спиралей или одичной α -спирали пересекать мембрану. При этом большая (гидрофильная)

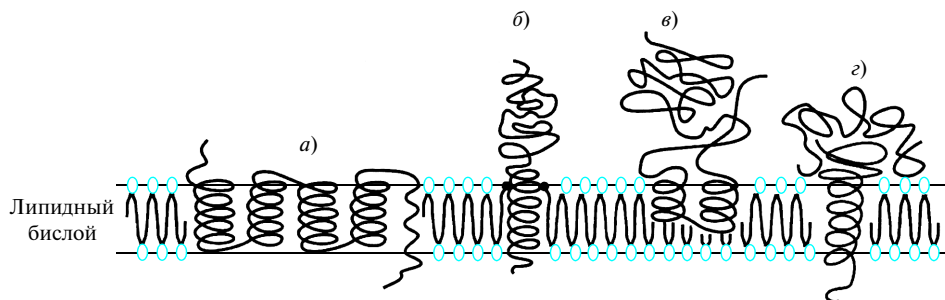


Рис. 22.3. Различные типы организации мембранных белков:

a — белок почти полностью погружен в мембрану; *б* — сравнительно небольшая гидрофобная часть белка погружена в мембрану, пересекая всю ее толщину; *в* — гидрофобный «якорь» белка проникает только на расстояние фосфолипидного монослоя; *г* — периферический белок взаимодействует с экспонированной на поверхность бислоя частью интегрального белка

часть такого белка экспонирована в воду. Некоторые белки могут проникать только на расстояние одного монослоя мембраны.

Интегральные белки, подобно липидам, обладают амфипатическими свойствами: у них есть гидрофобные области, взаимодействующие с гидрофобными радикалами липидных молекул внутри бислоя, и гидрофильные, обращенные с обеих сторон мембраны к воде.

Функции мембранных белков. Если основные структурные особенности биологических мембран определяются свойствами их липидного бислоя, то специфические функции мембран — белками.

На основании роли белков в мембране их можно разделить на две группы: *структурные* и *динамические* белки. Структурные белки поддерживают структуру всей мембраны. Это, как правило, периферические белки, выступающие в роли «молекулярного бандажа». Динамические белки непосредственно участвуют в процессах, происходящих на мембране. Выделяют три класса таких белков:

- *транспортные* — участвующие в трансмембранном переносе веществ;
- *каталитические* — это ферменты, интегрированные в мембрану и катализирующие происходящие там реакции;
- *рецепторные* — это мембранные рецепторы, специфически связывающие такие соединения, как гормоны, нейромедиаторы, токсины, на наружной стороне мембраны, что служит сигналом для изменения метаболических процессов в мембране или внутри клетки.

22.4. Свойства биологических мембран

Биологические мембраны имеют присущие им характерные свойства и особенности. К наиболее важным свойствам биомембран следует отнести замкнутость, асимметричность, динамичность, избирательный транспорт веществ через мембрану.

Замкнутость мембран. В процессе самосборки липидные бислои замыкаются сами на себя, что приводит к устранению свободных краев, на которых гидрофобные хвосты могли бы соприкасаться с водой. Это приводит к образованию закрытых отсеков в клетке (компартментов).

Асимметричность мембран. По химическому составу наружная поверхность мембран отличается от внутренней. Например, в мембране эритроцитов фосфатидилхолин и сфингомиелин находятся во внешней половине бислоя, а фосфатидилсерин и фосфатидилэтаноламин — во внутренней. В свою очередь, асимметрия полярных головок приводит также к асимметрии распределения углеводородных хвостов, так как хвосты жирных кислот фосфатидилхолина и сфингомиелина более насыщенные, чем фосфатидилэтаноламина и фосфатидилсерина. Следовательно, текучесть внутреннего монослоя будет несколько больше, чем наружного.

Наиболее асимметрично распределены в плазматической мембране гликолипиды и гликопротеины. Углеводные части гликолипидов и гликопротеинов выходят на наружную поверхность, иногда образуя сплошное покрытие на поверхности клетки — *гликокаликс*.

Динамичность мембран. Отдельные молекулы мембранных липидов и белков способны свободно перемещаться в мембране, т. е. они сохраняют способность к диффузии. Так, молекулы липидов с высокой скоростью переме-

щаются в плоскости мембраны (латеральная диффузия). Они легко меняются местами со своими соседями в пределах одного монослоя примерно 10 раз в секунду. Молекулы белков, так же как и липидов, способны к латеральной диффузии, однако скорость их диффузии в несколько раз ниже, чем молекул липидов. Перемещение мембранных белков в латеральной плоскости может быть ограничено вследствие притяжения между функционально связанными белками и образования кластеров, что в конечном счете приводит к их мозаичному распределению в липидном слое.

Кроме этого, молекулы белков и липидов очень быстро вращаются вокруг своих продольных осей (вращательная диффузия). Перескок липидных молекул из одного монослоя в другой (флип-флоп) осуществляется редко, а белки, по-видимому, к такому перескоку вообще не способны. Причина исключительно медленного флип-флопа заключается в его энергетической невыгодности, поскольку необходимо перенести полярную головку молекулы липида через гидрофобную область бислоя. Подвижность липидных молекул тесно связана с *фазовыми переходами* в мембране, т. е. изменением ее состояния из жидкокристаллического в кристаллическое (или гелеобразное). Основным фактором, вызывающим фазовые переходы мембранных липидов, является изменение температуры среды. Значение температуры, при которой происходит переход данного липида из кристаллического в *жидкокристаллическое* состояние (и обратно), называется *температурой фазового перехода*: гель — жидкий кристалл (рис. 22.4).

Температура фазового перехода зависит от длины углеводородных цепей, наличия и положения *цис*-этиленовой связи, введения метильных групп в углеводородные связи цепи липидных молекул. Существенно влияют на температуру фазового перехода также различия в строении полярных головок, а именно степень ионизации полярных групп, присутствие в водной среде двухвалентных катионов (особенно Ca^{2+}).

Особое влияние на текучесть мембраны оказывает жесткое четырехчленное кольцо холестерина, погруженное в липидный бислой. У эукариотических клеток при температуре 37 °С холестерин ограничивает текучесть мембраны, а при более низких температурах он, наоборот, способствует поддержанию их текучести, препятствуя слипанию углеводородных цепей.

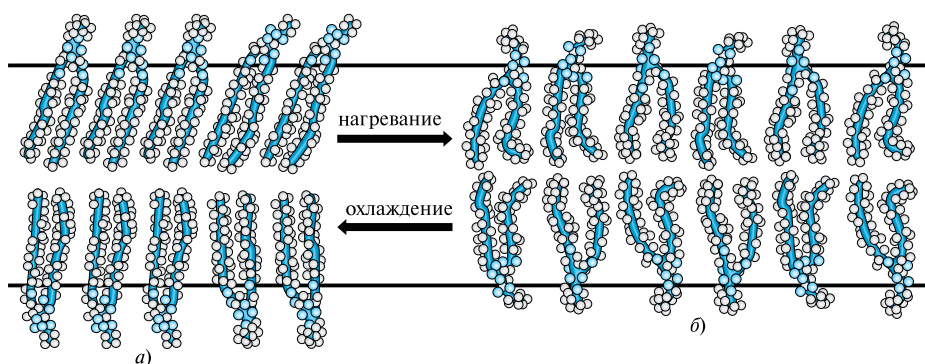


Рис. 22.4. Влияние температуры на состояние липидного бислоя:
а — гелевое или «кристаллическое»; б — жидкокристаллическое

Таким образом, температура не является единственным фактором, определяющим фазовое состояние липидов. Фазовые изменения могут происходить и при постоянной температуре за счет изменения рН, ионного состава, присутствия мембранотропных веществ, а также изменений липидного состава бислоя. О важности фазового состояния липидов для функционирования мембран свидетельствуют широко известные факты корреляции между температурой фазового перехода мембранных липидов и активностью ряда мембранно-связанных ферментов.

Избирательная проницаемость мембран. Это свойство обеспечивает регуляцию транспорта в клетку необходимых молекул, а также удаления из клетки продуктов метаболизма, т. е. активный обмен клетки и ее органелл с окружающей средой. Избирательный транспорт необходим также для поддержания трансмембранного градиента ионов, служит основой всех биоэнергетических механизмов, определяет эффективность процессов рецепции, передачи нервного возбуждения и т. п.

22.5. Механизмы мембранного транспорта

Липидные бислои в значительной степени непроницаемы для подавляющего большинства веществ, и поэтому перенос через липидную фазу требует значительных энергетических затрат.

Различают *активный транспорт* и *пассивный транспорт* (диффузию).

22.5.1. Пассивный транспорт

Пассивный транспорт — это перенос молекул по концентрационному или электрохимическому градиенту, т. е. он определяется только разностью концентрации переносимого вещества на противоположных сторонах мембраны или направлением электрического поля и осуществляется без затраты энергии АТФ. Возможны два типа диффузии: простая и облегченная.

Простая диффузия происходит без участия мембранного белка. Скорость простой диффузии хорошо описывается обычными законами диффузии для веществ, растворимых в липидном бислое; она прямо пропорциональна степени гидрофобности молекулы, т. е. ее жирорастворимости, а также градиенту концентрации. Механизм диффузии водорастворимых веществ менее изучен. Перенос вещества через липидный бислой, например таких соединений, как этанол, возможен через временные поры в мембране, образованные разрывами в липидном слое при движении мембранных липидов. По механизму простой диффузии осуществляется трансмембранный перенос газов (например,

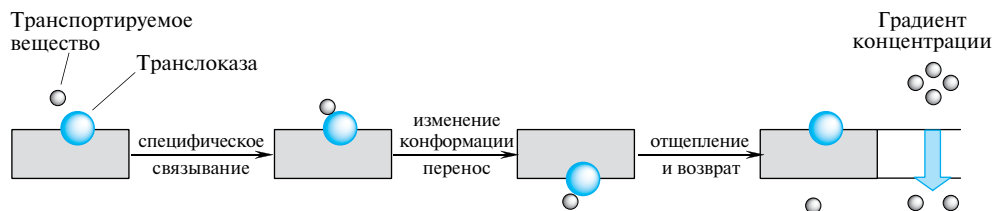


Рис. 22.5. Облегченная диффузия веществ через мембрану транслоказами

O_2 и CO_2), воды, некоторых простых органических ионов и ряда низкомолекулярных жирорастворимых соединений. Следует помнить, что простая диффузия осуществляется неизбирательно и отличается низкой скоростью.

Облегченная диффузия, в отличие от простой диффузии, облегчена участием в этом процессе специфических мембранных белков. Следовательно, облегченная диффузия — это диффузионный процесс, сопряженный с химической реакцией взаимодействия транспортируемого вещества с белком-переносчиком. Этот процесс специфичен и протекает с более высокой скоростью, чем простая диффузия.

Известны два типа мембранных транспортных белков: белки-переносчики, называемые *транслоказами* или *пермеазами*, и *белки каналаобразующие*. Транспортные белки связывают специфические вещества и переносят их через бислой по градиенту их концентрации или электрохимическому потенциалу, и, следовательно, для осуществления этого процесса, как и при простой диффузии, не требуется затраты энергии АТФ.

Конкретный механизм функционирования транслоказ при облегченной диффузии изучен недостаточно. Полагают, что после связывания переносимого вещества с белком-переносчиком происходит ряд конформационных изменений последнего, позволяющих связанное вещество с одной стороны мембраны транспортировать на другую по схеме (рис. 22.5).

Другой возможный вариант механизма переноса — по так называемому *эстафетному типу*, когда транспортный белок вообще не способен переходить через бислой. В этом случае транспортируемое вещество, возможно, само переходит от одного белка к другому до тех пор, пока не окажется на противоположной стороне мембраны.

Каналообразующие белки (или белки-каналы) формируют трансмембранные гидрофильные каналы, через которые молекулы растворенных веществ соответствующих размеров и заряда могут проходить путем облегченной диффузии. В отличие от транспорта, осуществляемого транслоказами, перенос с помощью каналов не обладает высокой специфичностью, но может осуществляться с гораздо большей скоростью, не достигающей насыщения в широком диапазоне концентрации транспортируемого вещества (рис. 22.6). Некоторые каналы постоянно открыты, тогда как другие открываются лишь в ответ на связывание транспортируемого вещества. Это приводит к изменению конформации транспортного белка, в результате чего в мембране открывается гидрофильный канал и вещество освобождается с другой стороны мембраны (см. рис. 22.6).

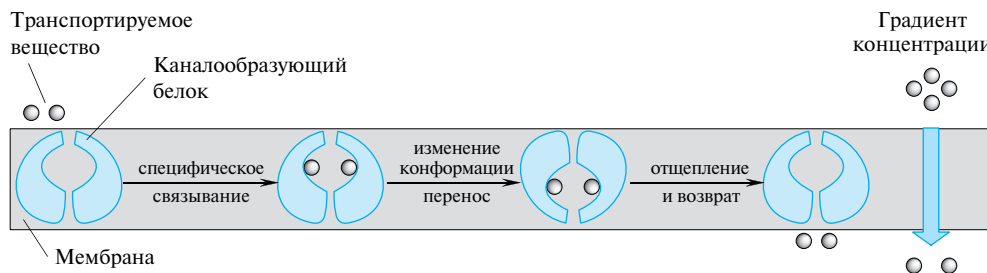


Рис. 22.6. Механизм облегченной диффузии каналобразующими белками

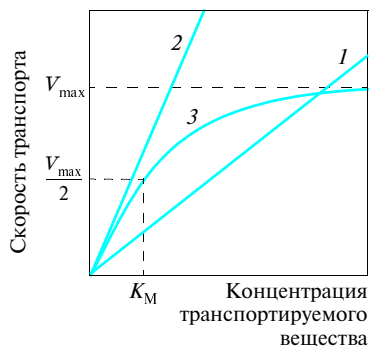


Рис. 22.7. Кинетика простой (1) и облегченной диффузии при участии каналообразующего белка (2) и белка-переносчика (3)

До настоящего времени структура и механизм функционирования транспортных белков изучены недостаточно, что в значительной степени связано с трудностью их выделения в солюбилизированной форме. По-видимому, наиболее распространенным путем трансмембранного переноса веществ по механизму облегченной диффузии является транспорт с помощью каналообразующих веществ. Белки — переносчики всех типов, напоминают связанные с мембранами ферменты, а процесс облегченной диффузии — ферментативную реакцию по ряду свойств: 1) транспортные белки обладают высокой специфичностью и имеют участки (сайты) связывания для транспортируемой молекулы (по аналогии — субстрата); 2) когда все участки связывания заняты (т. е. белок насыщен), скорость транспорта достигает максимального значения, обозначаемого V_{\max} (рис. 22.7); 3) белок-переносчик имеет характерную для него константу связывания K_M , равную концентрации транспортируемого вещества, при которой скорость транспорта составляет половину ее максимальной величины (аналогично K_M для системы фермент—субстрат), транспортные белки чувствительны к изменению значения pH среды; 4) они ингибируются конкурентными или неконкурентными ингибиторами. Однако в отличие от ферментной реакции молекула транспортируемого вещества не претерпевает ковалентного превращения при взаимодействии с транспортным белком (рис. 22.7).

Облегченная диффузия обычно характерна для водорастворимых веществ: углеводов, аминокислот, метаболитов, важных органических кислот, некоторых ионов. Путем облегченной диффузии осуществляется также транспорт стероидных гормонов, ряда жирорастворимых витаминов и других молекул этого класса. Практически направленные потоки веществ в клетке путем простой и облегченной диффузии никогда не прекращаются, поскольку вещества, поступившие в клетку, вовлекаются в метаболические превращения, а их убыль постоянно восполняется путем трансмембранного переноса по градиенту концентрации.

22.5.2. Активный транспорт

Активный (т. е. энергозависимый) транспорт молекул через мембрану против градиента концентрации осуществляется при участии мембранных белков, использующих для процесса транслокации энергию гидролиза АТФ. В отличие от пассивного транспорта, который идет самопроизвольно, белки-переносчики должны не только транспортировать молекулу через мембрану, но и обладать АТФ-азным действием, т. е. катализировать гидролиз АТФ, который является основным источником энергии для активного транспорта. В зависимости от способа использования энергии для транспорта молекул выделяют первично- и вторично-активный транспорт.

При *первично-активном* транспорте донором энергии является непосредственно молекула АТФ и процесс переноса вещества через мембрану сопровождается ее гидролизом.

При *вторично-активном* транспорте градиент ионов (Na^+ , K^+ , H^+ и др.), созданный на мембране функционированием систем первично-активного транспорта, используется для транспорта других молекул, например углеводов, некоторых аминокислот, анионов и др.

Известны три основных типа первично-активного транспорта ионов:

- натрий-калиевый насос — Na^+/K^+ -аденозинтрифосфатаза (Na^+/K^+ -АТФ-аза), переносящий ионы натрия из клетки, а калия — в клетку;
- кальциевый насос — Ca^{2+} -АТФ-аза, который транспортирует Ca^{2+} из клетки или цитозоля в саркоплазматический ретикулум;
- H^+ -АТФ-аза — протонный насос, функционирующий в сопрягающих мембранах, в том числе в митохондриальной мембране, где H^+ -АТФ-аза работает в обратном направлении, используя $\Delta\mu\text{H}^+$, образующийся в дыхательной цепи для синтеза АТФ (гл. 15).

Для активного транспорта, как и для облегченной диффузии, характерны высокая специфичность, эффект насыщения транспортных белков транспортируемыми молекулами, когда кинетическая кривая выходит на плато, а также действие ингибиторов.

В качестве примера первично-активного транспорта можно привести транспорт, осуществляемый Na^+/K^+ -АТФ-азой, как одной из наиболее важных и широко распространенных активных транспортных систем в плазматической мембране животных клеток. Эта система, получившая название Na^+ - K^+ -насоса, отвечает за поддержание в клетке высокой концентрации K^+ и низкой Na^+ путем переноса K^+ внутрь клетки, а Na^+ из клетки наружу против градиента их концентрации и поэтому требующей затраты АТФ. Оказывается, в животной клетке внутриклеточная концентрация ионов калия примерно в 30 раз выше, а ионов натрия в 10 раз ниже, чем в окружающей среде. Такая асимметрия ионного состава определяет содержание воды и ионный состав в клетке, электрическую возбудимость нервных и мышечных волокон, служит движущей силой для транспорта в клетку сахаров и аминокислот, является важным фактором в процессе биосинтеза белка.

Na^+/K^+ -АТФ-аза была открыта в 1957 г. Й. Скоу во фракции плазматических мембран нервов краба, впоследствии она была обнаружена во всех исследованных клетках животных, особенно велико ее содержание в органах, осуществляющих интенсивный солевой обмен (почки) или выполняющих электрическую работу (мозг, нервы). Na^+/K^+ -АТФ-аза представляет собой олигомерный белок, состоящий из субъединиц двух типов (α и β), входящих в состав фермента в эквимоллярных количествах. Большая α -субъединица (~112 kDa) формирует каталитически активный центр, осуществляющий гидролиз АТФ; меньшая β -субъединица (~45 kDa) гликозилирована, при этом углеводные цепи экспонированы на наружной стороне мембраны (рис. 22.7).

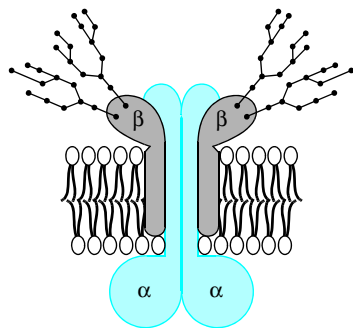


Рис. 22.8. Структура Na^+ , K^+ -зависимой АТФ-азы

Активный фермент содержит как минимум 2α - и 2β -субъединицы, которые плотно интегрированы в мембрану и активируются ионами Mg^{2+} . В настоящее время экспериментально доказано, что Na^+/K^+ -АТФ-аза является как энергопреобразующей частью « Na^+/K^+ -насоса», так и сама осуществляет активный транспорт Na^+ и K^+ , сопряженный с гидролизом АТФ, т. е. переносит катионы против градиента концентрации. Описаны два конформационных состояния АТФ-азного комплекса с различным энергетическим уровнем, которые принято обозначать E_1 и E_2 . Конформация E_1 имеет канал, открытый внутрь клетки, и участки, специфично связывающие ионы

Na^+ (дефосфорилированная форма АТФ-азы). При переходе в конформацию E_2 происходит переориентация комплекса в мембране, канал открыт на наружную сторону мембраны и фермент специфично связывает ионы K^+ (фосфорилированная форма АТФ-азы).

По общепринятому представлению, механизм действия АТФ-азы включает несколько стадий (рис. 22.9).

1. Молекула АТФ из цитоплазмы связывается с активным центром одной из α -субъединиц АТФ-азы (конформация E_1). Присоединение АТФ сопровождается связыванием трех ионов натрия, что активирует каталитическую активность фермента, происходит гидролиз АТФ, при этом фосфорилируется карбоксильная группа боковой цепи остатка аспарагиновой кислоты другой субъединицы.

2. Фосфорилирование фермента приводит к переходу его в конформацию E_2 и переориентации в мембране таким образом, что связанные $3Na^+$ выводятся через канал, открытый на наружную сторону, поскольку АТФ-аза теряет сродство к этим ионам.

3. Конформация E_2 ферментного белка имеет сайты, специфичные к ионам K^+ , и два иона K^+ присоединяются к ионсвязывающим центрам фосфорилированного белка.

4. Происходит (возможно, самопроизвольный) гидролиз фосфоэфирной связи и дефосфорилирование

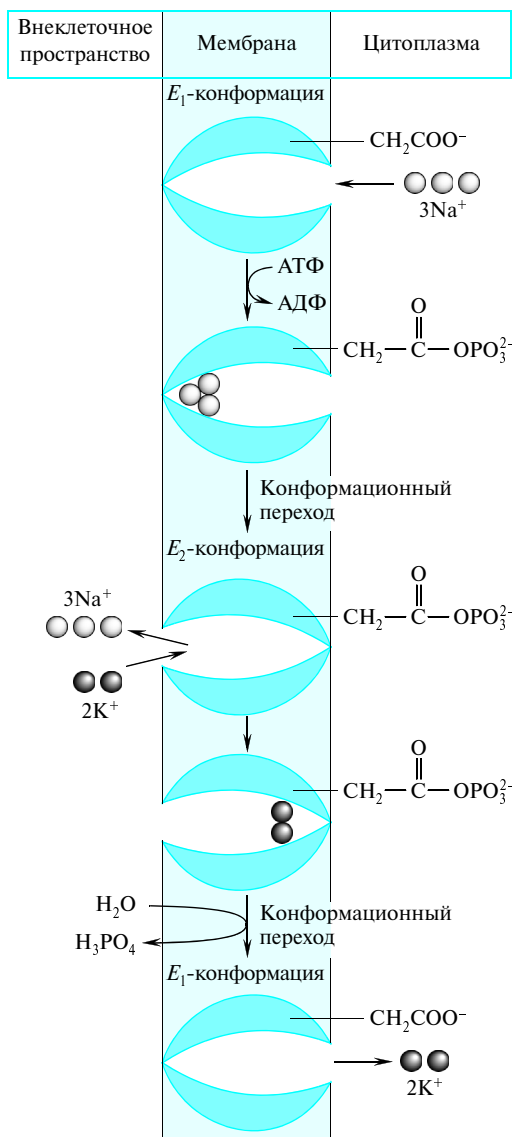


Рис. 22.9. Механизм функционирования Na^+/K^+ -АТФ-азы

фермента, что вызывает его переход в исходную конформацию E_1 , при которой ионный канал открыт внутрь клетки, через него два иона K^+ выходят в цитоплазму.

На каждую затраченную молекулу АТФ фермент переносит три иона Na^+ из клетки и два иона K^+ в клетку, т. е. перенос катионов неэквивалентен. Таким образом, на мембране возникает разность концентраций и электрических потенциалов, и третий ион K^+ поступает в клетку уже по механизму вторично-активного транспорта.

22.5.3. Виды переноса веществ через мембрану

Вид перемещения вещества через мембрану зависит как от свойств транспортируемого соединения, так и от особенностей состава и структурной организации мембраны.

Трансмембранный перенос может осуществляться по типу унипорта, симпорта или антипорта.

Унипорт — наиболее простой вид переноса какого-либо растворенного вещества с одной стороны мембраны на другую, осуществляемый по механизму простой или облегченной диффузии (рис. 22.10).

При наличии в мембране так называемых котранспортных систем возможно перемещение через мембрану двух различных веществ.

Котранспортные системы — это транспортные белки, переносящие совместно два различных вещества по типу симпорта или антипорта, т. е. переносчик имеет центры связывания для обоих веществ.

Симпорт — перенос одного вещества зависит от одновременного (или последовательного) переноса другого вещества в том же направлении. Например, глюкоза, аминокислоты могут транспортироваться Na^+ -зависимой системой симпорта. При этом ион Na^+ транспортируется по градиенту concentra-

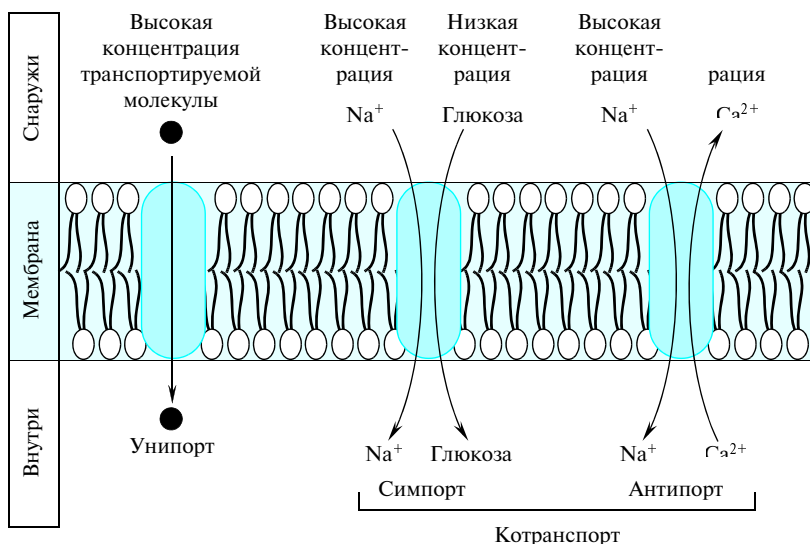


Рис. 22.10. Транспорт веществ через мембрану

ции (вторично-активный транспорт), а молекула глюкозы, присоединенная к тому же переносчику, против градиента концентрации.

Антипорт — перенос одного вещества по градиенту концентрации приводит к перемещению другого вещества, присоединенного к этому переносчику с другой стороны мембраны в противоположном направлении против градиента его концентрации.

22.5.4. Экзоцитоз и эндоцитоз

Крупные макромолекулы (белки, полинуклеотиды или полисахариды), даже крупные частицы могут как поглощаться, так и секретироваться клетками. При их переносе происходит последовательное образование и слияние окруженных мембраной пузырьков (везикул), т. е. перенос веществ вместе с частью плазматической мембраны. Если таким путем осуществляется транспорт растворенных веществ — это *пиноцитоз* (от греч. *пинос* — пить), если твердых — *фагоцитоз* (от греч. *фагос* — есть, *цитос* — клетка). При процессе *эндоцитоза* поглощенное вещество окружается небольшим участком мембраны, который вначале впячивается, а затем отщепляется, образуя внутриклеточный пузырек, содержащий захваченный клеткой материал. Большинство частиц, поглощенных при эндоцитозе, попадает затем в лизосомы, где они подвергаются деградации.

Подобный же процесс, только в обратной последовательности, называется *экзоцитозом*. В эукариотических клетках постоянно секретятся различные типы молекул с помощью процесса экзоцитоза. Некоторые из них могут оставаться на мембране клетки и становиться ее частью, другие — выходят во внеклеточное пространство. Так, секреторные белки упаковываются в транспортные пузырьки в аппарате Гольджи и затем переносятся непосредственно к мембране.

Образование экзоцитозных пузырьков может происходить ритмично, с постоянной скоростью, поглощая внеклеточную жидкость и содержащиеся в ней компоненты. В ряде случаев инициирующим фактором образования везикулы является контакт с определенным веществом или это становится возможным благодаря наличию в мембране специфических рецепторов, улавливающих комплементарные к ним лиганды. Во впячивании мембраны и формировании пузырьков важная роль принадлежит ряду белков. Из них наиболее изучен белковый комплекс — **кларитин**. В сокращении мембран принимают участие сократительные белки актин и миозин, сходные с подобными белками мышечной ткани. Поскольку функционирование сократительных белков нуждается в энергии АТФ, процесс эндоцитоза можно отнести к механизму активного трансмембранного переноса веществ.

Большинство эукариотических клеток способно к эндоцитозу, наиболее активны макрофаги, лейкоциты, клетки эпителия кишечника, эндотелия капилляров и др. Следует отметить, что молекулярные механизмы, обеспечивающие инициацию и функционирование этого механизма транспорта, во многом еще требуют изучения.

22.6. Липосомы — модельные мембраны

Липосомы — это самопроизвольно возникающие при диспергировании полярных липидов в воде пузырькообразные частицы, которые состоят из одного или нескольких замкнутых липидных бислоев, разделяемых водными промежутками. Их используют в биохимических исследованиях как простейшую модель биологических мембран.

В зависимости от размера микропузырьков и числа образующих их concentрических липидных бислоев липосомы подразделяются на три основных типа:

- многослойные (мультиламеллярные) липосомы, имеющие диаметр 5—10 мкм и насчитывающие до нескольких десятков concentрических липидных бислоев;
- малые мономламеллярные липосомы, образованные одинарным бислоем и имеющие диаметр 0,02—0,05 мкм;
- большие мономламеллярные липосомы, образованные одинарным бислоем и имеющие диаметр 0,05—0,2 мкм.

Одно из положительных особенностей использования липосом состоит в том, что их легко приготовить.

Мультиламеллярные липосомы образуются спонтанно при взаимодействии амфифильных липидов с водными растворами: полярные липиды при контакте их с водной средой за счет энтропийной невыгодности смешения углеводорода с водной фазой претерпевают последовательность молекулярных перегруппировок, приводящих к образованию многослойной системы concentрических замкнутых мембран (липидных бислоев).

Для приготовления мультиламеллярных липосом нужно поместить достаточное количество растворов полярных липидов в круглодонную колбу и удалить растворитель в вакууме на роторном испарителе. Липиды останутся на стенках колбы в виде тонкой пленки. Затем добавляют водную фазу, содержащую любое растворенное вещество, а сосуд сильно встряхивают. Образуется молоковидная суспензия, свидетельствующая об образовании липосом.

В процессе приготовления липосом в их внутренний водный объем включаются те вещества, которые содержатся в исходном водном объеме. При этом неполярные молекулы включаются внутрь липидного бислоя.

В настоящее время липосомы используются как носители лекарств, так как их можно «начинить» различными лекарственными веществами. Состав липидов липосом можно произвольно варьировать и таким образом направленно изменять физико-химические свойства. Разработаны также методы включения функционально активных белков в мембрану липосомы. Такие искусственные белково-липидные структуры называются *протеолипосомами*. В липосомы можно вводить тканеспецифические антитела, что позволяет обеспечивать направленный транспорт включенных в них лекарств в определенные органы и ткани.

В настоящее время для изучения и оценки проницаемости мембран используют различные методы: осмотические, индикаторные, радиоактивные, измерения электрической проводимости и др. Изучение проницаемости мембран не всегда удобно проводить на нативных объектах, так как они пред-

ставляют собой гетерогенные и трудноконтролируемые по составу структуры. Более удобны для этих целей модельные мембраны, в частности липосомы.

Уникальные свойства липосом сделали их незаменимыми в качестве не только моделей природных биологических мембран, но и объектом, имеющим самостоятельную ценность. В области биомедицинских исследований и биоинженерии они основаны на способности липосом взаимодействовать с клетками, перенося свое содержимое в цитоплазму или лизосомы (в зависимости от фазового состояния липидов липосом). В результате липосомы могут использоваться в клеточной биологии — для изучения механизмов межклеточных взаимодействий и модификаций клеточных мембран; в генной инженерии — для введения внутрь клеток генетического материала; в иммунологии — для использования адъювантных свойств липосом; в фармакологии — для обычного и направленного транспорта лекарственных соединений в организм; в фармации — для создания оптимальных лекарственных форм.

В медицине наиболее интересные перспективы использования липосом связаны с химиотерапией рака, лечением диабета, артрита, лейшманиоза, а также коррекцией ферментной недостаточности.

Глава 23

ОБМЕН ЛИПИДОВ

23.1. Переваривание и всасывание липидов пищи

Липиды являются важной составной частью пищевых веществ. В зависимости от возраста, физической нагрузки, климатических условий потребность в них составляет от 70 до 100 г в сутки.

Значение жиров для нормального функционирования организма определяется не только их высокой энергетической ценностью. Как указывалось ранее (гл. 21), при окислении 1 г жира выделяется энергии в два раза больше, чем при окислении 1 г углеводов или белков. Таким образом, именно липиды обеспечивают от одной трети до половины общего количества калорий средней диеты человека.

Незаменимыми компонентами пищи липиды делают потребность организма в жирорастворимых витаминах, которые поступают чаще всего в составе жиров, а также в незаменимых высших жирных кислотах, в том числе предшественников таких биологически активных веществ, как простагландины, тромбоксаны и лейкотриены.

23.1.1. Переваривание триацилглицеролов

Основная масса липидов пищи представлена ацилглицеролами, гидролиз которых катализируется липолитическими ферментами (липазами). Гидролиз триацилглицеролов происходит у высших животных и человека преимущественно в тонком кишечнике при действии панкреатической липазы и липазы тонкого кишечника (рис. 23.1). В желудке взрослых людей имеется желудочная липаза, но она практически неактивна при низких значениях pH желудоч-

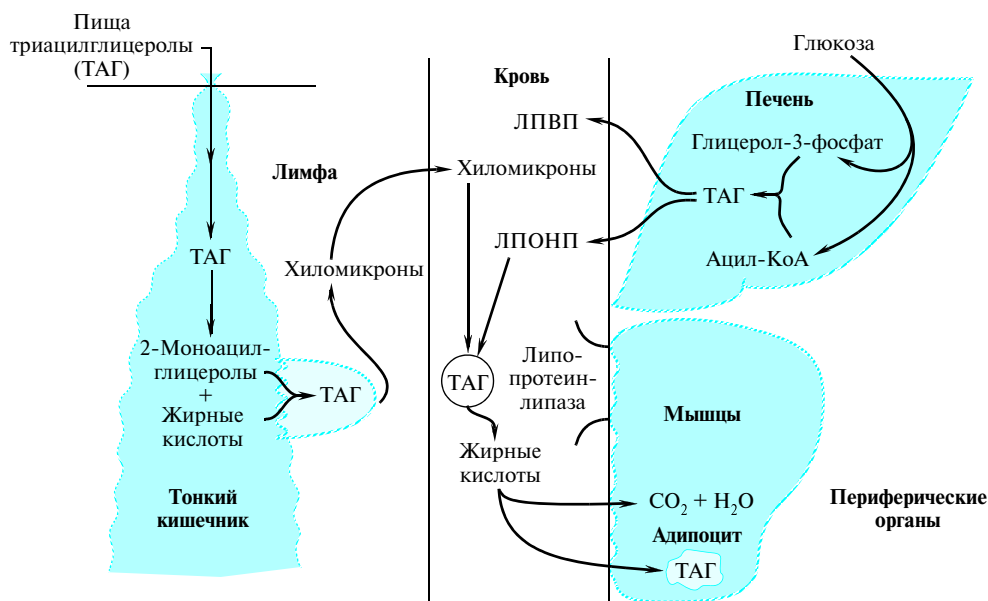


Рис. 23.1. Метаболические превращения липидов пищи

ного сока и отсутствии условий для эмульгирования жира. Однако *лингвальная липаза*, или *липаза языка*, которая секретируется железами задней части языка, может сохранять активность в кислой среде (рН-оптимум 4,0—4,5) и играет важную роль в пищеварении у грудных детей. Оптимум рН лингвальной липазы близок к рН желудочного сока у таких детей, и она способна активно гидролизовать эмульгированные жиры молока.

Все липолитические ферменты являются глобулярными, водорастворимыми белками. Поскольку липиды нерастворимы в воде, гидролиз происходит лишь на поверхности раздела между липидами и водной фазой. В связи с этим скорость реакции в значительной степени определяется площадью этой границы раздела и поэтому, чем выше степень эмульгирования жира, тем меньше липидные мицеллы, тем больше величина доступной поверхности.

Структура и функции желчных кислот. Основными эмульгаторами липидов в тонком кишечнике являются желчные кислоты, содержащиеся в виде натриевых солей в желчи, поступающей в двенадцатиперстную кишку из желчного пузыря. В желчи содержится ряд различных желчных кислот, которые в печени образуются из **холестерола**. По химическому строению желчные кислоты являются производными **холановой кислоты** и отличаются друг от друга числом и положением гидроксигрупп:



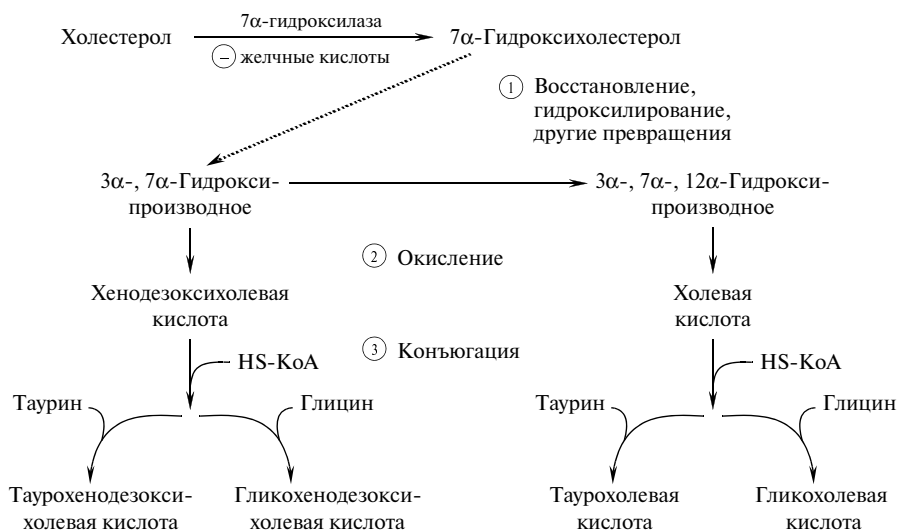


Рис. 23.2. Схема синтеза желчных кислот:

⊖ — ингибитор фермента

Схема образования желчных кислот из холестерина приведена на рис. 23.2, химизм реакций представлен на рис. 23.3.

Первым этапом этого процесса является гидроксилирование холестерина под действием фермента 7 α -гидроксилазы с участием кислорода, НАДФН и цитохрома Р-450. Это основная регуляторная реакция синтеза желчных кислот: фермент активируется витамином С и ингибируется по типу обратной связи желчной кислотой. На этой стадии идет разделение путей синтеза желчных кислот: одна ветвь ведет к синтезу холевой кислоты (3,7,12-тригидрокси-холановая кислота), другая — к образованию хенодезоксихолевой кислоты (3,7-дигидроксихолановая кислота). Реакции синтеза обеих кислот включают гидроксилирование и укорачивание боковой цепи в 17-м положении за счет отщепления пропионил-КоА. Полагают, что синтезированные желчные кислоты находятся в печени в виде тиоэфиров КоА: холил- или хенодезоксихолил-КоА.

В желчь кислоты поступают уже в виде конъюгатов с таурином и глицином (парных желчных кислот): тауро- или гликохолевая кислота и тауро- или гликохенодезоксихолевая кислота. У человека соотношение конъюгатов желчных кислот с глицином и таурином составляет примерно 3:1. Конъюгаты холевой и хенодезоксихолевой кислот относят к первичным желчным кислотам. В кишечнике под действием кишечных бактерий происходит их деконъюгирование и 7 α -дегидроксилирование и образуются так называемые вторичные желчные кислоты: из холевой — дезоксихолевая (3,12-дегидроксихолановая кислота) и из хенодезоксихолевой — литохолевая (3-гидроксихолановая кислота).

Кроме роли эмульгаторов, желчные кислоты в кишечнике выполняют в превращении липидов другие важные функции: способствуют всасыванию продуктов расщепления жиров и активируют панкреатическую липазу.

Кроме желчных кислот, соли жирных кислот в комплексе с моноацилглицеролами и ненасыщенными жирными кислотами, будучи поверхностно-ак-

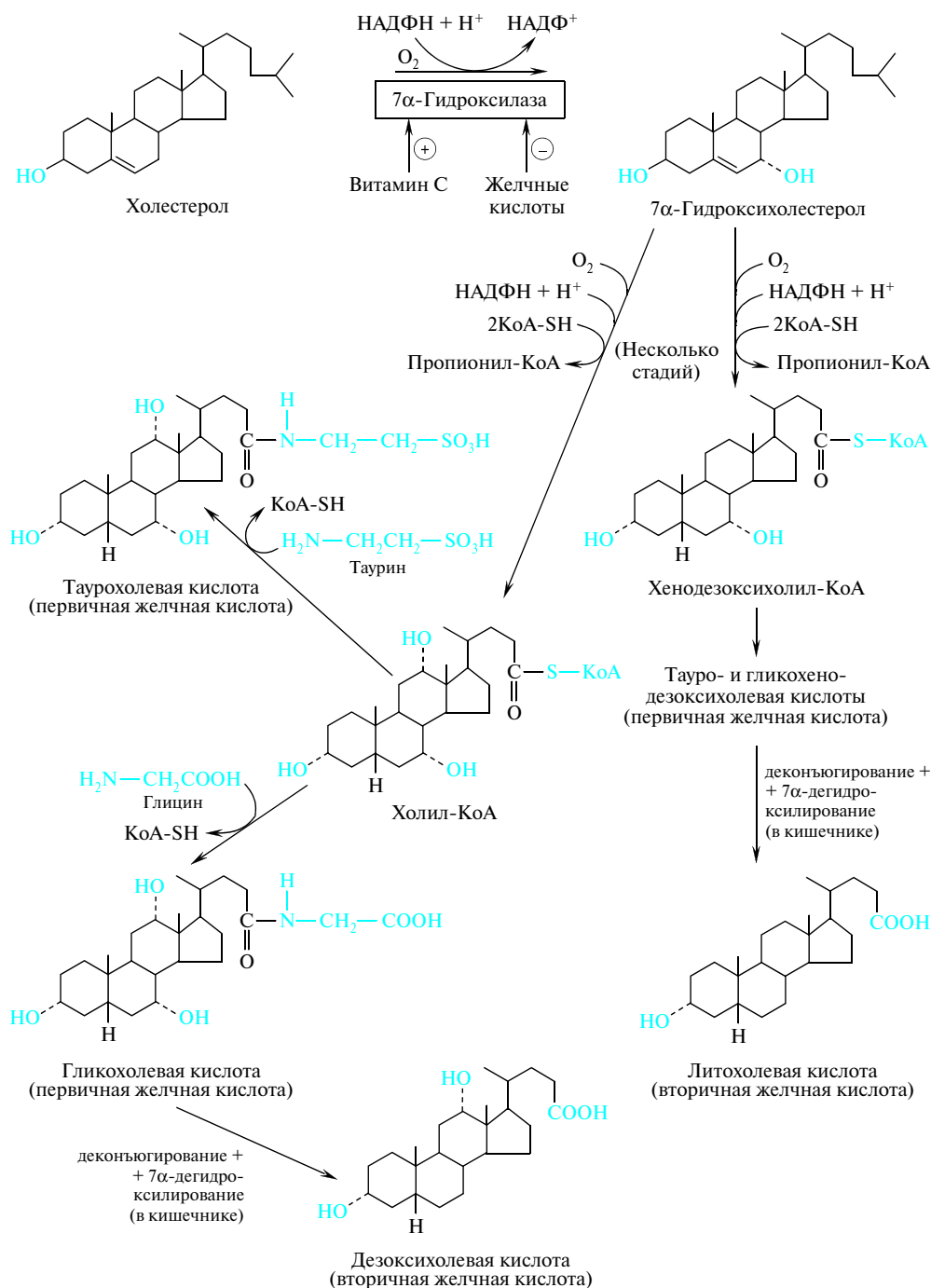


Рис. 23.3. Биосинтез желчных кислот: \oplus — активация;
 \ominus — ингибирование 7α-гидроксилазы

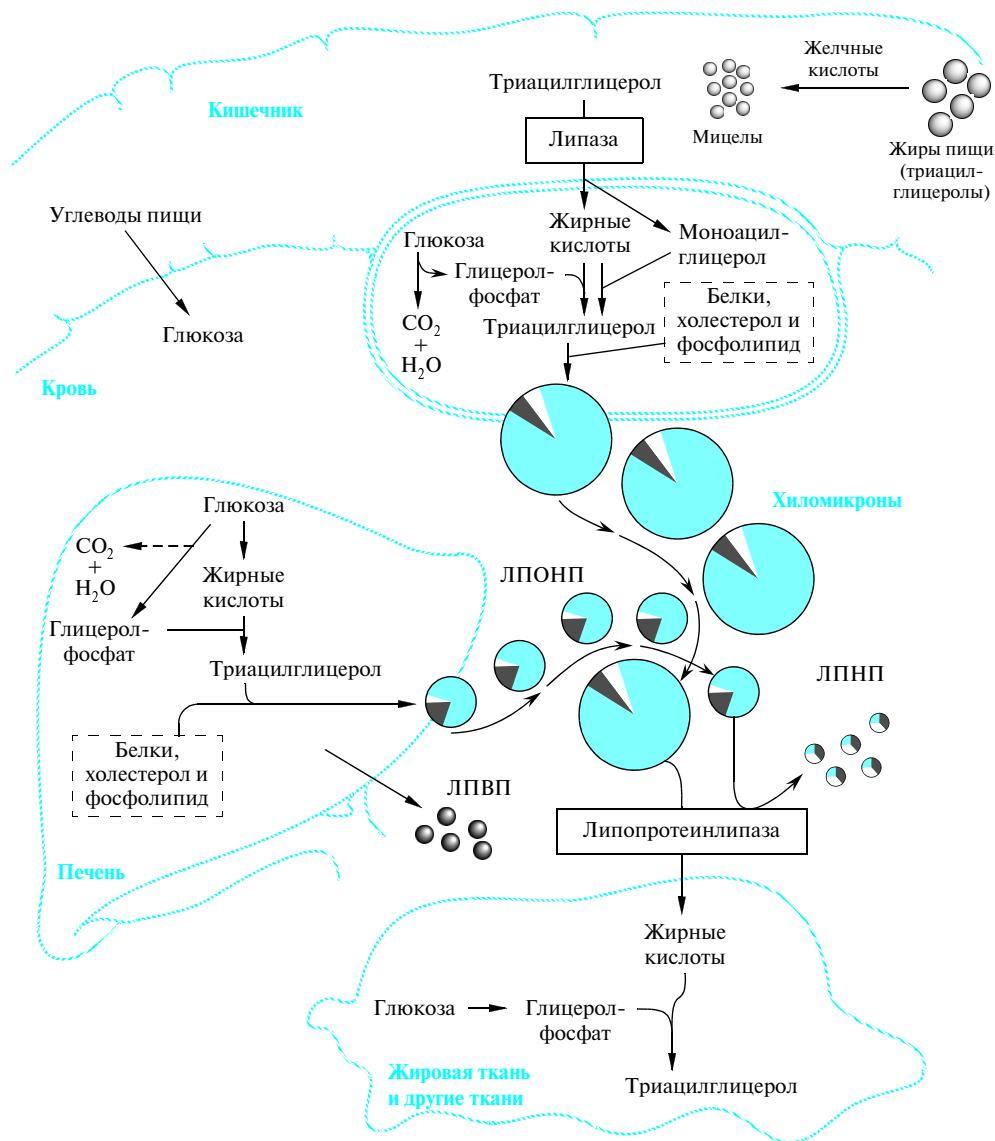


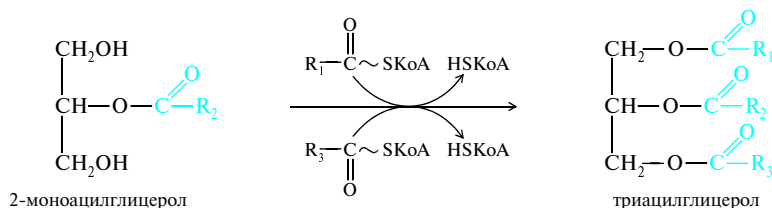
Рис. 23.4. Всасывание и транспорт липидов в ткани

клетки кишечника либо в составе мицелл путем эндоцитоза, либо мицеллы распадаются на клеточной поверхности, и освобожденные жирные кислоты и моноацилглицеролы легко диффундируют в клетки эпителия (рис. 23.4).

Желчные кислоты либо остаются в просвете кишечника, не всасываются и выводятся с калом, либо частично всасываются и транспортируются обратно в печень.

Ресинтез липидов внутри эпителиальных клеток кишечника. Из моноацилглицеролов и жирных кислот в эпителиальных клетках вновь синтезируются триацилглицеролы. Наиболее простой путь синтеза липидов, так называемый β -моноглицеридный путь, включает две последовательные реакции

этерификации $\beta(2)$ -моноацилглицерола активированными жирными кислотами в форме ацил-КоА по схеме:

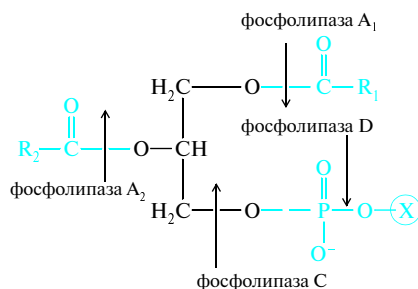


Эти реакции катализируются специфическими ферментами ацилтрансферазами: **моноглицеридацилтрансферазой** и **диглицеридацилтрансферазой** соответственно.

Другой путь синтеза липидов — α -глицерофосфатный, аналогичен процессу синтеза триацилглицеролов в других тканях. Он будет рассмотрен в разделе, посвященном внутриклеточному метаболизму липидов (гл. 23; 23.5.3).

23.1.2. Переваривание, всасывание, ресинтез глицерофосфолипидов

Распад глицерофосфолипидов происходит в кишечнике при участии фосфолипаз, секретируемых поджелудочной железой:



Известно несколько типов фосфолипаз. Фосфолипаза A_1 гидролизует эфирную связь в положении 1 глицерофосфолипида, в результате чего отщепляется одна молекула жирной кислоты. Фосфолипаза A_2 катализирует гидролитическое отщепление жирной кислоты в положении 2 глицерофосфолипида, образующиеся при этом продукты называются **лизофосфолипидами**, так как они токсичны и вызывают лизис мембран клеток. Высокая активность фосфолипазы A_2 в яде змей и скорпионов приводит к тому, что при их укусе происходит гемолиз эритроцитов. Фосфолипаза A_2 поджелудочной железы поступает в полость тонкого кишечника в неактивной форме и только после отщепления от нее трипсином гептапептида становится активной. Накопления лизофосфолипидов в кишечнике обычно не происходит, поскольку одновременно на глицерофосфолипиды действуют обе фосфолипазы: A_1 и A_2 . Кроме этого, лизофосфолипиды гидролизуются ферментом лизофосфолипазой, в результате действия которого образуются нетоксичные для организма продукты.

Фосфолипаза C вызывает гидролиз связи между фосфорной кислотой и глицерином, а фосфолипаза D расщепляет эфирную связь между азотистым основанием и фосфорной кислотой с образованием свободного основания и фосфорной кислоты.

Таким образом, в результате действия фосфолипаз глицерофосфолипиды расщепляются до глицерола, высших жирных кислот, азотистого основания и фосфорной кислоты.

Механизм всасывания высших жирных кислот и глицерола был рассмотрен выше. Фосфорная кислота всасывается кишечной стенкой главным образом в виде натриевых или калиевых солей. Азотистые основания (холин и этаноламин) всасываются в виде своих активных форм.

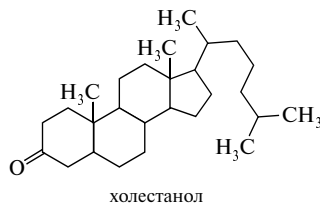
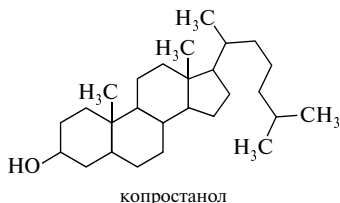
В эпителиальных клетках кишечника происходит ресинтез глицерофосфолипидов по механизму, аналогичному биосинтезу этих соединений в других тканях (23.5.3).

23.1.3. Переваривание и всасывание холестерина

В продуктах, поступающих в организм с пищей, холестерол содержится чаще всего в виде эфиров с жирными кислотами (холестеридов). Гидролиз сложноэфирной связи в холестериде катализируется ферментом **холестерол-эстеразой**, содержащейся как в панкреатическом, так и в клеточном соках.

Кроме экзогенного холестерола, в кишечник поступает эндогенный холестерол из печени путем выделения через слизистую оболочку кишечника, а также с желчью. В просвете кишечника холестерол находится в неэтерифицированной форме и в присутствии жирных и желчных кислот, фосфолипидов интегрируется в состав смешанных жировых мицелл. Холестерол в составе липидных мицелл поступает в эпителиальные клетки кишечника, где этерифицируется холестеролэстеразой, идентичной подобной эстеразе панкреатического сока. В лимфе, как и в крови, от 60 до 80% холестерола находится в виде его эфиров.

Ежедневно из организма человека выводится около 1 г холестерола. Примерно половина этого количества подвергается микробному восстановлению в нижнем отделе кишечника до копростанола и холестанола:



Эти два стерола, наряду с холестеролом, составляют основную массу стероидов кала.

23.2. Транспорт липидов

Транспорт липидов, ресинтезированных в эпителиальных клетках кишечника, как и в других тканях, осуществляется в организме за счет образования *липопротеиновых частиц*, обеспечивающих транспорт липидов в водной среде и определяющих его специфическую направленность (см. рис. 23.4).

В клетках эпителия кишечника происходит формирование липопротеиновых частиц, получивших название *хиломикронов* (ХМ), которые были обнаружены в *хилусе* (млечном соке), образующемся только в лимфатической системе кишечных ворсинок. В хилусе также в небольшом количестве обнаружены

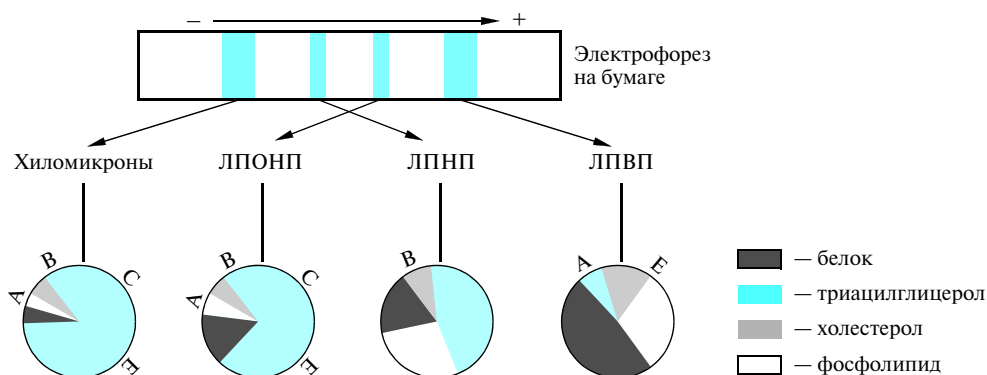


Рис. 23.5. Состав и электрофоретическая характеристика липопротеинов крови:
А, В, С, Е — апобелки липопротеинов

более мелкие и более плотные частицы — *липопротеины очень низкой плотности* (ЛПОНП), основная масса которых образуется в печени. ХМ и ЛПОНП поступают в лимфатические капилляры кишечника, затем через лимфатические сосуды брыжейки в грудной проток и оттуда через яремную вену в общий кровоток. Таким образом, ХМ и ЛПОНП (последние синтезируются также в печени) осуществляют транспорт липидов в различные ткани, в том числе в жировую ткань, где происходит депонирование липидов в специализированных клетках этой ткани — адипоцитах или липоцитах.

23.2.1. Липопротеины плазмы крови

Наряду с хиломикронами и ЛПОНП, в плазме крови обнаружены также *липопротеины низкой плотности* (ЛПНП) и *липопротеины высокой плотности* (ЛПВП). Липопротеиновые фракции можно разделить ультрацентрифугированием, поскольку они отличаются по плотности, а также по электрофоретической подвижности. При pH 8,6 хиломикроны остаются на старте, ЛПОНП движутся впереди фракции β -глобулинов (пре- β -липопротеины), ЛПНП — вместе с β -глобулинами (β -липопротеины), ЛПВП — с α -глобулинами (α -липопротеины), поэтому иногда используют двойное обозначение этих фракций: ЛПОНП и пре- β -ЛП, ЛПНП и β -ЛП, ЛПВП и α -ЛП. Основные параметры и состав липопротеиновых частиц приведены в табл. 23.1 и на рис. 23.5.

Таблица 23.1. Липопротеины крови человека

| Липо- протеины | Моле- кулярная масса, Da | Диаметр, нм | Состав, % | | | | Локализация синтеза |
|-------------------|--------------------------------|----------------|-----------|----------------------|-----------------|-----------------|---------------------------------|
| | | | белок | триацил- глицерол | фосфо- липид | холе- стерол | |
| Хило- микроны | 1—10 млн | 100—1000 | 1—2 | 88—90 | 4—7 | 5—6 | Эпителий кишечника |
| ЛПОНП | 5—100 тыс. | 30—90 | 7—10 | 50—56 | 18 | 20—23 | Эпителий кишеч- ника, печень |
| ЛПНП | 2—4 млн | 20—25 | 20—21 | 10—13 | 21—24 | 45—47 | Плазма крови из ЛПОНП |
| ЛПВП | 200—400 тыс. | 10—15 | 35—50 | 5—8 | 30—43 | 20—35 | Печень, плазма крови |

Структура липопротеинов. Типичный липопротеин, например хиломикрон, — сферическая частица, диаметром около 100 нм, сердцевина которой (липидное ядро) заполнено гидрофобными молекулами триацилглицеролов, холестерина, а поверхностная часть образована белками (аполипопротеинами или аполибелками), фосфолипидами и свободным холестерином, ориентированными таким образом, что гидрофильные головки образуют наружную поверхность, а гидрофобные хвосты обращены внутрь частиц, аналогично их расположению в биомембране (рис. 23.6).

В состав липопротеинов входят один или несколько различных белков или пептидов, которые называют аполибелками и обозначают буквами латинского алфавита (А, В, С). Помимо этих белков, в липопротеинах плазмы крови идентифицирован еще ряд других аполибелков, например аполибелок Е, выделенный из хиломикронов и ЛПОНП, некоторые из аполибелков являются гликопротеинами. Кроме структурной функции, именно аполибелки обеспечивают направленный транспорт липопротеинов, взаимодействуя со специфическими рецепторами клеточных мембран, а также регулируют активность ряда важных ферментов липидного обмена — липопротеинлипазы, лецитин-холестеролацилтрансферазы, печеночной триглицеридлипазы. Структура и концентрация каждого аполибелка в плазме крови регулируется генетически, в то время как содержание липидов в липопротеинах в значительной степени подвергается влиянию диетических и других факторов.

Хиломикроны и ЛПОНП служат для транспорта нейтральных липидов (ацилглицеролов) по кровяному руслу, а ЛПНП и ЛПВП — для транспорта холестерина и фосфолипидов. Все липопротеины плазмы крови взаимосвязаны между собой. Важным моментом в формировании отдельных фракций липопротеинов является обмен поверхностными компонентами между разными липопротеинами, функционирование которых обеспечивает сложный процесс транспорта липидов в крови.

Роль липопротеинлипазы. Липопротеинлипаза (ЛПЛ) — фермент эндотелия капилляров разных органов, гидролизующий липиды хиломикронов и ЛПОНП и таким образом способствующий включению жирных кислот триацилглицеролов в ткани. Этот фермент обнаружен в сердечной мышце, аорте, лактирующей молочной железе. Фосфолипиды и один из аполибелков липопротеинов (Апо-С-II) являются кофакторами ЛПЛ, способствуя его связыванию с субстратом (липопротеином). Таким образом, ХМ и ЛПОНП обеспечивают фермент, локализованный на стенках капилляров и катализирующий их метаболизм как субстратом, так и кофакторами. В процессе гидролиза триацилглицерол превращается вначале в диацилглицерол, а затем в моноацилглицерол, который расщепляется на глицерол и свободную жирную кислоту. Часть жирных кислот поступает в кровоток, где они связываются с альбумином крови и транспортируются в другие органы, а основная масса жирных кислот интегрируется в ткань.

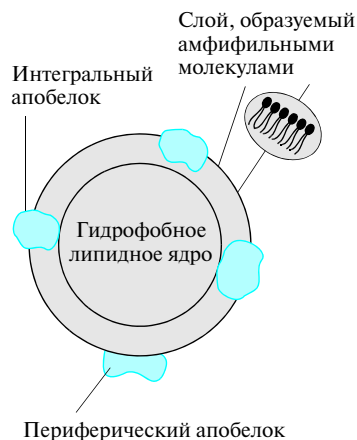


Рис. 23.6. Схема строения липопротеина

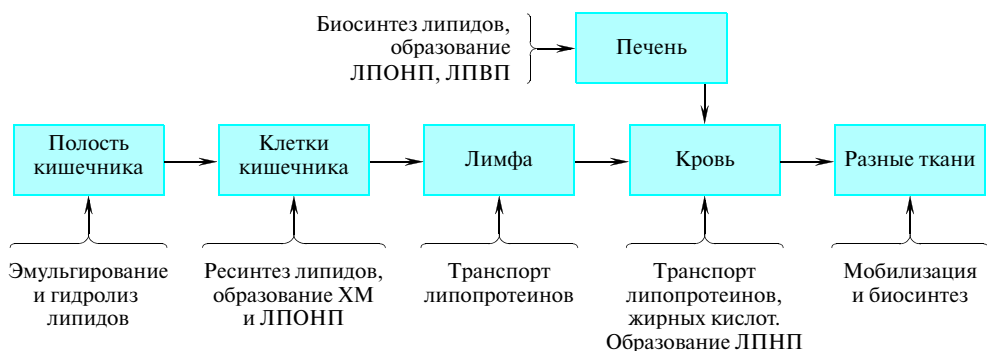


Рис. 23.7. Схема превращения и транспорта липидов

Обобщенная схема превращения липидов в пищеварительном тракте, транспорт в ткани представлена на рис. 23.7.

Роль печени в метаболизме и транспорте липидов. В соответствии с концепцией ключевой роли печени в обмене липидов следует отметить ее следующие важные функции:

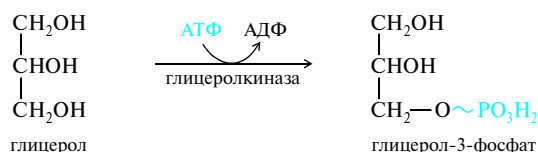
- в печени синтезируются желчные кислоты, ускоряющие переваривание и всасывание липидов;
- печень синтезирует липопротеины плазмы крови;
- в печени идут активные процессы биосинтеза и окисления всех групп липидов;
- в печени жирные кислоты способны превращаться в кетонные тела (кетогенез);
- печень выполняет интегративную функцию в метаболизме липопротеинов плазмы крови.

23.3. Внутриклеточный обмен липидов

23.3.1. Катаболизм триацилглицеролов

Липолиз (гидролиз) резервных липидов в периферических тканях катализируется гормончувствительной липазой до глицерола и свободных высших жирных кислот. Наиболее активно этот процесс идет в жировой ткани, которая распространена по всему организму: под кожей, в брюшной полости, образует жировые прослойки вокруг отдельных органов. Свободные жирные кислоты либо вновь вовлекаются в синтез липидов, либо подвергаются β -окислению, либо диффундируют в плазму крови, где связываются с сывороточным альбумином и транспортируются в другие ткани, являясь одним из основных источников энергии.

Глицерол в жировой ткани практически не утилизируется. Он диффундирует в плазму крови, откуда поступает в такие ткани, как печень или почки, где фосфорилируется под действием активной глицеролкиназы при участии АТФ:

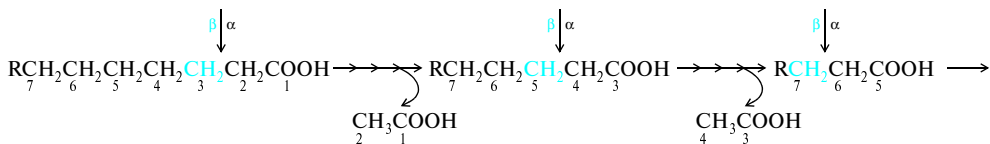


лин. Следует отметить, что глюкокортикоиды стимулируют липолиз, ускоряя синтез липазы цАМФ независимым путем, который ингибируется инсулином. Схема гормональной регуляции липолиза в жировой ткани приведена на рис. 23.8.

23.3.2. Окисление жирных кислот

Окислительное расщепление жирных кислот — универсальный биохимический процесс, протекающий во всех видах живых организмов. У млекопитающих этот процесс происходит во многих тканях, в первую очередь в печени, почках, сердечной и скелетной мышцах. В клетке окисление жирных кислот локализовано в матриксе митохондрий.

Первые предположения о путях окисления жирных кислот высказал Ф. Кнооп еще в 1904 г., выдвинув свою гипотезу « β -окисления», в соответствии с которой происходит последовательное отщепление *двухуглеродных фрагментов* CH_3COOH с карбоксильного конца молекулы. Этот процесс был назван β -окислением, поскольку каждый раз перед разрывом связи $\text{C}^\alpha\text{—C}^\beta$ происходит окисление β -углеродного атома по схеме:



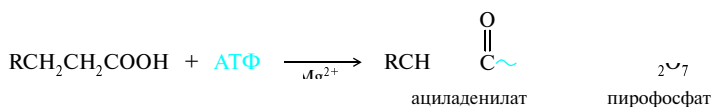
Природные жирные кислоты содержат четное число углеродных атомов, и любая такая кислота, отщепляя по паре углеродных атомов, в конце концов превращается в бутановую кислоту, которая после очередной (заключительной) стадии β -окисления гидролизуеться до двух молекул уксусной кислоты. В настоящее время биохимические превращения жирных кислот в процессе β -окисления детально изучены. Они включают следующие основные этапы (рис. 23.9):

- активацию жирной кислоты в цитоплазме клетки;
- транспорт ацильной группы в митохондрии;
- последовательность реакций β -окисления;
- энергетику окисления жирных кислот.

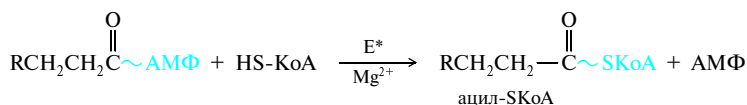
Активация жирной кислоты в цитоплазме клетки. Реакции окисления жирной кислоты происходят только после превращения ее в активированную высокоэнергетическую форму — ацил-КоА. Этот процесс требует затраты одной молекулы АТФ, присутствия коэнзима А и ионов Mg^{2+} ; катализирует превращение свободной жирной кислоты в активируемую форму — фермент ацил-КоА-синтетаза (тиокиназа). В нижеприведенных реакциях он обозначен как E^* . Известен ряд тиокиназ, специфичных к жирным кислотам с разной длиной углеводородной цепи. Эти ферменты в клетках прокариот прикреплены к клеточной мембране, у эукариот — к внешней мембране митохондрий.

Активация жирной кислоты является двухстадийным процессом.

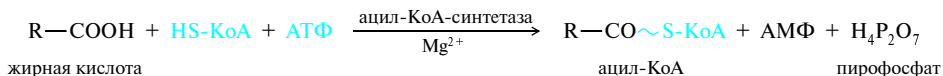
Первая стадия:



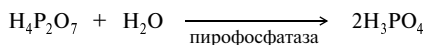
Вторая стадия:



Суммарная реакция:

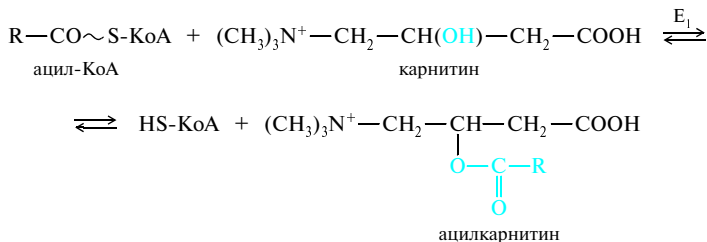


При действии фермента пирофосфатазы в пирофосфате расщепляется богатая энергией фосфоангидридная связь, что обеспечивает полноту протекания процесса активации и делает эту реакцию необратимой:

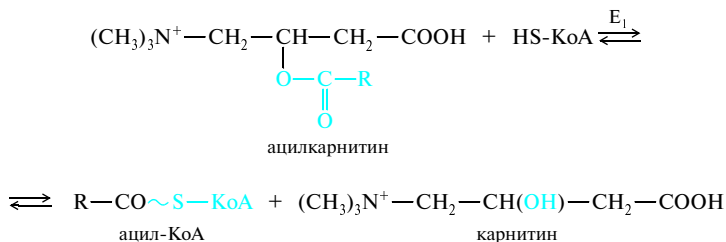


Таким образом, для активации одной молекулы жирной кислоты расходуются две макроэргические связи АТФ.

Транспорт ацильной группы в митохондрии. Внутренняя мембрана митохондрий непроницаема для ацил-KoA, образовавшегося в цитоплазме. Переносчиком активированной жирной кислоты является карнитин (γ-триметиламино-β-гидроксibuтират) $(\text{CH}_3)_3\text{N}^+-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_2-\text{COOH}$. Это широко распространенное соединение, особенно много его в мышечной ткани. В транспорте ацил-KoA принимают участие фермент — карнитин-ацилтрансфераза (E_1) и транспортный белок (карнитин: ацилкарнитин-транслоказа). Ацил-KoA, соединяясь с карнитином, при действии карнитин-ацилтрансферазы образует ацилкарнитин (эфир карнитина и жирной кислоты), который при участии транслоказы проникает внутрь митохондрии:



После прохождения ацилкарнитина через мембрану митохондрии происходит обратная реакция — расщепление ацилкарнитина при участии митохондриального HS-KoA и карнитин-ацилтрансферазы (E_1):

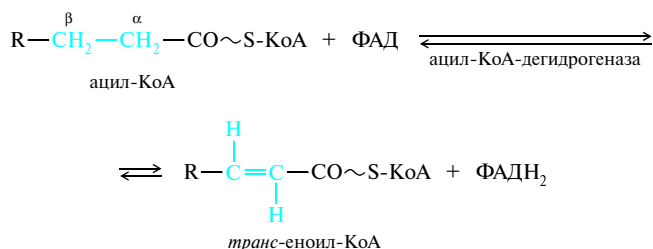


При этом карнитин возвращается в цитоплазму клетки, а ацил-КоА подвергается в митохондриях окислению. Следует отметить, что карнитин-ацил-трансфераза является основным регуляторным ферментом процесса окисления жирных кислот. Ингибитором этого фермента является исходный интермедиат синтеза жирных кислот — **малонил-КоА**. Таким образом, если активируется липогенез, увеличивается концентрация малонил-КоА, который ингибирует карнитин-ацил-КоА-трансферазу и выключает β -окисление.

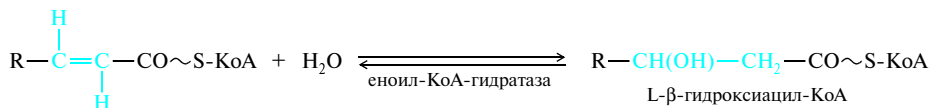
Последовательность реакций β -окисления ацил-КоА в матриксе митохондрий. Окисление ацил-КоА, в результате которого происходит отщепле-

ние двухуглеродного фрагмента $\text{CH}_3\text{C}(=\text{O})\sim\text{S-CoA}$ и окисление β -углеродного атома кислоты, катализируется четырьмя ферментами, известными под общим названием *оксидазы жирных кислот*. Эта система локализована в матриксе митохондрий в непосредственной близости от дыхательной цепи, интегрированной во внутреннюю мембрану митохондрий. Таким образом, окисление ацил-КоА до ацетил-КоА, в процессе которого происходит восстановление НАД^+ и ФАД, сопряжено с синтезом АТФ путем окислительного фосфорилирования.

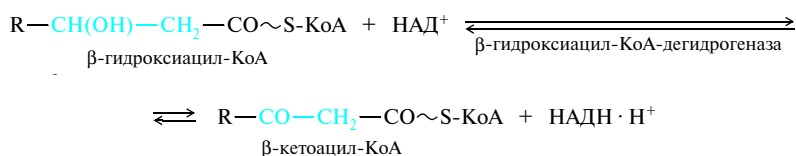
1. Реакция дегидрирования, катализируемая **ФАД-зависимой ацил-КоА-дегидрогеназой**, приводит к образованию α , β -ненасыщенного ацил-SКоА. Фермент обладает стереоспецифичностью, поэтому в результате этой реакции образуется только *транс*-изомер (*транс*-еноил-КоА):



2. Во второй реакции происходит гидратация ненасыщенного *транс*-еноил-КоА при действии фермента **еноил-КоА-гидратазы**. В результате образуется L- β -гидроксиацил-КоА:



3. Реакция дегидрирования, в процессе которой образовавшийся β -гидроксиацил-КоА дегидрируется в β -положение. Эту реакцию катализирует **НАД-зависимая β -гидроксиацил-КоА-дегидрогеназа**:



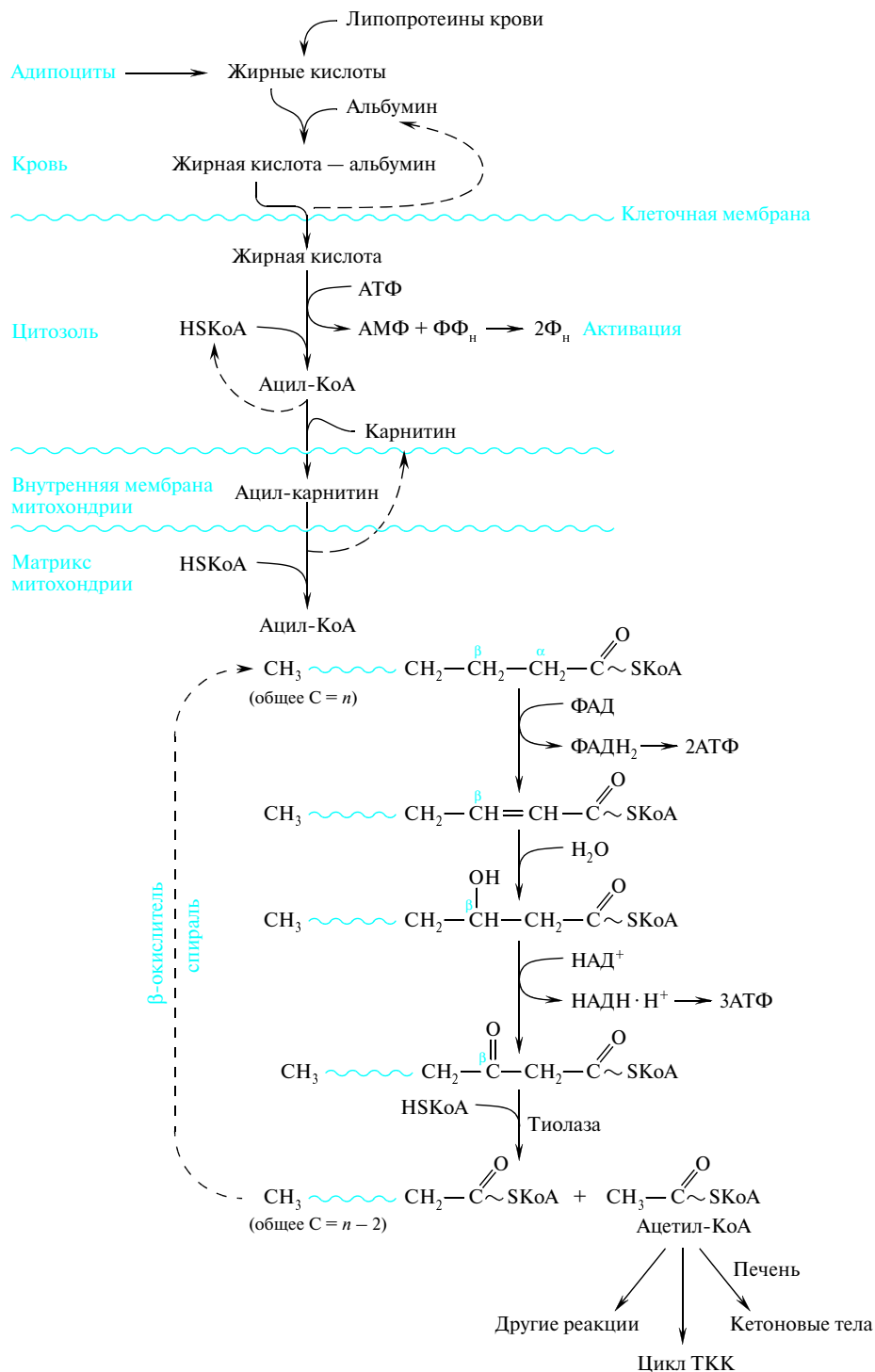
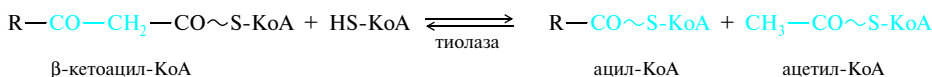
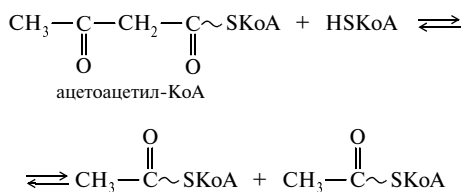
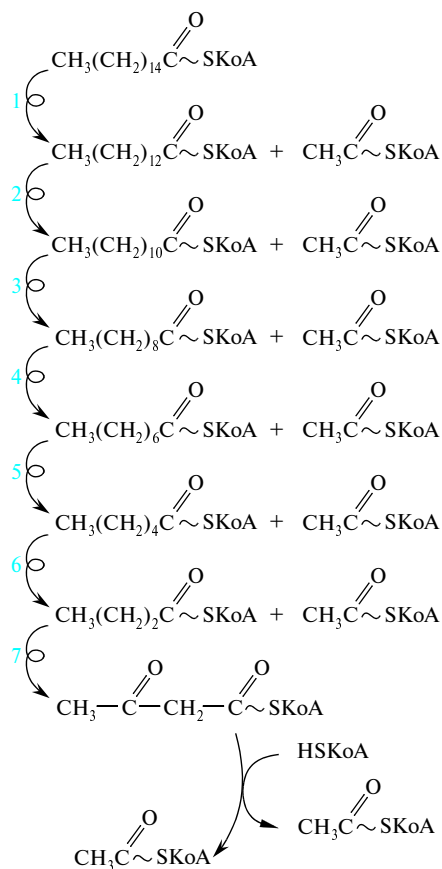


Рис. 23.9. Схема активации и окисления жирной кислоты

4. В заключительной реакции тиолитического расщепления β -кето-ацил-КоА с помощью еще одной молекулы коэнзима А образуется укороченный на два углеродных атома ацил-КоА и двухуглеродный фрагмент в виде ацетил-КоА. Реакция катализируется **ацетил-КоА-ацилтрансферазой** (или тиолазой):



Образующийся укороченный ацил-КоА вновь вступает в следующий цикл β -окисления, начиная с первой реакции дегидрирования, и происходит повторное превращение этого ацил-КоА в цикле, состоящем из четырех реакций, и т. д. Такой процесс β -окисления протекает до образования четырехуглеродного соединения — ацетоацетил-КоА. Последняя реакция тиолитического расщепления этого соединения приводит к образованию двух молекул ацетил-КоА и тем самым завершает в целом распад жирной кислоты по механизму β -окисления:



Как отмечалось ранее (гл. 19), молекулы ацетил-КоА, образовавшиеся из жирной кислоты, подвергаются полному окислению до CO_2 и H_2O в цикле трикарбоновых кислот.

Из схемы, приведенной на рис. 23.10, видно, что при окислении одной молекулы

пальмитоил-КоА $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}-\text{C}(=\text{O})\sim\text{S-CoA}$ образовалось восемь молекул ацетил-КоА в процессе семи циклов β -окисления. Следовательно, суммарное уравнение окисления активированной пальмитиновой кислоты можно записать следующим образом:

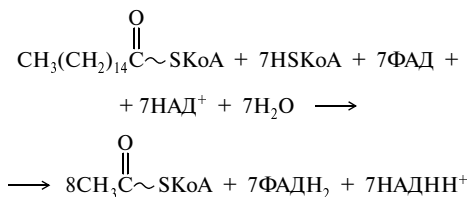


Рис. 23.10. Схема катаболизма пальмитиновой кислоты (C_{16}) путем β -окисления:

\curvearrowright — обозначает повторение четырех реакций β -окисления;
1—7 — нумерация циклов β -окисления

Энергетика окисления жирных кислот. Окисление жирных кислот сопровождается выделением большого количества метаболической энергии. При расчете баланса АТФ в этом процессе следует предположить, что все образовавшиеся молекулы ацетил-КоА включаются в цикл трикарбоновых кислот и их полное окисление сопровождается синтезом 12 молекул АТФ в расчете на окисление одной молекулы ацетила. НАДН и ФАДН₂ окисляются в митохондриальной дыхательной цепи. При окислении НАДН синтезируются 3 АТФ, а ФАДН₂ — 2 АТФ и, следовательно, в одном цикле β-окисления синтезируется 5 АТФ. Таким образом, расчет баланса АТФ при полном окислении жирной кислоты с числом углеродных атомов, равным n , можно провести по формуле

$$\left[5\text{АТФ} \cdot \left(\frac{n}{2} - 1 \right) + 12\text{АТФ} \cdot \frac{n}{2} \right] - 1\text{АТФ},$$

где $\left(\frac{n}{2} - 1 \right)$ — число циклов β-окисления; $\frac{n}{2}$ — число образовавшихся молекул ацетил-КоА; 1 АТФ — затрачивается на активацию жирной кислоты.

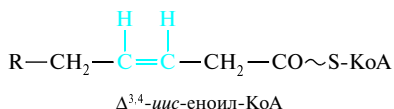
Следовательно, при окислении 1 молекулы пальмитиновой кислоты (C₁₆) баланс АТФ составляет 130 молекул:

$$[5\text{АТФ} \cdot 7 + 12\text{АТФ} \cdot 8] - 1\text{АТФ} = 130\text{АТФ}.$$

Если учесть, что ΔG° окисления пальмитиновой кислоты составляет 9791 кДж/моль, то на долю энергии, запасаемой в фосфатных связях АТФ, приходится 3965 кДж (30,5 · 130), т. е. более 40%.

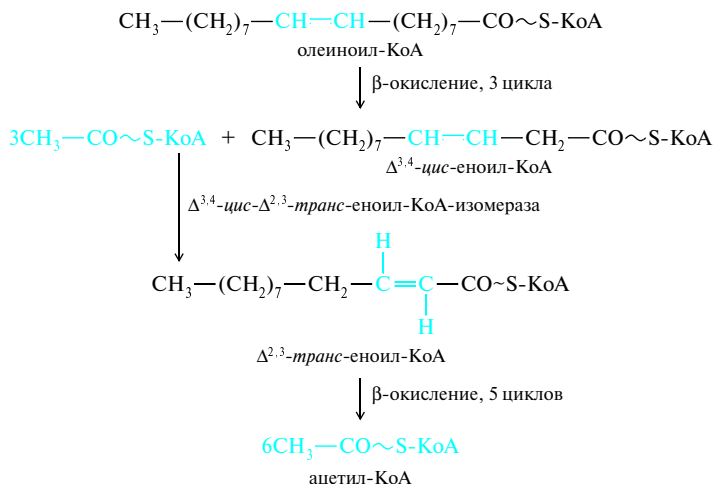
23.3.3. Окисление ненасыщенных жирных кислот

Окисление активированных ненасыщенных жирных кислот (ацил-КоА) происходит так же, как и окисление насыщенных кислот, т. е. по механизму β-окисления. Однако двойные связи природных ненасыщенных жирных кислот (олеиновой, линолевой и т. д.) имеют *цис*-конфигурацию, а в КоА-эфирах ненасыщенных кислот, являющихся промежуточными продуктами при β-окислении насыщенных жирных кислот, двойные связи имеют *транс*-конфигурацию. Кроме того, последовательное удаление двухуглеродных фрагментов при окислении ненасыщенных жирных кислот до первой двойной связи дает Δ^{3,4}-ацил-КоА, а не Δ^{2,3}-ацил-КоА, который является промежуточным продуктом β-окисления насыщенных жирных кислот:



В организме имеется фермент, который, во-первых, осуществляет перемещение двойной связи из положения 3—4 в положение 2—3 и, во-вторых, изменяет конфигурацию двойной связи из *цис*- в *транс*-, т. е. катализирует реакцию двойной изомеризации: Δ^{3,4}-*цис*-Δ^{2,3}-*транс*-еноил-КоА-изомеразы.

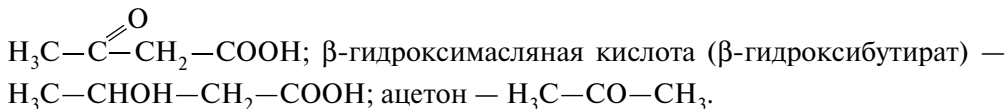
Ниже приведена реакция окисления активированной олеиновой кислоты (олеиноил-КоА), содержащей одну ненасыщенную связь:



При окислении жирных кислот с двумя и более ненасыщенными связями в одном из циклов β -окисления образуется кислота с двойной связью в положении 2—3, но с *цис*-геометрией, и в качестве продукта следующей реакции гидратации образуется D- β -гидроксиацил-КоА, который НАД-зависимая ацил-КоА-дегидрогеназа не может использовать в качестве субстрата. Превращение D- β -гидроксиацил-КоА в L-изомер катализирует второй дополнительный фермент — **эпимераза**.

23.4. Кетоновые тела: биосинтез, биологическая роль

К кетоновым телам относятся следующие метаболиты, образующиеся в печени из жирных кислот: ацетоуксусная кислота (ацетоацетат) —

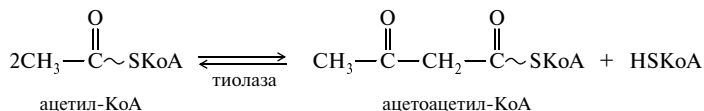


Эти вещества из печени поступают в кровь и в периферических органах, в том числе и мозговой ткани, могут использоваться как источники энергии. Содержание кетоновых тел в сыворотке крови человека в норме невелико (0,03—0,2 ммоль/л). Увеличение концентрации кетоновых тел в крови — *кетоз* развивается при высокой скорости окисления жирных кислот, избыточного накопления ацетил-КоА, когда его количество превышает потребности цикла трикарбоновых кислот. Это состояние возникает при голодании, сахарном диабете, приеме пищи, богатой жирами, т. е. при недостатке углеводов (глюкозный голод, когда окисление жирных кислот становится для организма основным источником энергии). Концентрация кетоновых тел в сыворотке крови при патологии может достигать 16—20 ммоль/л.

Биосинтез кетоновых тел. Долгое время в науке существовало представление о том, что кетоновые тела являются только промежуточными метаболитами

тами β -окисления жирных кислот. Позднее пришли к заключению, что главный путь их образования — кетогенез, который протекает в печени и включает конденсацию двух молекул ацетил-КоА — конечных продуктов β -окисления (рис. 23.11).

Все кетоновые тела образуются из ацетоацетил-КоА, который синтезируется в митохондриях печени из двух молекул ацетил-КоА в результате обращения реакции, катализируемой ацетил-КоА-ацетилтрансферазой (тиолазой):



Основной путь превращения ацетоацетил-SKoA в печени заключается в соединении его с ацетил-SKoA, что приводит к образованию β -гидрокси-

ПЕЧЕНЬ, МИТОХОНДРИИ

Синтез кетоновых тел

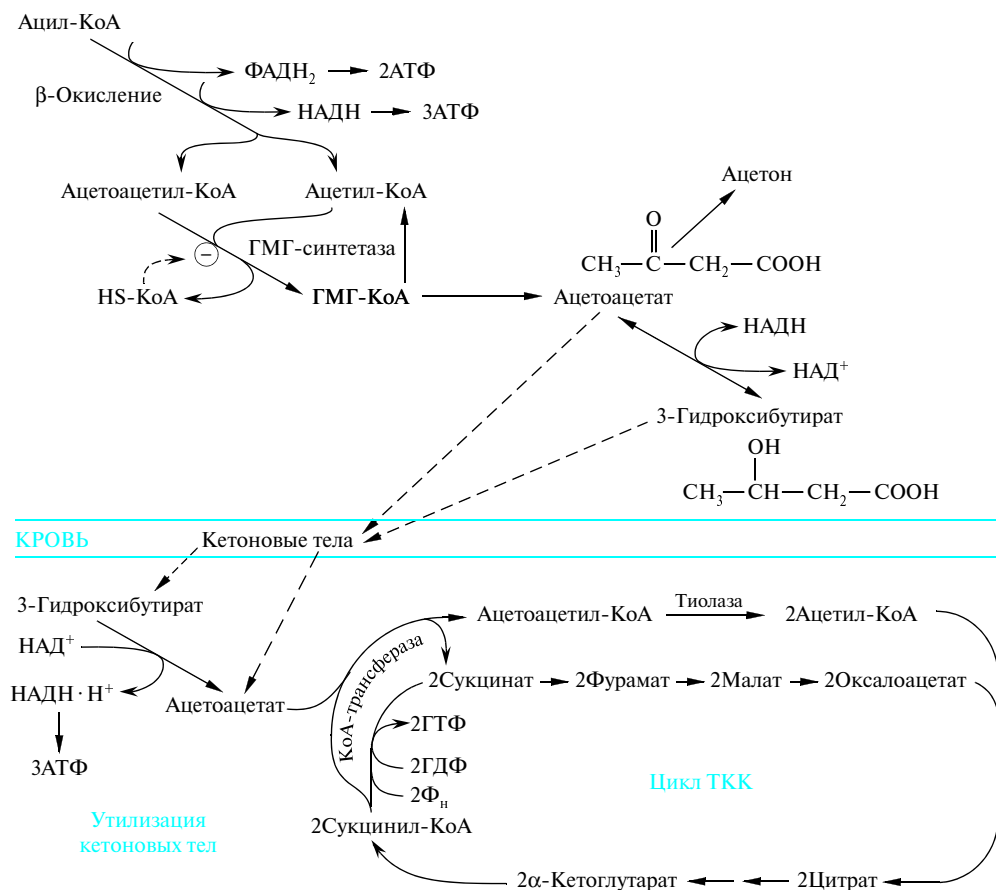
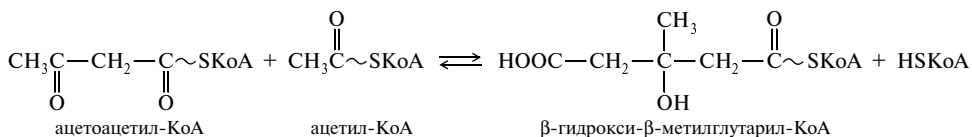
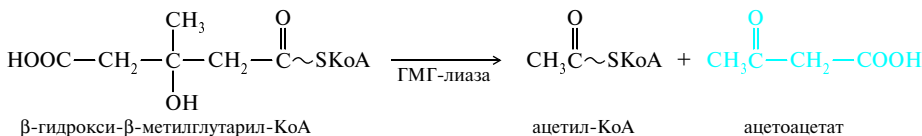


Рис. 23.11. Метаболизм кетоновых тел:
ГМГ-синтетаза — β -гидрокси- β -метилглутарил-КоА-синтетаза;
ГМГ-КоА — β -гидрокси- β -метилглутарил-КоА

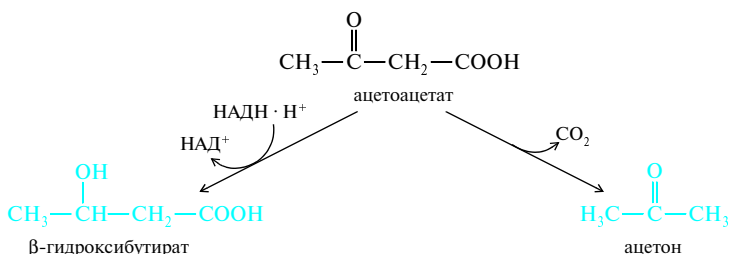
β-метилглутарил-SKoA при действии β-гидрокси-β-метилглутарил-KoA-синтазы (ГМГ-синтаза):



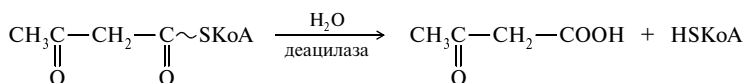
Обычно этот промежуточный метаболит в цитоплазме печени расходуется на синтез холестерина. В митохондриях печени β-гидрокси-β-метилглутарил-SKoA расщепляется на ацетил-SKoA и ацетоуксусную кислоту при действии фермента β-гидрокси-β-метилглутарил-KoA-лиазы (ГМГ-лиаза):



Ацетоацетат посредством β-гидроксибутиратдегидрогеназы восстанавливается до β-гидроксибутирата или может неферментативно декарбоксилироваться до ацетона:



Кроме того, свободная ацетоуксусная кислота может образовываться при действии фермента **деацетилазы**, который также локализован в печени, но активность его крайне низка:



При голодании и диабете ацетоацетат может в периферических тканях использоваться для генерации энергии. В митохондриях его активация (образование ацетоацетил-KoA) происходит за счет переноса HS-KoA с сукцинил-KoA (промежуточный метаболит ЦТК) на ацетоацетат в реакции катализируемой специфической KoA-трансферазой:



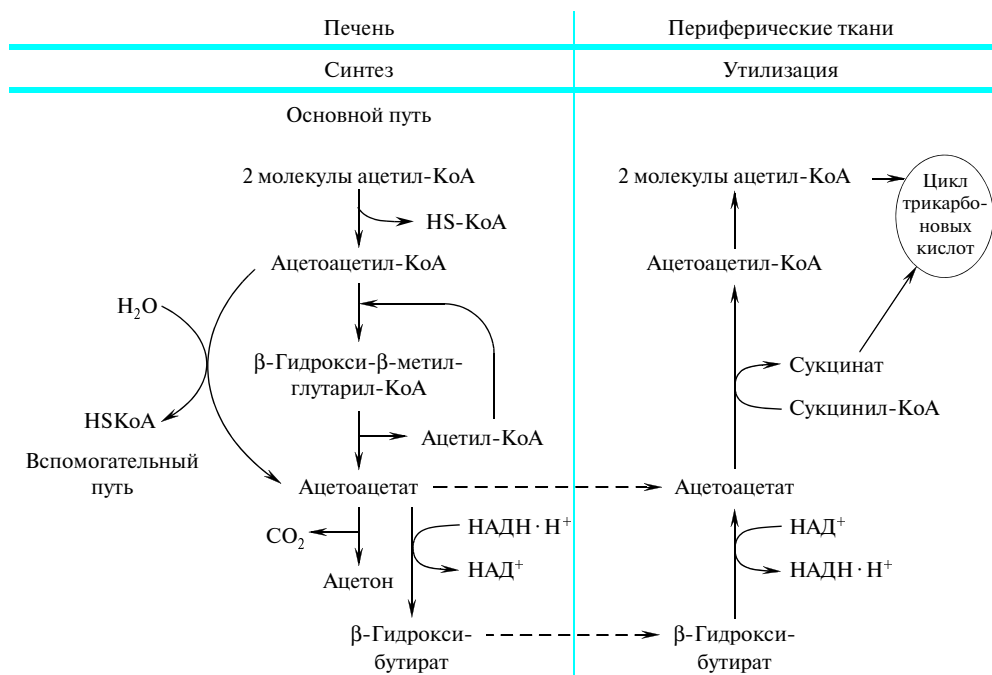


Рис. 23.12. Обобщенная схема путей синтеза и утилизации кетоновых тел

Образовавшийся ацетоацетил-КоА расщепляется в тиолазной реакции до двух молекул ацетил-КоА, которые затем, как и сукцинат, включаются в цикл трикарбоновых кислот, обеспечивая организм энергией.

Обобщенная схема путей синтеза и использования кетоновых тел приведена на рис. 23.12.

Регуляция кетогенеза. Как отмечалось ранее, кетоновые тела, синтезированные в печени, диффундируют в кровь и транспортируются к периферическим тканям. В ряде органов (сердечная мышца, корковый слой почек) они используются в качестве энергетических субстратов. В настоящее время имеются данные о том, что причиной кетонемии (повышенное содержание кетоновых в крови) является активация их биосинтеза в печени, а не недостаточная их утилизация во внепеченочных тканях.

Регуляция кетогенеза осуществляется на трех основных этапах этого процесса (рис. 23.13).

• Биосинтез кетоновых тел активизируется только при увеличении в крови свободных

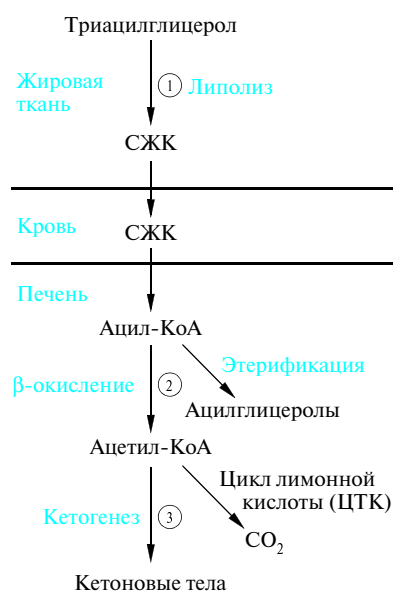


Рис. 23.13. Регуляция кетогенеза: ①—③ — ключевые стадии на пути метаболизма свободных жирных кислот (СЖК), которые определяют количество образующихся кетоновых тел

жирных кислот, т. е. для регуляции кетогенеза важны факторы, контролирующие стадию мобилизации свободных жирных кислот из жировой ткани.

- Свободные жирные кислоты в печени используются для биосинтеза либо триацилглицеролов, либо включаются в процесс β -окисления до ацетил-КоА. Расхождение путей метаболизма жирных кислот регулируется скоростью их транспорта через митохондриальную мембрану в матрикс, где и происходит β -окисление (регуляторный фермент — **карнитин-ацилтрансфераза**).

- Ацетил-КоА в матриксе митохондрий может либо окисляться в цикле ТКК, либо метаболизировать по пути кетогенеза, т. е. образовывать кетоновые тела.

Если расщепление жиров преобладает, что происходит в отсутствие углеводов, цитрат, синтезированный в митохондриях из ацетил-КоА и оксалоацетата, транспортируется в цитоплазму, где используется для биосинтеза глюкозы и, следовательно, возможность его окисления в цикле ТКК снижается. При таких условиях метаболизм ацетил-КоА в митохондриях идет преимущественно по пути кетогенеза. Таким образом, кетогенез возникает прежде всего в результате недостатка углеводов, и это обстоятельство на всех трех стадиях регуляции биосинтеза кетоновых тел является решающим фактором.

23.5. Биосинтез липидов

Синтез жиров в организме происходит главным образом из углеводов, поступающих в избыточном количестве и не используемых для синтеза гликогена. Кроме этого, в синтезе липидов участвуют также и некоторые аминокислоты. По сравнению с гликогеном жиры представляют более компактную форму хранения энергии, поскольку они менее окислены и гидратированы. При этом количество энергии, резервированное в виде нейтральных липидов в жировых клетках, ничем не ограничивается в отличие от гликогена. Центральным процессом в липогенезе является синтез жирных кислот, поскольку они входят в состав практически всех групп липидов. Кроме этого, следует помнить, что основным источником энергии в жирах, способным трансформироваться в химическую энергию молекул АТФ, являются процессы окислительных превращений именно жирных кислот.

23.5.1. Биосинтез жирных кислот

Структурным предшественником для синтеза жирных кислот является ацетил-КоА. Это соединение образуется в матриксе митохондрий преимущественно из пирувата, в результате реакции его окислительного декарбоксилирования, а также в процессе β -окисления жирных кислот. Следовательно, углеводородные цепи собираются в ходе последовательного присоединения двухуглеродных фрагментов в форме ацетил-КоА, т. е. биосинтез жирных кислот происходит по той же схеме, но в противоположном направлении по сравнению с β -окислением.

Однако существует ряд особенностей, различающих эти два процесса, благодаря которым они становятся термодинамически выгодными, необратимыми и по-разному регулируются.

Следует отметить основные отличительные особенности анаболизма жирных кислот.

- Синтез насыщенных кислот с длиной углеводородной цепи до C_{16} (пальмитиновая кислота) в эукариотических клетках осуществляется в цитозоле клетки. Дальнейшее наращивание цепи происходит в митохондриях и частично в ЭПР, где идет превращение насыщенных кислот в ненасыщенные.

- Термодинамически важным является карбоксилирование ацетил-КоА и превращение его в малонил-КоА ($COOH-CH_2-COOH$), на образование которого затрачивается одна макроэргическая связь молекулы АТФ. Из восьми молекул ацетил-КоА, необходимых для синтеза пальмитиновой кислоты, только одна включается в реакции в виде ацетил-КоА, остальные семь в виде малонил-КоА.

- В качестве донора восстановительных эквивалентов для восстановления кетогруппы до гидроксигруппы функционирует НАДФН, в то время как при обратной реакции в процессе β -окисления восстанавливается НАДН или ФАДН₂ в реакциях дегидрирования ацил-КоА.

- Ферменты, катализирующие анаболизм жирных кислот, объединены в единый мультиферментный комплекс, получивший название «синтетаза высших жирных кислот».

- На всех этапах синтеза жирных кислот активированные ацильные остатки связаны с ацилпереносящим белком, а не с коэнзимом А, как в процессе β -окисления жирных кислот.

Транспорт внутримитохондриального ацетил-КоА в цитоплазму. Ацетил-КоА образуется в клетке преимущественно в процессе внутримитохондриальных реакций окисления. Как известно, митохондриальная мембрана непроницаема для ацетил-КоА.

Известны две транспортные системы, обеспечивающие перенос ацетил-КоА из митохондрий в цитоплазму: ацил-карнитиновый механизм, описанный ранее, и цитрат-транспортная система (рис. 23.14).

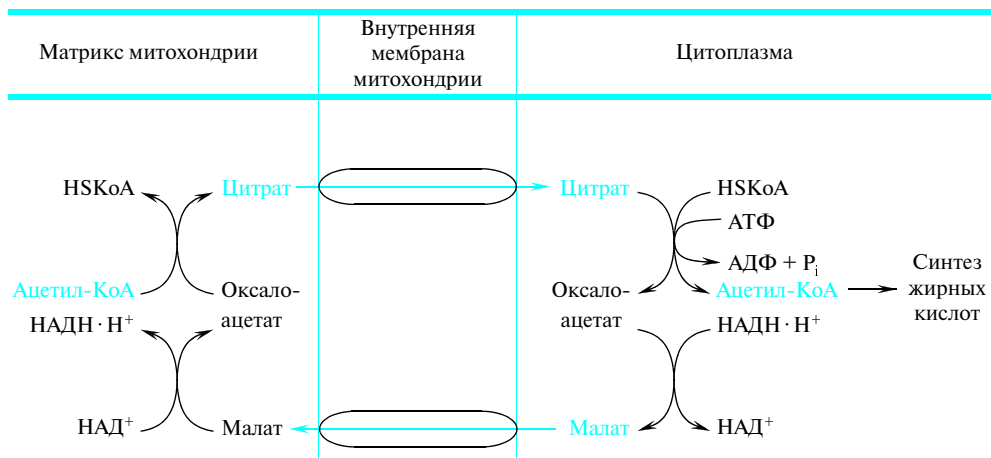
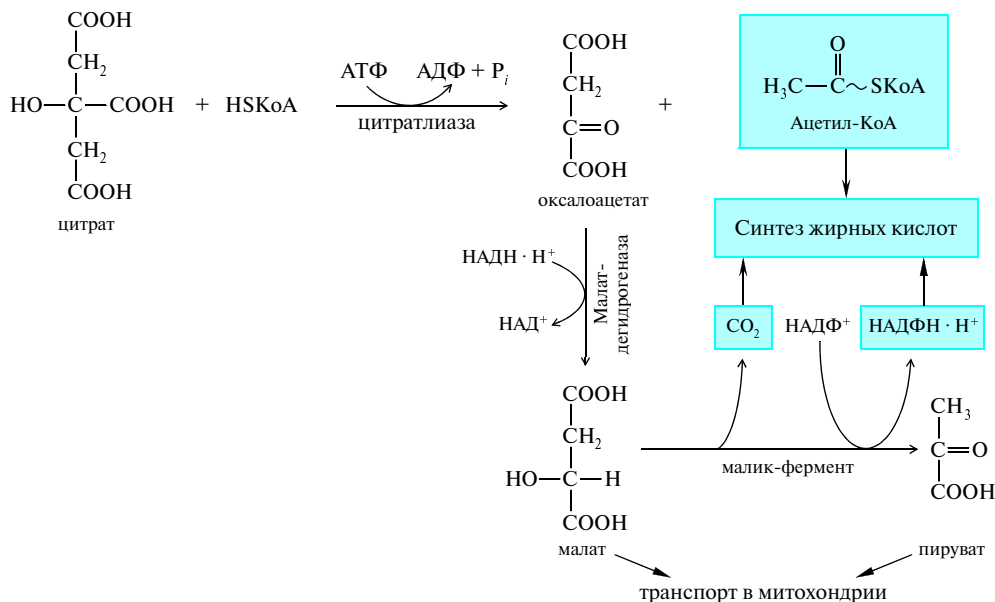


Рис. 23.14. Цитратный механизм транспорта ацетил-КоА через внутреннюю мембрану митохондрий

В процессе транспорта внутримитохондриального ацетил-КоА в цитоплазму по цитратному механизму вначале происходит его взаимодействие с оксалоацетатом, который превращается в цитрат (первая реакция цикла трикарбоновых кислот, катализируемая ферментом **цитратсинтазой**; гл. 19). Специфической транслоказой образовавшийся цитрат переносится в цитоплазму, где расщепляется ферментом цитратлиазой при участии коэнзима А на оксалоацетат и ацетил-КоА. Механизм этой реакции, сопряженной с гидролизом АТФ, приведен ниже:



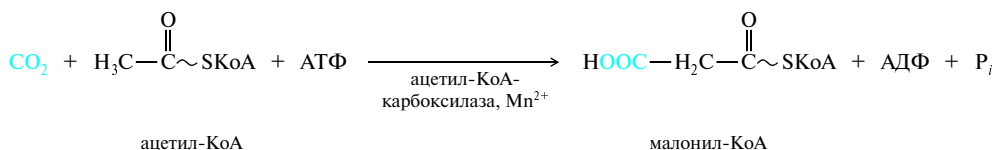
В связи с тем что для оксалоацетата мембрана митохондрии непроницаема, уже в цитоплазме он восстанавливается посредством НАДН в малат, который при участии специфической транслоказы может вернуться в матрикс митохондрии, где окисляется до оксалоацетата. Таким образом, завершается так называемый челночный механизм транспорта ацетила через митохондриальную мембрану. Часть цитоплазматического малата подвергается окислительному декарбоксилированию и превращается в пируват с помощью особого «малик»-фермента, коферментом которого является НАДФ⁺. Восстановленный НАДФН наряду с ацетил-КоА и CO₂ используется в синтезе жирных кислот.

⚠ Обратите внимание, что цитрат транспортируется в цитоплазму лишь тогда, когда его концентрация в матриксе митохондрии достаточно велика, например при избытке углеводов, когда цикл трикарбоновых кислот обеспечен ацетил-КоА.

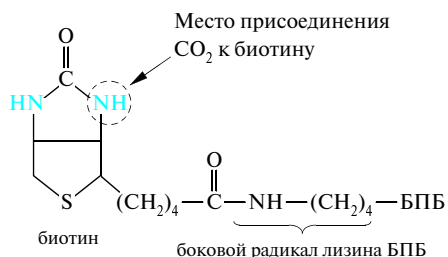
Таким образом, цитратный механизм обеспечивает как транспорт ацетил-КоА из митохондрии, так и примерно на 50% потребности в НАДФН, который используется в восстановительных реакциях синтеза жирных кислот. Кроме этого, потребности в НАДФН восполняются также за счет пентозофосфатного пути окисления глюкозы.

Образование малонил-КоА. Первым этапом в синтезе жирных кислот является образование малонил-КоА из ацетил-КоА и CO_2 , т. е. происходит АТФ-зависимое карбоксилирование ацетил-КоА.

Биологическая роль этого процесса заключается в активации группы CH_3 ацетил-КоА путем превращения в более реакционную метиленовую (CH_2) малонил-КоА. Эта реакция катализируется ферментной системой — **ацетил-КоА-карбоксилазой**, коферментом которой является **биотин** (витамин Н), активатором — ионы марганца (Mn^{2+}). Суммарную реакцию карбоксилирования ацетил-КоА можно записать следующим образом:

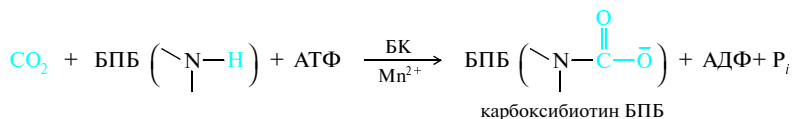


Ацетил-КоА-карбоксилаза — это мультиферментный комплекс, состоящий из трех белков: **биотин-переносящий белок (БПБ)**, к которому присоединен ковалентной пептидной связью биотин, и два фермента: **биотин-карбоксилаза (БК)** — карбоксилирует биотин с образованием карбоксибиотина, содержащего высокоактивированную группу CO_2 ; второй фермент — **карбоксилтрансфераза (КТ)** осуществляет реакцию переноса активированного CO_2 на ацетил-КоА. Ниже приведена схема ковалентного комплекса биотина и биотин-переносящего белка.

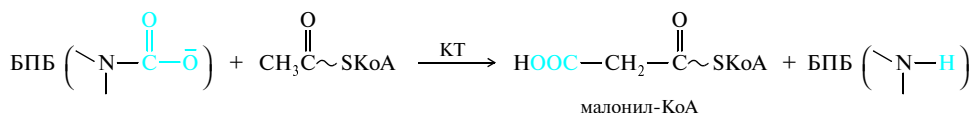


Реакция образования малонил-КоА включает две стадии.

Первая стадия:



Вторая стадия:



Продукт реакции — малонил-КоА является активированным донором ацетил-КоА, молекулы которых должны последовательно соединяться в процессе синтеза жирных кислот.

Ацетил-КоА-карбоксилаза является важнейшим регуляторным ферментом всего процесса синтеза жирных кислот. По аллостерическому механизму она активируется цитратом и ингибируется длинноцепочечными ацил-КоА-производными.

Мультиферментный синтетазный комплекс жирных кислот. Все ферменты биосинтеза жирных кислот образуют единый агрегат — мультиферментный комплекс, получивший название синтетазы жирных кислот. Комплекс синтетазы животных тканей и дрожжей — это *димер*, состоящий из двух идентичных *мономеров*, каждый из которых представляет полипептидную цепь, включающую шесть активных центров ферментов и *ацил-переносящий белок* (HS-АПБ). Эти ферменты образуют настолько компактную структуру, что они не поддаются фракционированию и все попытки выделить их в индивидуальном виде не увенчались успехом.

Другой тип структурной организации ферментов синтеза жирных кислот встречается у микроорганизмов и растений, из которых отдельные ферменты могут быть выделены методами белкового фракционирования.

Структура мономера синтетазы жирных кислот. В состав синтетазы входит ацил-переносящий белок (HS-АПБ). Он имеет молекулярную массу около 10 kDa; сравнительно термостабилен; содержит фосфорилированную пантотеновую кислоту (витамин B₃) и тиоэтиламин, ковалентно присоединенные к полипептидной цепи АПБ через сериновый остаток фосфоэфирной связью. Следует отметить, что та же самая группировка входит в состав HS-КоА:



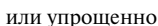
Реакционной группой АПБ является HS-группа, поэтому его принято обозначать в виде HS-АПБ. В синтетазной системе этот белок выполняет функцию, сходную с HS-КоА, т. е. участвует в передаче ацильных радикалов от одного фермента к другому.

Ферменты синтетазного комплекса (в скобках обозначены номера катализируемых ими реакций) приведены ниже:

- ацетил (или ацил)-АПБ-трансфераза (1);
- малонил-АПБ-трансфераза (2);
- β-кетоацил-АПБ-синтаза (конденсирующий фермент) (3);
- β-кетоацил-АПБ-редуктаза (4);
- β-гидрокси-АПБ-дегидратаза (5);
- еноил-АПБ-редуктаза (6).

В процессе биосинтеза жирных кислот для проявления синтетазной активности необходимо участие двух сульфгидрильных групп комплекса. Одна реакционная HS-группа принадлежит HS-АПБ одного мономера, другая — остатку цистеина, входящего в состав β-кетоацил-АПБ-синтазы другого мономера, которые расположены в непосредственной близости друг от друга. В связи с этим синтетазный комплекс активен только в виде димера. Поскольку каждый из мономеров включает все ферменты синтетазного комплек-

<http://chemistry-chemists.com>



- 1)

ацетил-КоА

ацетил-АПБ

- 2)

малонил-КоА

малонил-АПБ

- 3)

β -кетоацил-АПБ-синтаза

CO_2

β -кетоацил-АПБ

- 4)

β -кетоацил-АПБ-редуктаза

β -гидроксиацил-АПБ

- 5)

β -гидроксиацил АПБ-дегидратаза

H_2O

транс-еноил-АПБ

- 6)

еноил-АПБ-редуктаза

бутирил-АПБ

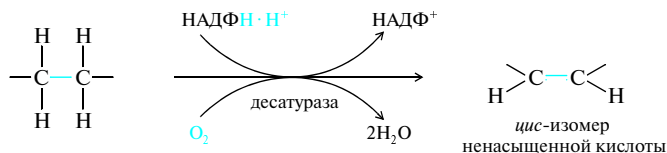
Рис. 23.15. Последовательность реакций синтеза бутирил-АПБ

В реакции 1 (рис. 23.15) идет перенос ацетила на сульфгидрильную группу цистеина, малонил же взаимодействует с соседней HS-группой АПБ, локализованного на другом мономере (реакция 2). Центральной реакцией является реакция конденсации (3) ацетила с метиленовой группой малонила, сопровождающаяся отщеплением CO_2 . В результате происходит образование четырехуглеродного ацильного остатка и высвобождение HS-группы цистеина, ранее занятой ацетильной группой. Декарбоксилирование в этой реакции имеет энергетическое значение, позволяет реакции пройти до конца и, таким образом, является движущей силой биосинтеза. В последующем идет восстановление β -кетоацильной группы (реакция 4), затем дегидратация (реакция 5) и вновь восстановление ненасыщенного *транс*-еноил-АПБ, в результате чего образуется насыщенный ацил-АПБ (реакция 6). Три последние реакции сходны с соответствующими обратными реакциями β -окисления, отличаются образованием в четвертой реакции D-изомера β -гидроксикислоты, а не L-изомера, а также тем, что восстановителем является НАДФН, а не НАДН. Завершается первый этап синтеза перемещением насыщенного ацильного радикала на свободную HS-группу цистеина, а новая молекула малонил-КоА взаимодействует с HS-АПБ, цикл реакций повторяется еще шесть раз, и каждый новый остаток малоната, декарбоксилируясь, встраивается в углеродную цепь до тех пор, пока не образуется 16-углеродный пальмитоил-АПБ (рис. 23.16). Завершается синтез кислоты гидролитическим отщеплением HS-АПБ от пальмитоил-АПБ при действии фермента деацилазы, не входящей в состав комплекса синтазы жирной кислоты.

23.5.2. Синтез ненасыщенных жирных кислот

Как известно, ди- и полиеновые кислоты не синтезируются в тканях животных и должны поступать в организм с пищей (гл. 21). Наиболее распространенные моноеновые кислоты: пальмитоолеиновая и олеиновая — синтезируются соответственно из пальмитиновой и стеариновой кислот. Превращение пальмитоил-КоА и стеароил-КоА в соответствующие ненасыщенные кислоты катализируется ферментной системой, так называемой десатуразой жирных кислот, локализованной в ЭПР печени и некоторых других тканях.

В этом процессе молекулярный кислород выступает акцептором водорода по отношению к двум донорам водорода — жирной кислоте и НАДФН. Реакция катализируется митохондриальной десатуразной системой, состоящей из цитохрома b_5 , цитохром b_5 -редуктазы и оксигеназы, по следующей схеме:



В эндоплазматическом ретикулуме наряду с десатуразой имеются ферменты — *элонгазы*, катализирующие удлинение цепи жирных кислот путем присо-

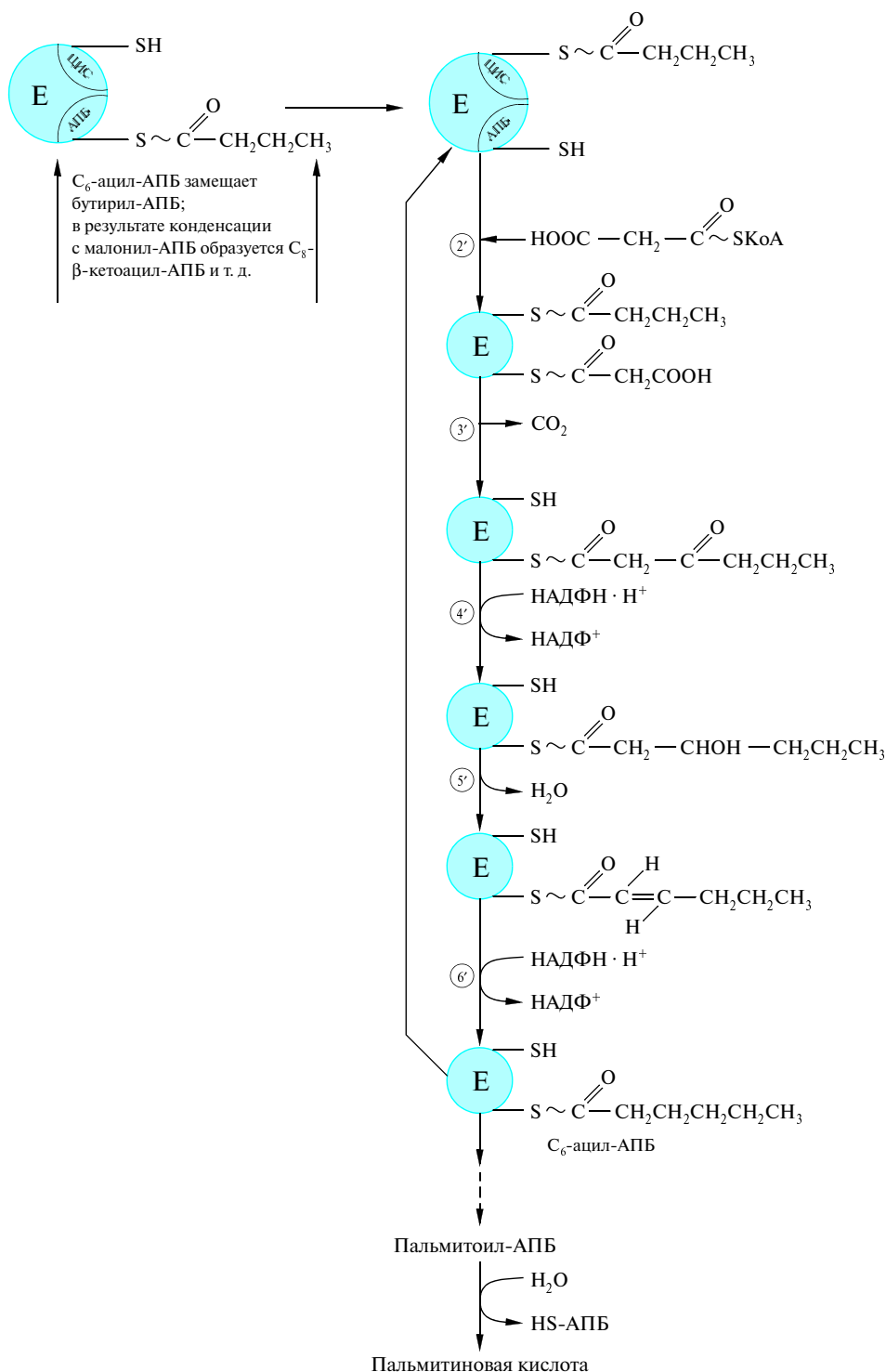


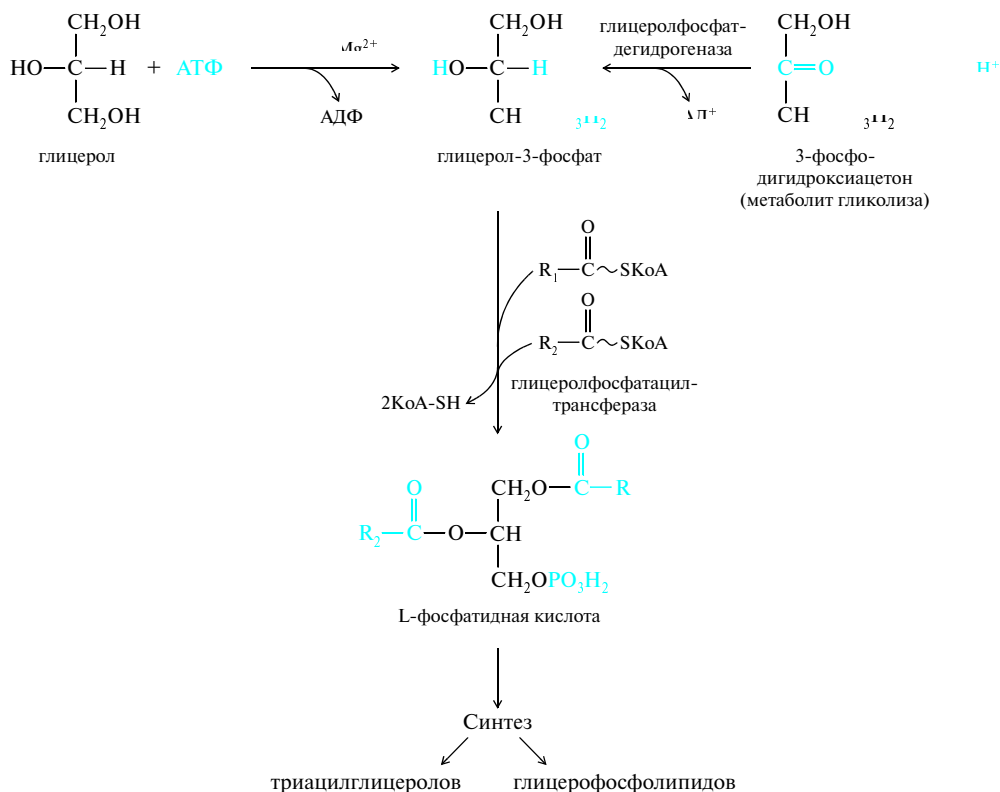
Рис. 23.16. Схема биосинтеза пальмитиновой кислоты

единения к ацил-КоА двухуглеродных фрагментов, донором которых является малонил-КоА, а восстанавливающим агентом — НАДФН.

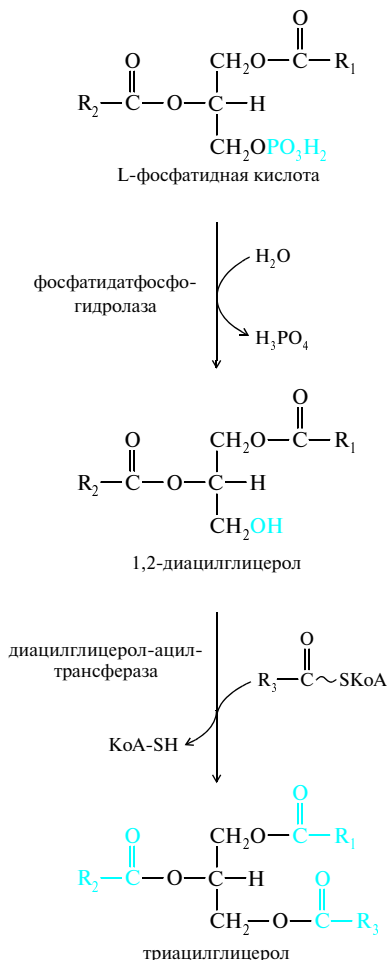
23.5.3. Биосинтез триацилглицеролов и глицерофосфолипидов

Биосинтетические процессы, приводящие к синтезу триацилглицеролов (ТАГ) и глицерофосфолипидов (ГФЛ), на первых этапах синтеза происходят с образованием общего предшественника — **фосфатидной кислоты**.

Биосинтез фосфатидной кислоты. Фосфатидная кислота образуется из активированных жирных кислот (ацил-КоА) и фосфорилированного в третьем положении глицерина (глицерол-3-фосфат). Известны два пути синтеза глицерол-3-фосфата. Свободный глицерол фосфорилируется по 3-гидроксигруппе в присутствии глицеролкиназы и АТФ с образованием L-глицерол-3-фосфата. Высокая активность глицеролкиназы выявлена в клетках ткани печени и эпителия кишечника, в то время как в жировой ткани и мышцах этот фермент мало активен и образование глицерол-3-фосфата связано с процессами гликолиза. В этом случае источником L-глицерол-3-фосфата может служить процесс восстановления 3-фосфодигидроксиацетонфосфата. Образовавшийся L-глицерол-3-фосфат ацилируется двумя молекулами КоА-производного жирной кислоты, образуя 1,2-диацил-3-фосфоглицерол, называемый фосфатидной кислотой:



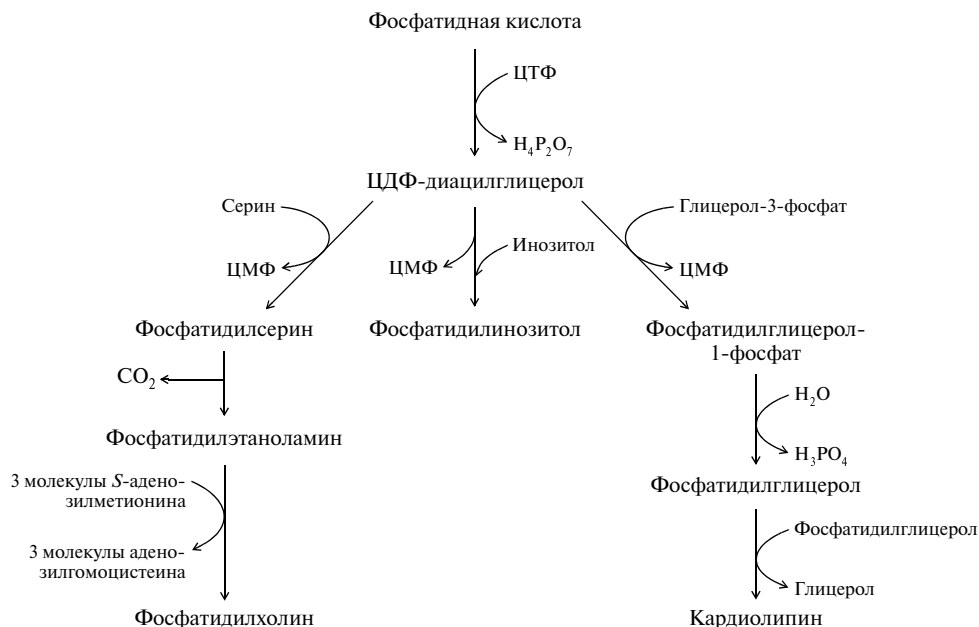
Биосинтез триацилглицеролов. Биосинтез из фосфатидной кислоты триацилглицеролов завершается дефосфорилированием и последующей эстерификацией образующего 1,2-диацилглицерола третьей молекулой КоА-производного жирной кислоты по приведенной ниже схеме:



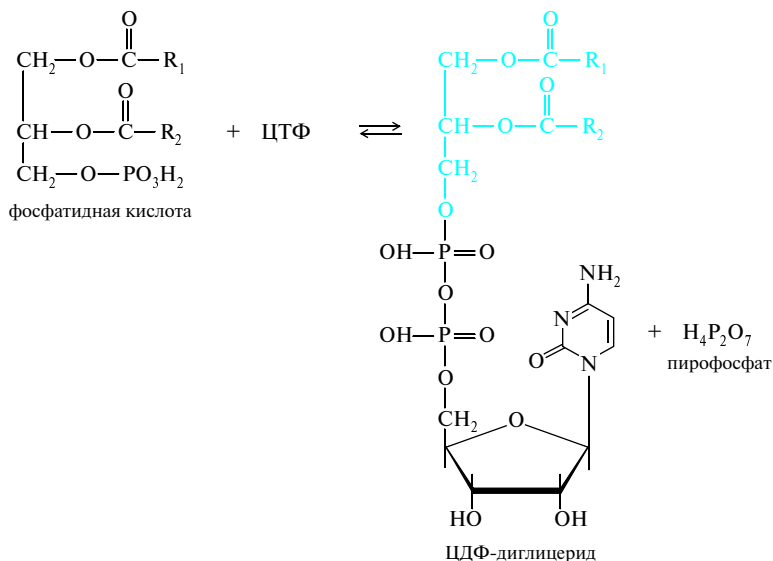
Синтез триацилглицеролов происходит преимущественно в печени и жировой ткани. Известно, что большинство ферментов, участвующих в биосинтезе этой группы липидов, локализовано в ЭПР. В слизистой оболочке кишечника триацилглицеролы синтезируются из жирных кислот, моно- и диацилглицеролов.

Биосинтез глицерофосфолипидов. Фосфатидная кислота является ключевым промежуточным соединением в синтезе практически всех групп фосфолипидов, входящих в состав биомембран. Особенностью этих биосинтетических процессов является участие цитидинтрифосфата (ЦТФ) в синтезе и переносе активированных интермедиатов для реакции конденсации либо с фосфатидной кислотой, либо с продуктом ее дефосфорилирования 1,2-диацилглицеролом.

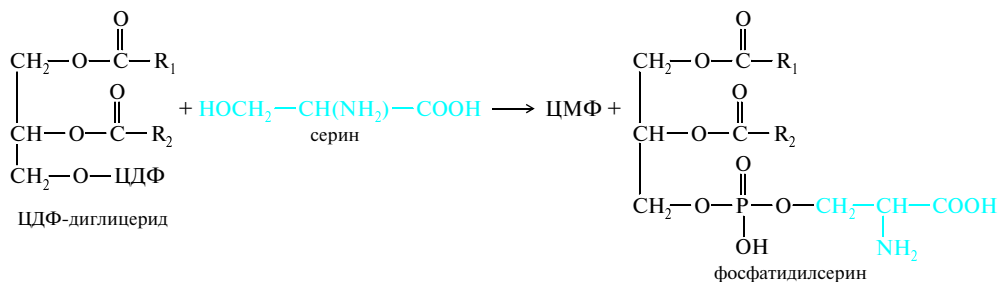
Ниже представлена обобщенная схема пути образования фосфолипидов, который связан с предварительным образованием ЦДФ-диацилглицерола и конденсацией его с полярными радикалами.



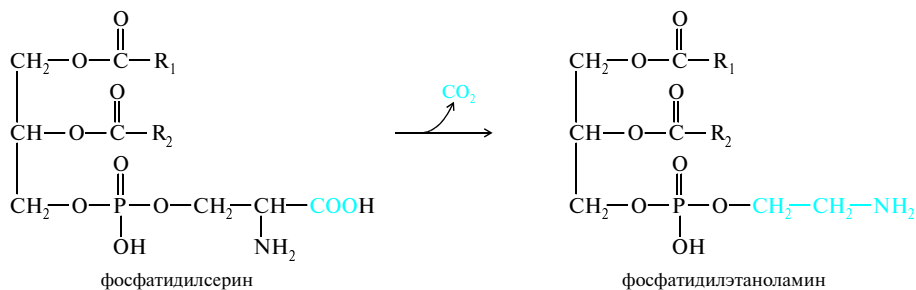
В качестве примера приведен механизм реакций синтеза наиболее распространенных мембранных липидов: фосфатидилхолина, фосфатидилэтанола и фосфатидилсерина. По этому пути осуществляется образование фосфолипидов у бактерий; у млекопитающих идет синтез главным образом фосфатидилинозита и кардиолипина. Вначале фосфатидная кислота в результате взаимодействия с ЦТФ превращается в цитидиндифосфат-диацилглицерол (ЦДФ-диглицерид):



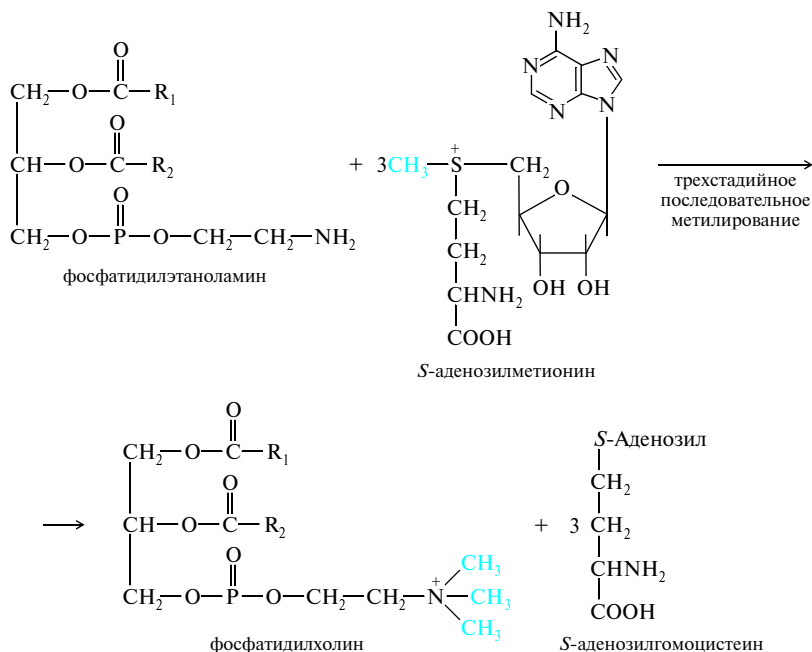
В последующей реакции цитидинмонофосфат вытесняется из молекулы ЦДФ-диглицерида серином, образуя фосфатидилсерин:



Фосфатидилсерин может декарбоксилироваться с образованием фосфатидилэтанолamina:



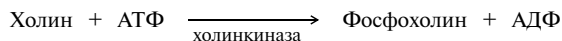
Фосфатидилэтанолaмин является предшественником фосфатидилхолина. В результате последовательного переноса трех метильных групп от трех молекул *S*-аденозилметионина (донора метильных групп) к аминогруппе остатка этаноламина образуется фосфатидилхолин:



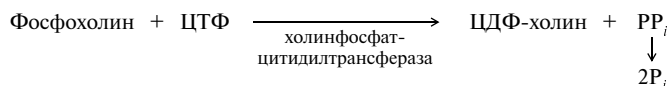
В животных тканях превалирует другой путь синтеза **фосфатидилхолина** и **фосфатидэтанолamina**, включающий активацию и взаимодействие с ЦТФ холина или этаноламина и последующий перенос фосфорилированных спиртов на 1,2-диацилглицерол.

В качестве примера приведена схема синтеза фосфатидилхолина. Двустадийный процесс активации холина:

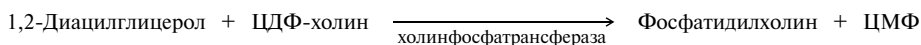
первая стадия:



вторая стадия:

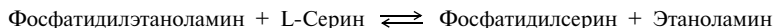


Заключительная реакция синтеза фосфатидилхолина включает реакцию переноса активированного холина (фосфохолин) на 1,2-диацилглицерол, образующийся под действием фосфатазы на фосфатидную кислоту:



Аналогичным образом осуществляется синтез фосфатидилэтанолamina. Последний, как было показано выше, является предшественником фосфатидилхолина для организмов, обладающих способностью к эндогенному синтезу холина.

Фосфатидилсерин в организме млекопитающих способен также синтезироваться в реакции обмена этаноламина, входящего в состав фосфатидилэтанолamina, на L-серин:

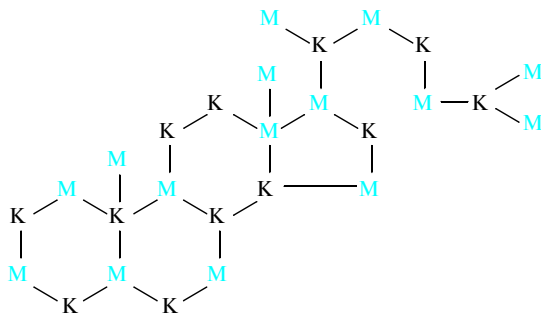


23.5.4. Биосинтез стероидов

Живые организмы вырабатывают большое количество стероидов, участвующих в самых разнообразных биохимических и физиологических процессах. В организме человека первое место среди стероидов занимает ненасыщенный спирт холестерол.

Холестерол играет роль ключевого промежуточного продукта в синтезе других стероидов, среди которых важное физиологическое значение имеют желчные кислоты, кортикостероиды, андрогены и эстрогены. Исследования механизма синтеза стероидов — одна из наиболее ярких страниц в биохимии XX столетия. В 40-х гг. К. Блох с сотрудниками показали, что меченый ацетат включается в холестерол как *in vitro*, так и в срезах ткани печени. Позже было установлено, что оба атома углерода ацетата участвуют в построении молекулы холестерола и что для биосинтеза холестерола $\text{C}_{27}\text{H}_{46}\text{O}$ необходимо 18 остатков ацетил-КоА. Установлено, что 12 атомов углерода холестерола происходят из карбонильных атомов углерода ацетильной группы, остальные 15 — из метильных.

Ниже изображена молекула холестерина, в которой атомы углерода, происходящие из метильной группы ацетата, обозначены буквой М, а атомы, происходящие из карбоксильной группы, буквой К:

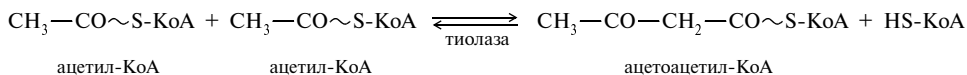


Последовательность реакций превращения ацетил-КоА→холестерол включает три ключевые стадии:

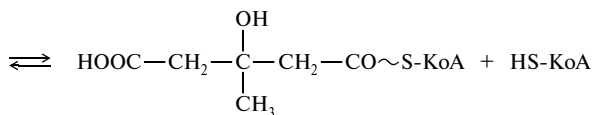
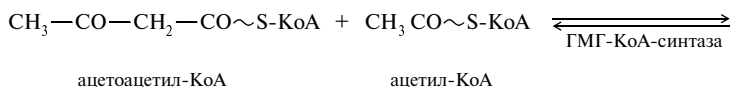
- синтез мевалоната (C_6);
- синтез сквалена из мевалоната (C_{30});
- циклизация сквалена и образование холестерина (C_{27}).

Биосинтез холестерина происходит главным образом в печени (~50% от общего количества), кишечнике (~15%) и коже. Этот процесс идет в цитозоле и ЭПР эукариотических клеток.

Синтез мевалоната. Начальной реакцией этой стадии является образование из двух молекул ацетил-КоА ацетоацетил-КоА за счет обращения тиолазной реакции:



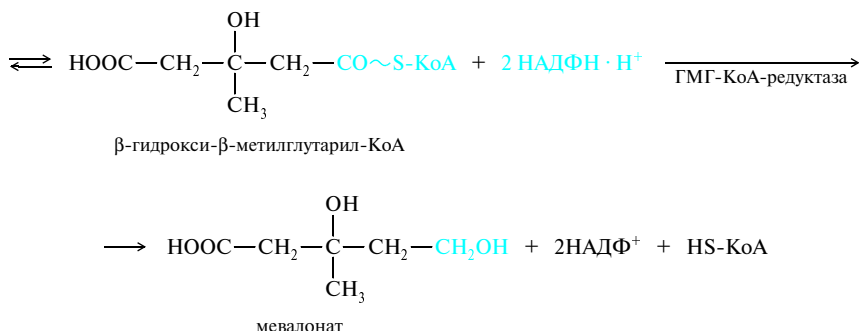
Реакция катализируется ферментом ацетил-КоА-ацетилтрансферазой (тиолазой). Затем ацетоацетил-КоА взаимодействует еще с одной молекулой ацетил-КоА. Реакция протекает при действии фермента гидроксиметилглутарил-КоА-синтазы (ГМГ-КоА-синтаза):



β-гидрокси-β-метилглутарил-КоА

Образовавшийся β-гидрокси-β-метилглутарил-КоА под действием фермента гидроксиметилглутарил-КоА-редуктазы (ГМГ-КоА-редуктаза), содер-

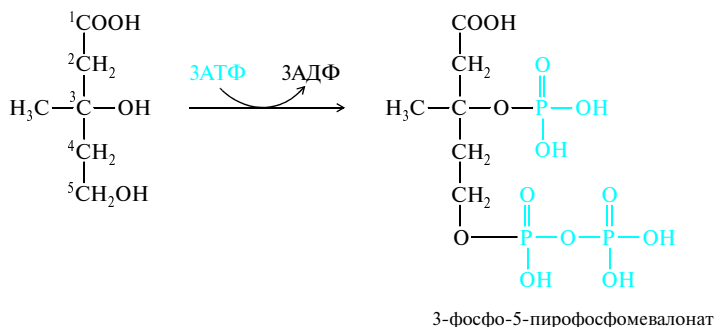
жащего в качестве кофермента $\text{НАДФН} \cdot \text{H}^+$, в результате восстановления карбоксильной группы и отщепления HS-KoA превращается в мевалонат:



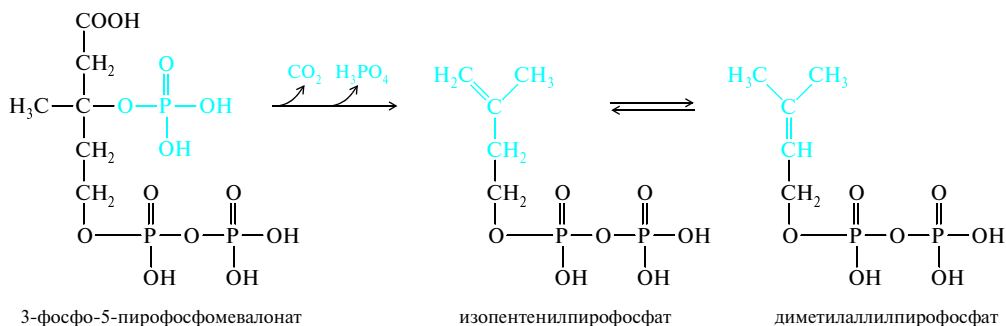
ГМГ-KoA-редуктазная реакция — первая практически необратимая реакция в цепи биосинтеза холестерина, протекает она со значительным уменьшением свободной энергии (около 33,6 кДж). Фермент ГМГ-KoA-редуктаза является ключевым регуляторным ферментом биосинтеза холестерина в целом и ингибируется в печени избытком холестерина по принципу обратной связи на уровне экспрессии гена, кодирующего синтез этого фермента, т. е. путем изменения его количества.

Активность ГМГ-KoA-редуктазы регулируется также гормонально путем фосфорилирования — дефосфорилирования. Фосфорилированная форма редуктазы неактивна, а следовательно, инсулин ее активирует, а глюкагон переводит в неактивную форму. Глюкокортикоиды ингибируют синтез редуктазы на уровне транскрипции гена этого фермента. Следует отметить, что синтез редуктазы в течение суток значительно варьирует, его максимум приходится на полночь, а минимум — на утренние часы.

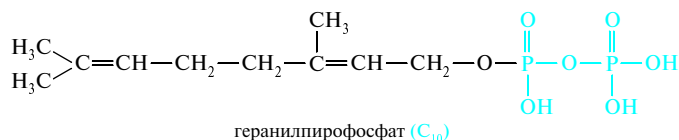
Синтез сквалена из мевалоната. Метаболический путь превращения мевалоната начинается с его активации под действием трех АТФ-зависимых киназ. Вначале мевалоновая кислота фосфорилируется АТФ по гидроксигруппе в положении 5, в результате чего образуется 5-фосфомевалонат, который затем при затрате еще одной молекулы АТФ превращается в 5-пирофосфомевалонат. Затем 5-пирофосфомевалонат в результате последующего фосфорилирования гидроксигруппы при третьем углеродном атоме превращается в нестабильный промежуточный продукт 3-фосфо-5-пирофосфомевалонат:



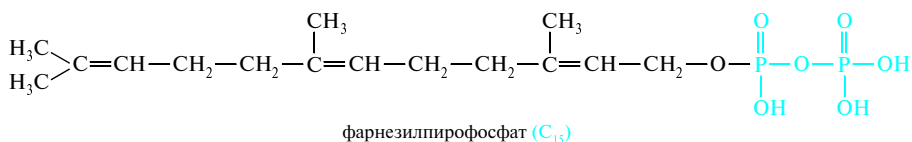
Далее 3-фосфо-5-пирофосфомевалонат в результате декарбоксилирования и дефосфорилирования превращается в изопентенилпирофосфат, который обратимо изомеризуется в диметилаллилпирофосфат:



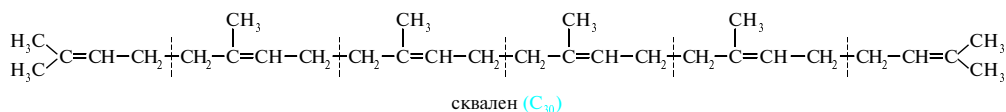
Образование сквалена из изопреноидных пирофосфатов протекает через ряд последовательных конденсаций. Конденсация изопентенилпирофосфата с диметилаллилпирофосфатом дает монотерпен — геранилпирофосфат, содержащий 10 углеродных атомов:



Геранилпирофосфат, в свою очередь, конденсируется со следующей молекулой изопентенилпирофосфата, что приводит к образованию сесквитерпена — фарнезилпирофосфата:



Две молекулы фарнезилпирофосфата, конденсируясь друг с другом, образуют дегидросквален, который затем восстанавливается до **сквалена**:



Сквален представляет собой углеводород с открытой цепью, состоящий из шести изопреноидных остатков. В растениях и во многих микроорганизмах существует ответвление от метаболического потока на стадии образования фарнезилпирофосфата. Вместо самоконденсации происходит конденсация с еще одной молекулой изопентенилпирофосфата, образуется промежуточный углеводород C₂₀, который способен к самоконденсации с образованием



Рис. 23.17. Схема превращения изопентенилпирофосфата

C_{40} -углеродного скелета — предшественника всех каротиноидов и ксантофилов (рис. 23.17).

Циклизация сквалена и образование холестерина. Это сложный, не до конца изученный процесс, являющийся частью метаболического превращения в реакциях синтеза холестерина. В начале сквален подвергается гидроксилированию с участием второго и третьего углеродных атомов, затем происходит стереоспецифическая миграция двух метильных групп и ряд электронных сдвигов. Все это приводит к тому, что углеродный скелет сквалена претерпевает согласованную внутримолекулярную циклизацию с образованием четырех конденсированных колец (циклопентанпергидрофенантроновая структура). Первый продукт циклизации называется **ланостеролом**.

Дальнейший процесс превращения ланостерола в холестерол включает ряд реакций, сопровождающихся отщеплением трех метильных групп, насыщением двойной связи в боковой цепи и перемещением двойной связи в кольцо В:



Таким образом, следует отметить, что изопреноидная структура дает начало не только стероидам, но и целому ряду других важных природных продуктов. Обобщенная схема, характеризующая участие изопентенилпирофосфата

в метаболизме, представлена на рис. 23.17. Многократная конденсация изо-пентенильной единицы приводит к образованию поли-*цис*-изопрена (каучу-ка). В противоположность этому при взаимодействии *транс*-фарнезилпиро-фосфата с изопреноидными единицами получается поли-*транс*-изопрен (гут-таперча) — материал, лишенный эластических свойств.

23.6. Регуляция липидного обмена

Регуляция метаболизма липидов представляет интерес прежде всего в контексте регуляции энергетического потока и пути интеграции его с другими источниками энергии в тканях. Внутриклеточная регуляция процессов окис-ления и синтеза жирных кислот организована таким образом, что обеспечи-вает первоочередное использование в качестве энергетических субстратов угле-водов и лишь по мере их истощения начинается окисление жирных кислот (рис. 23.18).

Как видно из схемы, приведенной на рис. 23.18, если в клетки печени по-ступает большое количество глюкозы, в результате пируватдегидрогеназной реакции она превращается в пируват, карбоксилирование которого приводит к образованию оксалоацетата. Увеличение концентрации последнего усиливает транспорт ацетил-КоА с помощью цитратного механизма из матрикса мито-хондрий в цитоплазму. Цитоплазматический цитрат активирует **ацетил-КоА-**

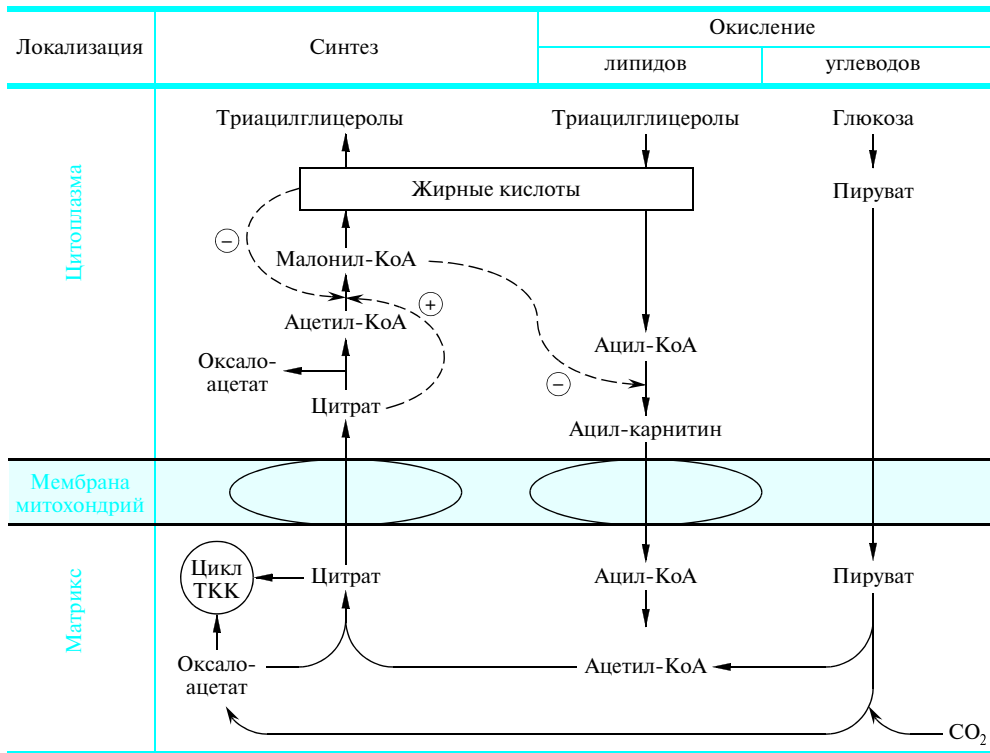


Рис. 23.18. Схема регуляции окисления и синтеза жирных кислот: пунктиром показаны положительные (+) и отрицательные (–) эффекты

карбоксилазу, что приводит к синтезу малонил-КоА, а следовательно, инициируется синтез жирных кислот. В свою очередь, малонил-КоА ингибирует **карнитин-ацилтрансферазу** — фермент, обеспечивающий транспорт ацетил-КоА в матрикс митохондрии, где происходит его окисление. Следовательно, активация биосинтеза жирных кислот автоматически исключает их распад. Если же концентрация глюкозы снижается, а соответственно уменьшается концентрация и оксалоацетата, создаются условия, открывающие путь для жирных кислот в митохондрии, где начинается их окисление, обеспечивающее потребности клетки в энергии.

Особую роль в регуляции метаболизма липидов играют гормоны. Следует обратить внимание на то, что жировой обмен регулируется практически теми же гормонами, что и обмен углеводов — адреналин и норадреналин, глюкагон, глюкокортикоиды, гормоны передней доли гипофиза (соматотропный гормон и АКТГ), а также тироксин и половые гормоны. Адреналин и норадреналин активируют липолиз в жировой ткани, в результате усиливается мобилизация жирных кислот из жировых депо и содержание незэстерифицированных жирных кислот в плазме повышается. Как уже отмечалось (гл. 23.3), эти гормоны через цАМФ активируют соответствующую протеинкиназу, которая способствует фосфорилированию липазы, т. е. образованию ее активной формы.

Кроме этого, известно, что глюкагон и адреналин через цАМФ-зависимую протеинкиназу катализируют фосфорилирование ацетил-КоА-карбоксилазы и переводят ее в неактивную форму, тем самым ингибируя процессы липогенеза. Что касается механизма регуляторного действия СТГ и АКТГ, также активирующих процессы липолиза, то первичный механизм их действия связан, по-видимому, с индукцией синтеза аденилатциклазы и гормончувствительной липазы. Здесь уместно напомнить, что если адреналин стимулирует липолиз почти мгновенно, то действие гормонов гипофиза на липолиз характеризуется наличием достаточно продолжительной лаг-фазы.

Инсулин оказывает противоположное адреналину и глюкагону действие на липолиз и мобилизацию жирных кислот. В настоящее время установлено, что инсулин стимулирует фосфодиэстеразную активность в жировой ткани и таким образом играет важную роль в поддержании стационарного уровня цАМФ в тканях, а следовательно, и образовании активной формы липазы. Инсулин оказывает стимулирующее действие на процессы биосинтеза жирных кислот и триацилглицеролов, окисление глюкозы и образование пирувата. Все эти эффекты зависят от концентрации глюкозы и могут быть объяснены способностью инсулина увеличивать поступление глюкозы в клетки жировой ткани.

Другие гормоны, в частности гормоны щитовидной железы, половые гормоны, сами по себе не оказывают прямого влияния на липолиз, действуют опосредованно, чаще всего как факторы, стимулирующие действие других гормонов.

23.7. Нарушение липидного обмена

Причины, приводящие к нарушениям липидного обмена, можно разделить на две группы.

- Первая группа расстройств связана с нарушением процессов переваривания и всасывания липидов в желудочно-кишечном тракте, например недостаточное поступление панкреатической липазы и желчи в кишечник может

приводить к этому виду расстройств. Такие заболевания, как хронический панкреатит, опухоль поджелудочной железы, нарушают поступление липазы в кишечник. Недостаток поступления желчи в кишечник имеет место при хроническом холецистите, опухолях и камнях протока желчного пузыря. Нарушения липидного обмена могут быть связаны с заболеваниями желудочно-кишечного тракта (например, при гиповитаминозах, энтеритах), когда процессы всасывания моноацилглицеринов и жирных кислот полностью невозможны из-за повреждения эндотелия кишечника.

- Вторая группа расстройств включает нарушения липидного обмена в процессе синтеза и распада липидов в тканях организма человека. Увеличение общих липидов в сыворотке крови носит название *гиперлипемии*. В норме содержание липидов в плазме крови следующее: общие липиды — 4—8 г/л; триацилглицеролы — 0,5—2,1 ммоль/л; фосфолипиды общие — 2,0—3,5 ммоль/л; холестерол общий — 4,0—10,0 ммоль/л. Часто гиперлипемия является следствием поражения печени, которая играет важную роль в обмене липидов. Нарастание общих липидов в сыворотке крови наблюдается при острых и хронических гепатитах, при механических и паренхиматозных желтухах, при циррозе печени.

Выраженная гиперлипемия развивается при сахарном диабете. Обычно она сопровождается ацидозом. Недостаток инсулина приводит к снижению фосфодиэстеразной активности, что в конечном счете способствует активации липазы и усилению липолиза в жировых депо. Гиперлипемия при сахарном диабете носит «транспортный» характер, так как избыточный распад жиров на периферии приводит к повышенному транспорту жирных кислот в печень, где происходит синтез липидов. Как отмечалось ранее, при сахарном диабете и голодании в печени образуется необычно большое количество кетоновых тел (ацетоуксусная и β -гидроксимасляная кислоты), которые с током крови транспортируются из печени к периферическим тканям. Хотя периферические ткани при диабете и голодании сохраняют способность использовать кетоновые тела в качестве энергетического материала, однако ввиду необычно высокой их концентрации в крови органы не справляются с их окислением и, как следствие, возникает состояние патологического кетоза, т. е. накопление кетоновых тел в организме. Кетоз сопровождается кетонемией и кетонурией — повышением содержания кетоновых тел в крови и выделением их с мочой. Возрастание концентрации триацилглицеролов в плазме крови отмечается также при беременности, нефротическом синдроме, ряде заболеваний печени. Гиперлипемия, как правило, сопровождается увеличением содержания в плазме крови фосфолипидов, изменением соотношения между фосфолипидами и холестерином, составляющем в норме 1,5:1. Снижение содержания фосфолипидов в плазме крови наблюдается при остром тяжелом гепатите, жировой дистрофии, циррозе печени и некоторых других заболеваниях.

Атеросклероз относится к широко распространенным заболеваниям, которые связывают с развитием в организме *гиперлипопротеинемии* и сопровождающей ее *гиперхолестеринемии*. Установлено, что при атеросклерозе в плазме крови повышается содержание фракции ЛПНП, а чаще всего и фракции ЛПОНП, которые относят к *атерогенным фракциям*, в то время как снижается содержание липопротеинов высокой плотности, которые рассматриваются как антиатерогенные.

Как было отмечено, фракция ЛПНП транспортирует холестерол, синтезированный в печени или клетках кишечного эпителия, в периферические ткани, а фракция ЛПВП осуществляет так называемый обратный транспорт, т. е. удаляет из них холестерол. Как известно, атеросклероз характеризуется отложением холестерола в стенках сосудов, на месте которых со временем образуются утолщения — *атеросклеротические бляшки*, вокруг которых развивается соединительная ткань (склероз), откладываются соли кальция. Сосуды становятся жесткими, теряют эластичность, ухудшается кровоснабжение тканей, а на месте бляшек могут возникать тромбы. Согласно аутоиммунной теории патогенеза атеросклероза (А. Н. Климов с соавторами) ЛПНП и ЛПОНП в кровяном русле подвергаются перекисной модификации, в результате которой модифицированные липопротеины приобретают аутоантигенные свойства, к ним вырабатываются антитела и образуются аутоиммунные комплексы липопротеины — антитела. Эти чужеродные для межклеточного вещества комплексы поглощаются макрофагами и другими фагоцитирующими клетками, откладываются в интиму сосудов и в конечном счете это приводит к образованию атеросклеротической бляшки и всем последствиям атеросклеротического поражения артерий.

Антиатерогенная фракция плазмы крови — ЛПВП способна извлекать холестерол из клеточных мембран и фракции ЛПНП за счет двухстороннего обмена и осуществлять их обратный транспорт — от периферических тканей в печень, где холестерол окисляется в желчные кислоты.

Методы профилактики и лечения атеросклероза. Малохолестериновая диета, разработка лекарственных средств, увеличивающих экскрецию холестерола и ингибирующие его синтез, прямое удаление холестерола из крови методом гемодиализа и др. Исследованиями последних лет высокий уровень холестерола в крови часто объясняют нарушением биохимических процессов транспорта холестерола внутрь клеток за счет дефектов мембранных рецепторов, связывающих липопротеиновые комплексы. Возможно, в будущем лечение будет направлено на повышение эффективности функционирования дефектных рецепторов или поиски механизмов транспорта холестерола через клеточную мембрану каким-то другим способом.

Глава 24

ОБМЕН БЕЛКОВ И АМИНОКИСЛОТ

24.1. Общая характеристика

Белки являются основными функциональными молекулами всех видов живых организмов. Почти любая работа в клетке — химическая, сократительная, рецепторная, транспортная, иммунная и многие другие выполняются белками. В отличие от углеводов и липидов белки и составляющие их аминокислоты не способны резервироваться в организме.

С помощью изотопных методов было установлено, что белковый обмен в организме человека характеризуется высокой скоростью.

Ежесуточно в организме взрослого человека обновляется $\sim 1\text{--}2\%$ белков от их общего количества, и соответственно такое же количество белков должно быть синтезировано в течение суток. Примерно $\frac{2}{3}$ аминокислот, образовавшихся в процессе распада белков, вновь используются для их синтеза, источником $\sim \frac{1}{3}$ аминокислот являются белки пищи.

Кроме синтеза белков, аминокислоты, поступившие в организм с пищей, расходуются на синтез ряда азотсодержащих компонентов, в том числе нейромедиаторов, гормонов, а неиспользованные подвергаются расщеплению. В процессе деградации азот аминокислот включается в молекулу мочевины и выводится из организма с мочой, а их углеродный скелет в зависимости от его строения либо превращается в липиды и углеводы, либо окисляется в соответствии с энергетическими потребностями организма.

Таким образом, через аминокислоты белковый обмен тесно интегрирован с обменом углеводов, липидов, нуклеиновых кислот и отличается чрезвычайной разветвленностью (рис. 24.1).

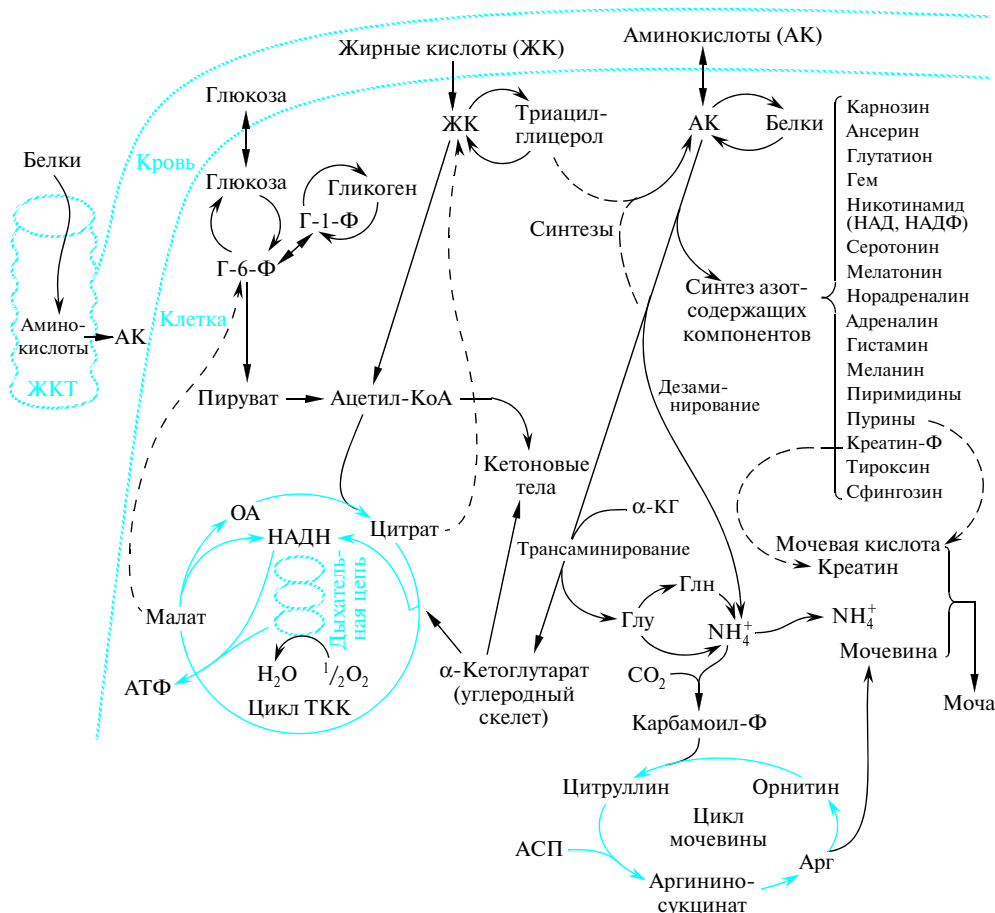


Рис. 24.1. Общая схема белкового обмена и его интеграция с обменом углеводов и липидов:
 ОА — оксалоацетат; α -КГ — α -кетоглутарат; Г-1-Ф — глюкозо-1-фосфат;
 Г-6-Ф — глюкозо-6-фосфат

Если учесть, что все ферменты имеют белковую природу, а многие из них выполняют не только каталитическую, но и регуляторную функцию, а также то, что ряд гормонов являются белками или синтезируются из аминокислот, становится очевидным, что именно белки и белковый обмен координируют, регулируют и интегрируют многообразие химических превращений в организме в целом.

Норма белков в питании. Суточная потребность человека в белках составляет 80—100 г при трате общего количества энергии в пределах 10 000 кДж, для людей физического труда — 120—150 г. Особенно чувствительны к белковому голоданию нервная и эндокринная системы, и в первую очередь кора головного мозга.

Суточные потребности в белке резко возрастают при беременности, а также при некоторых заболеваниях, связанных с выделением белка с мочой, экссудатами, асцитной жидкостью и т. д.

Состояние белкового обмена в организме зависит не только от количества принимаемого с пищей белка, но и от его качественного состава, определяющего биологическую ценность пищевых белков.

Биологическая ценность белков. Значение пищевых белков для организма определяется главным образом двумя факторами: 1) близостью аминокислотного состава пищевого белка к аминокислотному составу белков тела; 2) содержанием в белках незаменимых аминокислот, которые животные и человек, в отличие от растений и микроорганизмов, не могут синтезировать. Из 20 аминокислот, входящих в состав белков, только 10 способны синтезироваться в организме — это *заменимые* аминокислоты, остальные 10 аминокислот являются *незаменимыми* (табл. 24.1), т. е. они должны поступать в организм с пищей.

Как видно из табл. 24.1, аргинин и гистидин относятся к полунезаменимым, т. е. они могут синтезироваться в организме, но в количестве, недостаточном для сохранения нормальной жизнедеятельности человека. Последствия недостаточности какой-либо незаменимой аминокислоты приводят к остановке роста и развитию клинической картины, напоминающей авитаминоз.

Биологическая ценность пищевого белка зависит, как было указано выше, от степени его усвоения организмом, т. е. от соответствия между аминокислотным составом потребляемого белка и аминокислотным составом белков тела. Для человека, например, белки мяса, молока, яиц биологически более ценны, поскольку их аминокислотный состав ближе к аминокислотному составу органов и тканей человека. Поэтому в суточном рационе человека примерно поло-

Т а б л и ц а 24.1. Заменимые и незаменимые аминокислоты

| Заменимые | Незаменимые | Заменимые | Незаменимые |
|-----------------------|-------------|----------------------|-------------|
| Аланин | Аргинин* | Глутаминовая кислота | Лизин |
| Аспарагин | Валин | Пролин | Метионин |
| Аспарагиновая кислота | Гистидин* | Серин | Треонин |
| Глицин | Изолейцин | Тирозин | Триптофан |
| Глутамин | Лейцин | Цистеин (цистин) | Фенилаланин |

* Полунезаменимые аминокислоты.

вина белков должна быть животного происхождения. Однако следует помнить, что растительные белки содержат полный набор аминокислот, хотя и не сколько в другом соотношении.

Поскольку основная масса азота организма представлена азотом аминокислот, принято считать, что для оценки состояния обмена белков достаточно точным критерием может быть определение *азотистого баланса* — разницы между введением с пищей азота и выведением его в виде конечных продуктов, выраженных в одинаковых единицах (г/сут).

Различают положительный, отрицательный азотистый баланс и азотистое равновесие.

Если количество выводимого из организма азота меньше количества азота, вводимого с пищей, — это *положительный азотистый баланс*. Такое состояние характерно для молодого, растущего организма, а также для женщин во время беременности. Оно свидетельствует о том, что синтетические процессы преобладают над процессами распада белков.

При *отрицательном азотистом балансе* количество выделяемого азота превышает количество азота, поступающего в организм в течение суток. Это состояние встречается при голодании, белковой недостаточности, при тяжелых заболеваниях, когда происходит интенсивный распад белков у больных, получающих полноценную белковую пищу, а также при старении.

В состоянии *азотистого равновесия* количество азота, выделяемое из организма, равно его количеству, поступающему с пищей. В этом случае азотистый баланс равен нулю. Состояние азотистого равновесия характерно для здорового взрослого человека, находящегося на полноценной диете с нормальным суточным содержанием белка.

24.2. Переваривание белков

Белки, поступившие в организм с пищей, в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ) расщепляются до аминокислот при действии группы протеолитических ферментов — *пептидгидролаз* по современной номенклатуре; широко известно их тривиальное название — *протеазы*, или *протеиназы*. Эти ферменты катализируют гидролитическое расщепление пептидной связи в белках, представляющее собой экзэргонический процесс, при котором ΔG имеет отрицательное значение и полностью сдвигает равновесие реакции в сторону образования продуктов реакции. Пептидгидролазы относятся по классификации ферментов к классу гидролаз, их шифр КФ 3.4.1—3.4.4.

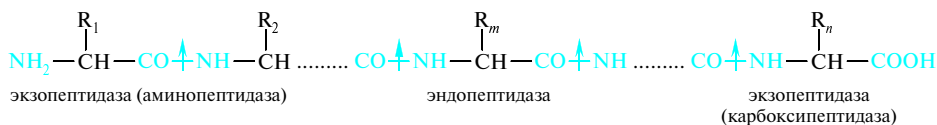
Свойства пептидгидролаз. Протеолитические ферменты животных и человека изучены достаточно хорошо, в меньшей степени исследованы растительные протеазы.

Для протеолитических ферментов характерен ряд общих свойств и особенностей.

Ферменты, расщепляющие белки, обладают относительной субстратной специфичностью, которая определяется:

- длиной полипептидной цепи;
- структурой радикалов аминокислотных остатков, образующих гидролизуюмую пептидную связь;
- положением связи в полипептиде.

Внутренние пептидные связи расщепляются *эндопептидазами*, концевые — *экзопептидазами*:



Известно, что скорость гидролиза протеазами денатурированных белков выше, чем нативных, поскольку при денатурации белков (например, в желудке под действием соляной кислоты при $\text{pH} \sim 1,5-2,0$) становятся доступными для протеолиза внутренние участки полипептидной цепи, ранее плотно упакованные в компактную глобулу.

Все протеолитические ферменты синтезируются в виде неактивных предшественников, называемых *зимогенами* или *проферментами*, и таким образом клетки защищены от контакта с активной формой фермента и аутолиза. Превращение зимогена в активный фермент происходит путем *необратимой ковалентной модификации* зимогена за счет *локального протеолиза*, т. е. разрыва одной или нескольких пептидных связей и отщепления ограниченного числа аминокислотных остатков. Это вызывает конформационные изменения в полипептиде, достаточные для формирования пространственной структуры активного центра фермента.

Общая схема деградации белков пищи протеолитическими ферментами в пищеварительном тракте представлена на рис. 24.2.

Расщепление пищевых белков начинается с действия протеолитического фермента желудка — **пепсина**. Специализированные (периетальные) клетки эпителия желудка секретируют соляную кислоту, создавая в желудке кислую среду ($\text{pH} \sim 1,5-2,0$). Этот фактор имеет важное значение в переваривании белков: денатурирует белки пищи, оказывает бактерицидное действие, убивая попадающие с пищей микроорганизмы, является иницирующим фактором активации пепсиногена и превращения его в активную форму. Пепсиноген превращается в пепсин после отщепления от него 42 аминокислотных остатков, вначале под действием соляной кислоты (медленно), а затем аутокатали-

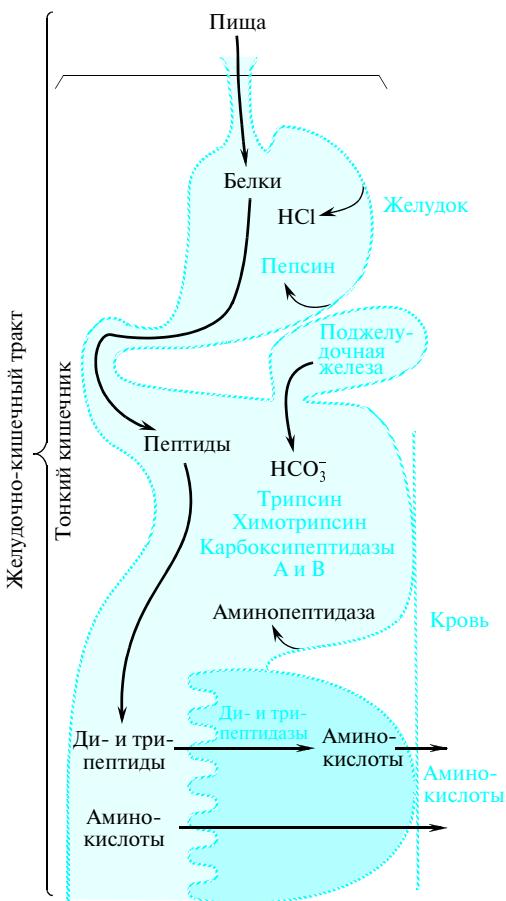


Рис. 24.2. Схема последовательной деградации пищевых белков в желудочно-кишечном тракте

тически (очень быстро). Молекулярная масса пепсиногена 40,4 kDa, пепсина — 32,7 kDa. Пепсин является эндонуклеазой, и его действие приводит к накоплению смеси пептидов; наиболее активно он гидролизует пептидные связи, NH-группа которых принадлежит ароматическим аминокислотам — тирозину, фенилаланину, триптофану. В слизистой желудка человека выделен также протеолитический фермент **гастринсин**, сходный по свойствам с пепсином.

Секреция соляной кислоты активируется гистамином и гормонами **гастринами**, их образование угнетается гормоном слизистой двенадцатиперстной кишки — **секретином** и гормоном гипофиза — **соматостатином**.

Дальнейшее переваривание высокомолекулярных пептидов и белков, не расщепленных пепсином, происходит тремя эндопептидазами, вырабатываемыми поджелудочной железой в виде предшественников — трипсиногена, химоотрипсиногена и проэластазы.

Процесс превращения трипсиногена в трипсин происходит под действием фермента, вырабатываемого в клетках слизистой оболочки кишечника — **энтеропептидазы**, а затем аутокаталитически под влиянием трипсина и сводится к отщеплению с N-конца полипептида шести аминокислотных остатков (рис. 24.3).

Трипсин обладает сравнительно узкой субстратной специфичностью, разрывая пептидные связи, в образовании которых участвуют карбоксильные группы лизина и аргинина, т. е. основных аминокислот.

В поджелудочной железе синтезируется ряд **химотрипсинов** (α -, β -, π -химотрипсины) из двух предшественников — химотрипсиногена А и химотрипсиногена В. Активируются зимогены в кишечнике под действием активного трипсина и химотрипсина.

Химотрипсин обладает более широкой субстратной специфичностью, чем трипсин. Он катализирует гидролиз не только пептидов, но и эфиров, амидов и других ацилпроизводных, хотя наибольшую активность он проявляет по отношению к пептидным связям, в образовании которых принимают участие карбоксильные группы ароматических аминокислот — фенилаланина, тирозина и триптофана.

В поджелудочной железе синтезируется еще одна эндопептидаза — эластаза. Название фермент получил от субстрата эластина, который он гидролизует. Эластин богат глицином и аланином, содержится в соединительной ткани. Эластаза обладает широким спектром действия, гидролизует субстраты, не расщепляемые трипсином и химотрипсином.

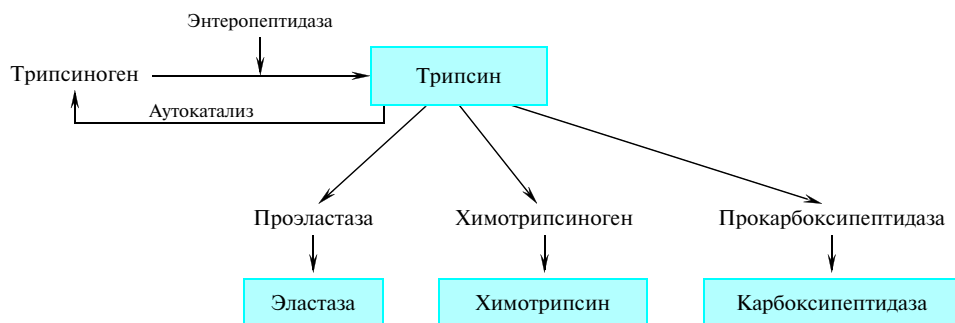


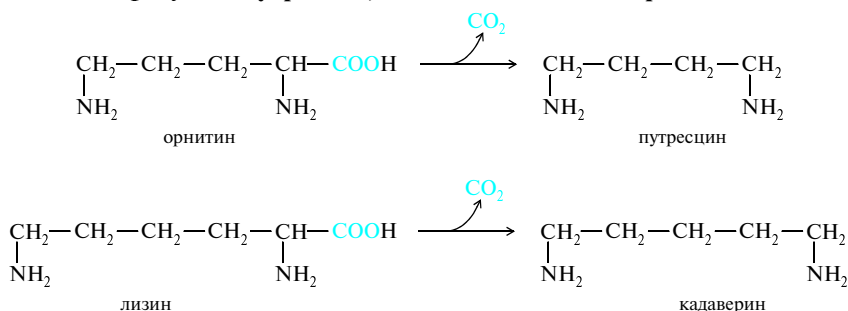
Рис. 24.3. Активация протеиназ в кишечнике

В переваривании нативных белков и продуктов их гидролиза в тонком кишечнике активное участие принимают экзопептидазы. Карбоксипептидазы синтезируются в неактивном состоянии в поджелудочной железе и активируются трипсином в кишечнике. Карбоксипептидаза А гидролизует пептидные связи С-концевых аминокислот, образованные преимущественно ароматическими аминокислотами (фенилаланин, тирозин, триптофан), а карбоксипептидаза В — связи, в образовании которых участвуют С-концевые лизин и аргинин.

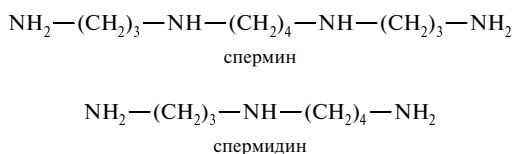
Аминопептидазы вырабатываются в клетках слизистой оболочки кишечника (энтероцитах) сразу в активной форме. Из кишечного сока выделены два типа аминопептидаз, различающиеся по субстратной специфичности — аланинаминопептидаза и лейцинаминопептидаза, первая из которых гидролизует пептидную связь, образованную N-концевым аланином, а вторая способна гидролизовать практически любую пептидную связь, образованную N-концевой аминокислотой.

Процесс переваривания пептидов, их расщепление до свободных аминокислот в тонком кишечнике завершают три- и дипептидазы.

При избыточном потреблении животных жиров и ряде патологий в нижних отделах кишечника возможно развитие гнилостных и бродильных процессов. При действии микрофлоры кишечника происходят превращения аминокислот, получившие название *гниения белков в кишечнике*. Так, в процессе глубокого распада серосодержащих аминокислот (цистина, цистеина и метионина) в кишечнике образуются сероводород H_2S и меркаптан CH_3SH . Диаминокислоты, в частности орнитин и лизин, подвергаются процессу декарбоксилирования с образованием *диаминов*, иногда называемых трупными ядами, поскольку они образуются также при гнилостном разложении трупов. Из орнитина образуется **путресцин**, а из лизина — **кадаверин**:

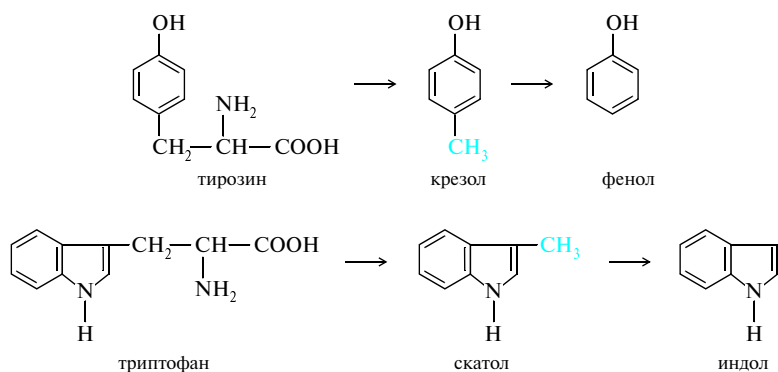


Следует отметить, что сравнительно недавно в животных тканях был открыт фермент, катализирующий декарбоксилирование орнитина. Путресцин (продукт этой реакции) наряду с S-аденозилгомоцистеином (продуктом декарбоксилирования S-аденизилметионина) участвует в синтезе биологически важных полиаминов — **спермина** и **спермидина**:



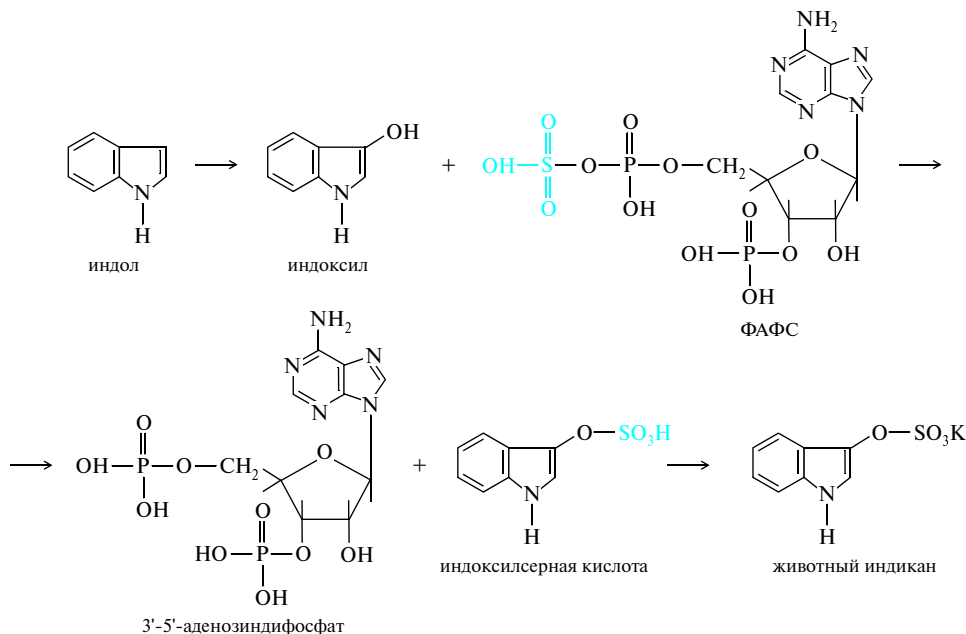
Полиамины, в том числе и диамин путресцин, содержатся практически во всех тканях и входят в основном в состав ядерного хроматина. Известно их участие в регуляции клеточного деления, однако молекулярные механизмы их действия остаются не до конца выясненными.

Из фенилаланина, тирозина и триптофана при бактериальном декарбоксилировании образуются соответствующие биогенные амины: фенилэтиламин, *n*-гидроксифенилэтиламин (или тирамин) и индолилэтиламин (триптамин); при постепенном разрушении боковых цепей циклических аминокислот, в частности тирозина и триптофана, образуются ядовитые продукты обмена: соответственно **крезол** и **фенол**, **скатол** и **индол**:



Индол и скатол обезвреживаются в печени, предварительно окисляясь соответственно в индоксил и скатоксил, выводятся из организма в виде парных соединений, вступая в реакцию конъюгации с 3-фосфоаденозин-5-фосфосульфатом (ФАФС) или уридиндифосфатглюкуроновой кислотой (УДФГК).

В качестве примера приведена реакция детоксикации индола, которая заканчивается образованием животного индикана, выводимого с мочой:



24.3. Транспорт аминокислот через клеточные мембраны

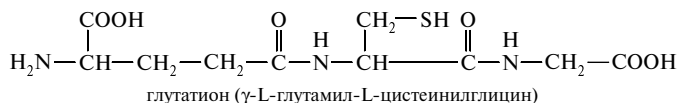
В результате расщепления белков в ЖКТ под действием протеолитических ферментов белки теряют свою видовую, тканевую специфичность и всасываются в кровь в тонком кишечнике в виде аминокислот. Всасывание аминокислот, освобождающихся из белков пищи, происходит очень быстро. Известно, например, что через 15 мин после приема меченого ^{15}N -дрожжевого белка ^{15}N -аминокислоты обнаруживаются в крови, а их максимальная концентрация достигается через 30—50 мин после приема белка.

Транспорт аминокислот через клеточные мембраны осуществляется в основном по механизму вторично-активного транспорта. В этом случае система активного транспорта приводится в действие не путем прямого гидролиза АТФ, а за счет энергии, запасенной в ионных градиентах. Перенос аминокислот внутрь клеток осуществляется чаще всего как симпорт аминокислот и ионов натрия, подобно механизму симпорта сахаров и ионов натрия. Энергия АТФ затрачивается на выкачивание Na^+/K^+ -АТФ-азой ионов натрия из клетки, создания электрохимического градиента на мембране, энергия которого опосредованно обеспечивает транспорт аминокислот в клетку. Известен ряд сходных по строению транспортных систем (транслоказ), специфичных к транспорту аминокислот: нейтральных аминокислот с небольшой боковой цепью, нейтральных аминокислот с объемным боковым радикалом кислых аминокислот, основных аминокислот, пролина. Эти системы, связывая ионы натрия, индуцируют переход белка-переносчика в состояние с сильно увеличенным сродством к аминокислоте; Na^+ стремится к транспорту в клетку по градиенту концентрации и одновременно переносит внутрь клетки молекулы аминокислоты. Чем выше градиент Na^+ , тем выше скорость всасывания аминокислот, которые конкурируют друг с другом за соответствующие участки связывания в транслоказе.

Известны другие механизмы активного транспорта аминокислот через плазматическую мембрану. Так, А. Майстером предложена оригинальная схема трансмембранного переноса аминокислот, получившая название *γ -глутамильного цикла*.

24.3.1. Транспорт аминокислот с помощью γ -глутамильного цикла

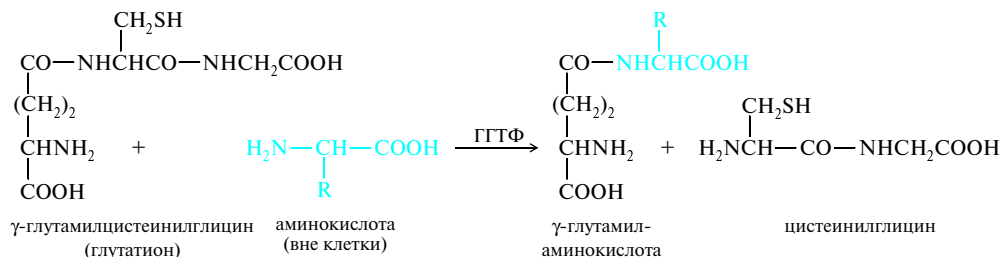
В соответствии с гипотезой γ -глутамильного цикла транспорта аминокислот через клеточные мембраны роль переносчика аминокислот принадлежит широко распространенному в биологических системах трипептиду глутатиону:



Ниже приведены реакции γ -глутамильного цикла.

1. Главную роль в этом процессе играет мембрано-связанный гликопротеин — фермент **γ -глутамилтрансфераза** (ГГТФ), который катализирует перенос γ -глутамильного остатка **глутатиона** на транспортируемую аминокислоту, т. е.

глутатион выполняет роль донора γ -карбоксильной группы глутаминовой кислоты, а аминокислота — акцептор этой группы:



Схематически это можно представить следующим образом (рис. 24.4).

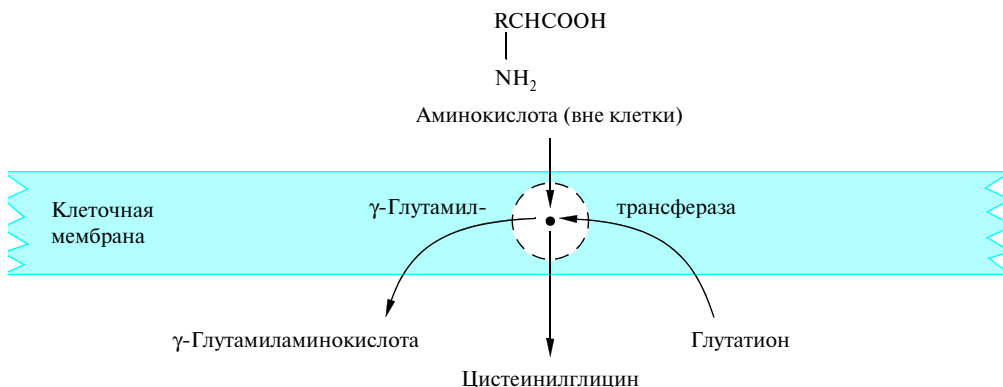
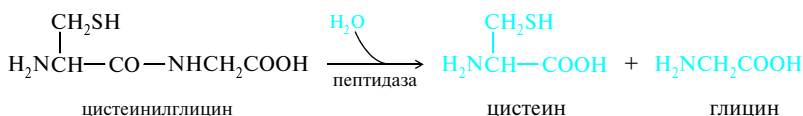


Рис. 24.4. Схема первой реакции γ -глутамильного цикла

2. Комплекс γ -глутамиламинокислота после переноса через мембрану распадается внутри клетки под действием γ -глутамилциклотрансферазы на свободную аминокислоту и 5-оксопролин:

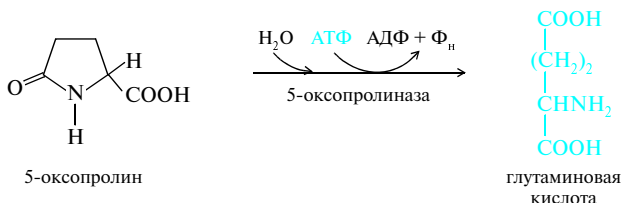


3. Образовавшиеся в первой реакции цистеинилглицин гидролизуются пептидазой:

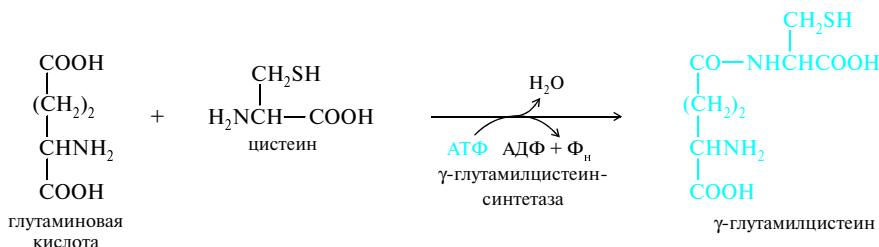


Все последующие реакции γ -глутамильного цикла направлены на регенерацию глутатиона, необходимого для продолжения процесса.

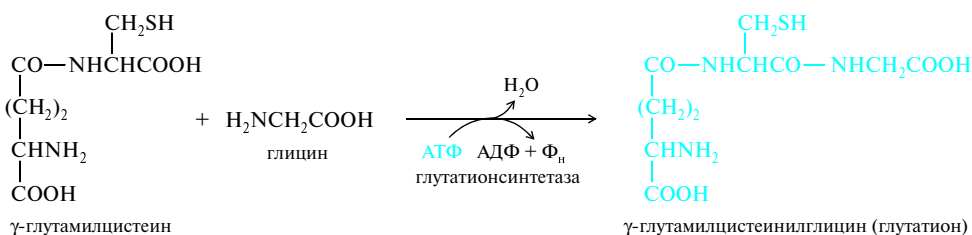
4. В этой реакции 5-оксопролин под действием АТФ-зависимой 5-оксопролиназы превращается в глутаминовую кислоту:



5. Эта реакция — синтез дипептида γ -глутамилцистеина — катализируется γ -глутамилцистеинсинтетазой:



6. В завершающей реакции цикла синтез глутатиона катализируется глутатионсинтетазой:



Таким образом, благодаря ресинтезу глутатиона, требующему затраты трех молекул АТФ, цикл повторяется многократно. Однако это только один из возможных механизмов транспорта аминокислот, поскольку ключевой фермент этого процесса — γ -глутамилтрансфераза обладает узкой специфичностью: активен к полярным незаряженным аминокислотам, например цистеину, серину; менее активен к дикарбоновым аминокислотам; пролин — вообще таким путем не транспортируется через мембрану.

Все ферменты γ -глутамильного цикла обнаружены в высоких концентрациях в разных тканях — почках, эпителии ворсинок тонкого кишечника, слюнных железах, желчном протоке, семенных пузырьках и др. После всасывания в кишечнике аминокислоты через воротную вену поступают в печень, а затем разносятся кровью во все органы.

24.4. Внутриклеточный обмен аминокислот

Аминокислоты в организме прежде всего используются для синтеза белков и пептидов. Кроме этого, ряд аминокислот служат предшественниками для образования соединений непептидной природы: пуриновых и пиримидиновых оснований, биогенных аминов, порфиринов (в том числе гема), никотиновой кислоты, креатина, холина, таурина, тироксина и ряда других. Из углеродного скелета *гликогенных* аминокислот синтезируются углеводы, *кетогенных* — липиды и кетоновые тела. Основным органом метаболизма аминокислот является печень, где происходят многие синтетические процессы, связанные с использованием аминокислот, а также важный процесс перераспределения избыточных количеств, потребляемых с пищей углеродных цепей аминокислот и азота.

24.5. Внутриклеточный протеолиз

В последние годы выяснено, что время «полужизни» белков детерминировано природой его *N-концевой аминокислоты*. Если она легко соединяется с **убиквитином** — небольшим белком с молекулярной массой ~ 8,5 kDa, состоящим из 74 аминокислотных остатков, то такой убиквитинированный белок атакуется протеиназами и разрушается. Наиболее подвержены убиквитинированию аргинин, лизин, аспарагиновая кислота, аспарагин, триптофан, лейцин, фенилаланин, гистидин, глутаминовая кислота, тирозин, глутамин, изолейцин; менее подвержены — метионин, серин, аланин, треонин, валин, глицин, цистеин, их относят к стабилизирующим гидролитический распад белков.

Подсчитано, что время «полужизни» цитоплазматических белков, имеющих в качестве *N-концевой аминокислоты* аргинин, составляет 2 мин; аспарагиновой кислоты, лизина — 10 мин, глутаминовой кислоты и изолейцина — 30 мин.

Таким образом, деструкция белковых молекул высокоселективна, и убиквитин является одним из механизмов этой селективности. Установлено, что в мечении белков для деструкции могут играть роль также *шапероны*. Некоторые белки имеют время «полужизни» более чем 20 ч (белки печени — даже несколько дней), а другие — несколько минут.

Тканевые протеиназы животных. Во всех животных тканях выявлены активные протеолитические ферменты.

Тканевые протеиназы локализованы в основном в лизосомах, содержащих большой набор активных гидролаз, в том числе кислых протеиназ. Внутриклеточные протеиназы, гидролизующие белки в слабокислой области pH, называют *катепсинами*. В настоящее время различают пять достаточно хорошо охарактеризованных типов катепсинов, которые обозначают буквами А, В, С, D, Е. Они отличаются оптимумом pH, субстратной специфичностью и рядом других свойств.

Субстратная специфичность катепсинов А, В и С сходна со специфичностью соответственно пепсина, трипсина и химотрипсина.

Важное функциональное значение имеет группа лизосомальных гидролаз, включающая ферменты типа амино- и карбоксипептидаз, дипептидаз.

Кроме катепсинов, являющихся кислыми тканевыми протеиназами, в различных органах и тканях обнаружены *нейтральные* и *щелочные протеиназы*,

активные при физиологических значениях pH. Эта группа протеиназ, наряду с деградацией тканевых белков, играет важную роль во внутриклеточных реакциях посттрансляционной модификации биологически важных белков (ферментов, гормонов). В настоящее время можно считать доказанным участие нейтральных протеиназ также в регуляции уровня секреции биологически важных веществ, в процессах эмбрионального и постнатального развития, в утилизации избытка пищевых веществ в клетке и очистке их от структур, утративших функциональное значение.

Особую группу протеиназ, имеющих оптимум в щелочной области pH, составляют *каликреины*, широко распространенные в тканях и жидкостях организма. Особенно активны они в крови, слюнных железах, поджелудочной железе. Под действием калликренина плазмы образуется **брадикинин**, а калликреинов поджелудочной и других желез — **каллидин**, превращаемый в крови аминопептидазой в брадикинин.

Протеиназы высших растений. Протеиназы, выделенные из растительных клеток, в большинстве случаев относятся к сульфгидрильному типу, активируются цистеином, глутатионом и другими восстановителями. Оптимальная зона их действия находится при слабокислом, нейтральном и слабощелочном значениях pH и во многом зависит от природы субстрата. Типичный представитель — **папаин** из сока плодов дынного дерева (*Carica papaya*). Папаин проявляет широкую субстратную специфичность — катализирует гидролиз пептидов, амидов, эфиров и тиоэфиров. Значительно реже встречаются растительные протеиназы, не активируемые восстановителями. Протеиназы насекомых имеют, например росянки, имеют резко кислый оптимум pH (3—3,5).

Протеиназы микроорганизмов. Из бактериальных источников было выделено большое количество различных протеолитических ферментов. Среди них встречаются как эндопептидазы, так и экзопептидазы. Все эти ферменты характеризуются поразительно широкой специфичностью или даже полным отсутствием какой бы то ни было специфичности. Некоторые бактериальные протеиназы расщепляют до 80% всех пептидных связей в белках. Широкой субстратной специфичностью обладают также протеиназы актиномицетов, гидролизующие как глобулярные, так и фибриллярные белки.

Препараты протеиназы из *Str. griseus* в связи с универсальностью их действия и высокой активностью используют в промышленности, лабораторной биохимической практике и выпускаются под названием **проназа** или **протелин**. Широко используют в лабораторной практике и промышленности щелочные протеиназы *Bac. subtilis* — **субтилизины**, поскольку они гидролизуют белки глубже и с большей скоростью, чем многие другие протеиназы, в том числе животного происхождения.

24.6. Катаболизм аминокислот

Аминокислоты, не использованные для биосинтетических процессов, подвергаются катаболизму, а из углеродных цепей аминокислот синтезируются вещества, способные резервировать энергию — глюкоза (гликоген) и липиды (рис. 24.5). Общими для всех аминокислот являются катаболические превращения по α -NH₂- и α -COOH-группам. К общим реакциям относится так-

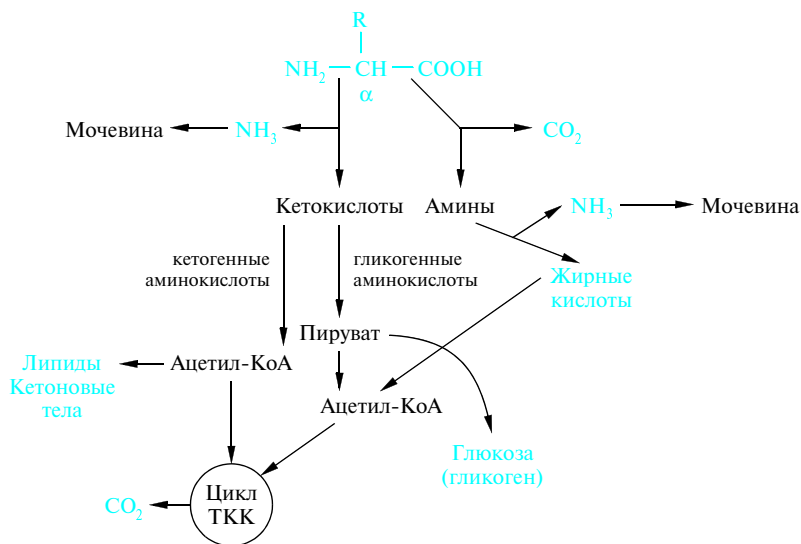


Рис. 24.5. Общая схема катаболизма аминокислот

же реакция рацемизации аминокислот; однако ферменты, катализирующие этот процесс, были найдены только у микроорганизмов.

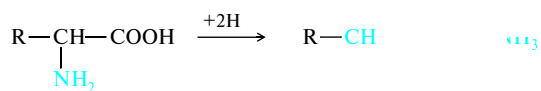
Чаще всего катаболизм аминокислот начинается с отщепления α -NH₂-группы в процессе дезаминирования или трансаминирования.

24.6.1. Дезаминирование аминокислот

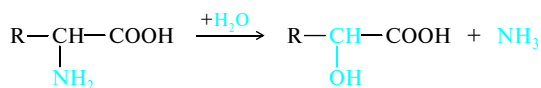
В процессе дезаминирования происходит отщепление от аминокислоты аминогруппы, которая превращается в аммиак. Помимо аммиака, продуктами дезаминирования являются жирные кислоты, окси- и кетокислоты, т. е. безазотистые соединения, которые затем используются для синтеза углеводов, липидов и других соединений.

В природе известны четыре основных типа дезаминирования.

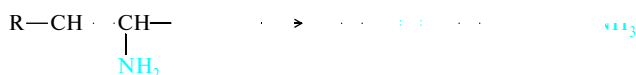
Восстановительное дезаминирование:



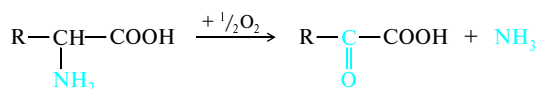
Гидролитическое дезаминирование:



Внутримолекулярное дезаминирование:



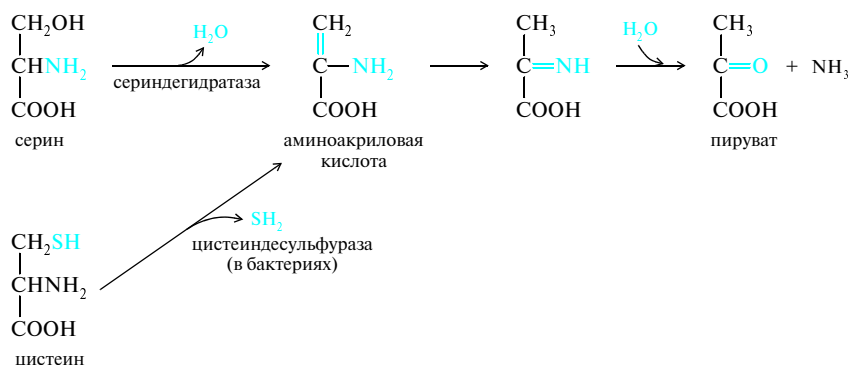
Окислительное дезаминирование:



Первые три типа дезаминирования характерны для ряда микроорганизмов, иногда встречаются у растений. Для животных, растений и большинства аэробных микроорганизмов преобладающим типом реакции является окислительное дезаминирование аминокислот.

Помимо четырех перечисленных выше типов дезаминирования аминокислот, выявлены особые механизмы дезаминирования **серина**, **треонина** и **цистеина**, которые дезаминируются в ходе реакции дегидратации, катализируемой специфической дегидратазой.

Ниже представлена схема превращения серина и цистеина в пируват:



В качестве кофермента дегидратаз, катализирующих неокислительное дезаминирование указанных выше аминокислот, выступает фосфопиридоксаль, который катализирует реакции превращения аминокислот с образованием шиффовых оснований как промежуточных метаболитов (см. 24.5.5).

Механизм окислительного дезаминирования. Этот процесс катализируется либо *флави́нзависимой оксидазой*, либо НАД^+ -зависимой *дегидрогеназой*. Существует два типа флави́нзависимых оксидаз.

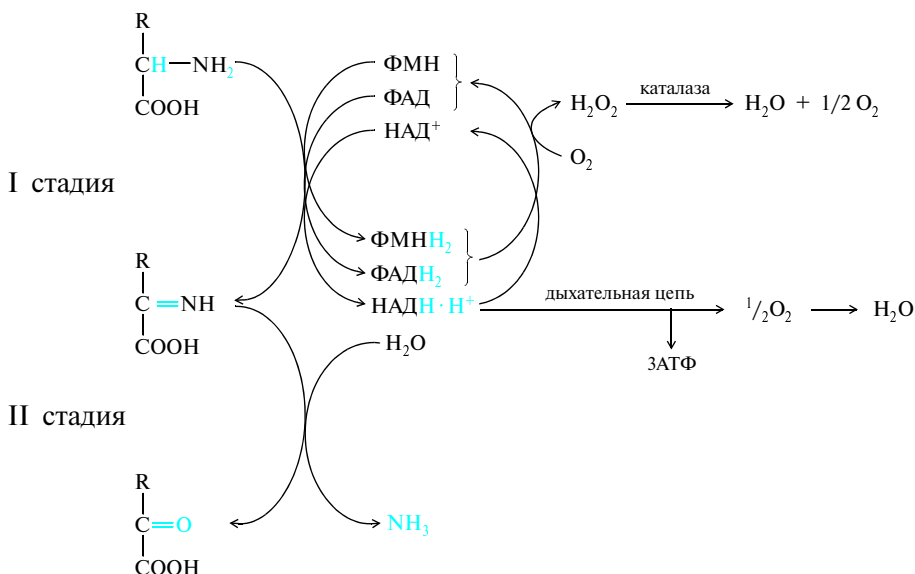
- Оксидаза, катализирующая дезаминирование L-аминокислот, в качестве кофермента содержит ФМН (ФМН-зависимая оксидаза).
- Оксидаза, дезаминирующая D-аминокислоты, содержит ФАД (ФАД-зависимая оксидаза).

Наиболее важной в метаболизме аминокислот в целом и широко распространенной является дегидрогеназа, катализирующая окислительное дезаминирование L-глутаминовой кислоты и содержащая в качестве кофермента НАД^+ либо НАДФ^+ , глутаматдегидрогеназа (ГДГ).

Независимо от типа ферментов, катализирующих реакцию окислительного дезаминирования аминокислоты, ее механизм будет аналогичен. Процесс окислительного дезаминирования аминокислот протекает в две стадии.

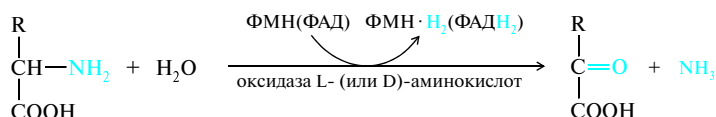
На первой стадии происходит дегидрирование аминокислоты, в котором коферменты ФМН, ФАД или НАД^+ выполняют роль акцептора водорода, а в качестве продукта реакции образуется иминокислота.

На второй стадии осуществляется гидролитический распад иминокислоты до аммиака и кетокислоты:



Восстановленные флавиннуклеотиды оксидаз L- и D-аминокислот могут непосредственно окисляться молекулярным кислородом, образуя пероксид водорода, который подвергается расщеплению под действием каталазы на воду и кислород. НАДН окисляется ферментами дыхательной цепи митохондрий с образованием конечного продукта — воды и молекулы АТФ, которая синтезируется в процессе сопряженного окислительного фосфорилирования.

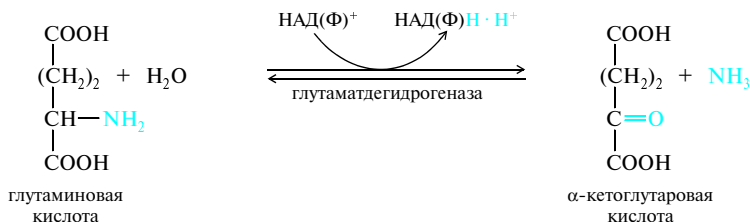
Стехиометрическое уравнение реакции окислительного дезаминирования:



Следует отметить, что оксидазы L-аминокислот, катализирующие дезаминирование природных, входящих в состав белков L-изомеров аминокислот, имеют оптимум pH действия в щелочной среде (pH 10,0) и при физиологических значениях pH среды их активность в 10 раз ниже, чем при pH 10,0. Поскольку в тканях животных и человека нет подобной среды, оксидазе L-аминокислот принадлежит ограниченная роль в процессе окислительного дезаминирования природных аминокислот. В то же время оксидазы D-аминокислот имеют pH-оптимум при физиологических значениях pH. Учитывая, что природные аминокислоты являются L-изомерами, функция высокоактивных D-оксидаз остается не до конца выясненной.

Ключевым ферментом дезаминирования многих аминокислот является глутаматдегидрогеназа (ГДГ), дезаминирующая L-глутаминовую кислоту при

физиологических значениях pH. Как отмечалось ранее, ГДГ в качестве кофермента (акцептора водорода) содержит НАД⁺ или НАДФ⁺:



Глутаматдегидрогеназа является одним из наиболее изученных ферментов белкового обмена. Это олигомерный фермент (молекулярная масса 312 kDa), состоящий из шести субъединиц (каждая из которых имеет молекулярную массу около 52 kDa). Он выполняет важную регуляторную функцию не только в аминокислотном, но и энергетическом обмене. По аллостерическому механизму ГДГ ингибируется АТФ и ГТФ и активируется АДФ и ГДФ, увеличение содержания которых свидетельствует о необходимости окислительного фосфорилирования (синтеза АТФ).

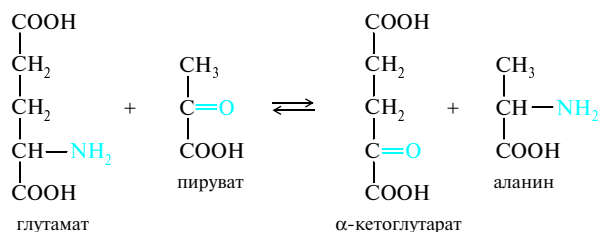
Чтобы понять роль глутаминовой кислоты в обмене других аминокислот, следует ознакомиться с еще одним процессом превращения аминокислот — реакцией трансаминирования.

24.6.2. Трансаминирование аминокислот

Трансаминирование — это реакция межмолекулярного переноса аминокислотной группы от аминокислоты на α-кетокислоту, протекающая без промежуточного образования свободного аммиака. Реакция трансаминирования (прежнее наименование переаминирования) была открыта в 1937 г. отечественными учеными А. Е. Браунштейном и М. Г. Крицман.

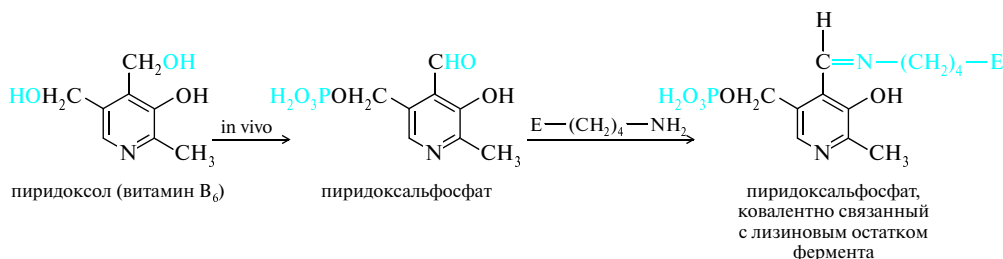
Как выяснилось позже, эти реакции являются универсальными для всех живых организмов, протекают при участии специфических ферментов, называемых *аминотрансферазами* либо *трансаминазами*.

Суммарная реакция трансаминирования:



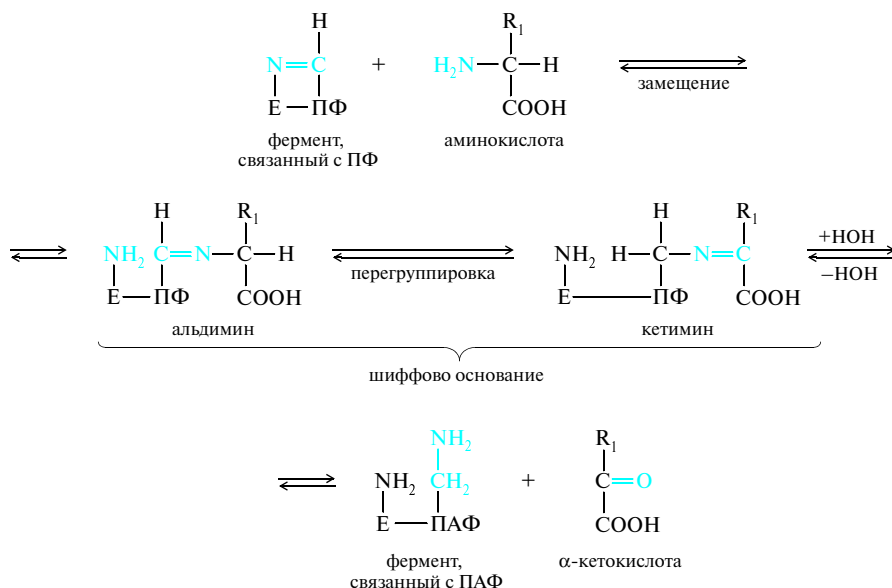
В настоящее время известно много трансаминаз, специфичных к различным аминокислотам. Коферментом всех трансаминаз является прочно связанный с апобелком — **пиридоксаль-5-фосфат (ПФ)**, представляющий собой метаболически активную форму витамина В₆ (пиридоксол). В организме образование ПФ происходит путем окисления одной гидроксиметильной группы пиридоксола (CH₂ОН) до альдегидной и фосфорилирование второй. Взаимо-

действие пиридоксаль-5-фосфата с апобелком фермента происходит путем связывания карбонильной группы ($-\text{CHO}$) с ϵ -аминогруппой лизина белкового компонента:



Механизм реакции трансаминирования. Пиридоксальфосфат в реакции трансаминирования выполняет роль переносчика аминогруппы с аминокислоты на кетокислоту. Процесс включает две стадии.

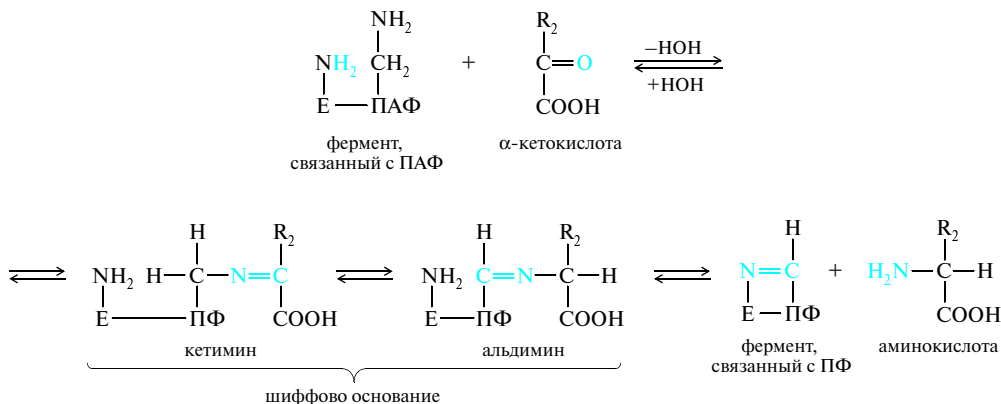
На первой стадии активная альдегидная группа пиридоксальфосфата ($-\text{CHO}$) взаимодействует с аминогруппой аминокислоты с образованием иминной связи — *шиффово основания*. В настоящее время установлено, что взаимодействие аминокислоты с ПФ происходит путем реакции замещения ϵ - NH_2 -группы остатка лизина в молекуле апофермента на α -аминогруппу аминокислоты:



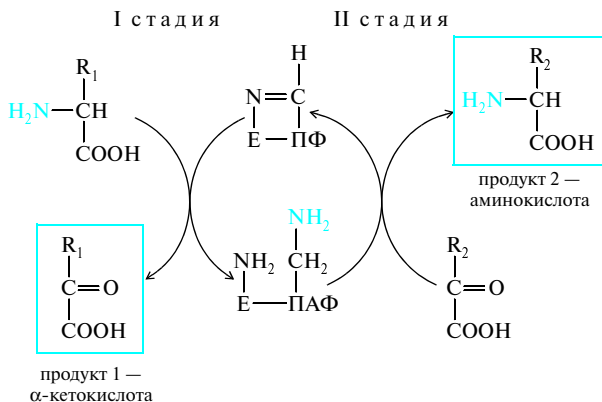
В результате реакций на первой стадии аминокислота дезаминируется и образуется ее структурный аналог α -кетокислота, а кофермент переходит в форму пиридоксаминфосфата (ПАФ).

Вторая стадия начинается с образования шиффово основания между пиридоксаминфосфатом и α -кетокислотой — акцептором NH_2 -группы аминокислоты. По механизму эта стадия является обратной первой стадии и завершается образованием из α -кетокислоты соответствующей аминокислоты и ре-

генерацией пиридоксальфосфата, образующего ковалентный комплекс (шиффово основание) с $\epsilon\text{-NH}_2$ -лизинового остатка апофермента:



Общая схема реакции трансаминирования



Значение трансаминирования. Реакции трансаминирования относятся к амфиболическим процессам, т. е. выполняющим как функцию катаболическую — отщепление от аминокислоты аминогруппы, так и анаболическую — синтез новой кислоты путем аминирования α -кетокислоты. Механизм синтеза аминокислот в процессе трансаминирования был назван А. Е. Браунштейном *трансреаминированием*. Таким путем происходит синтез аланина из пирувата; аспарагиновой кислоты из оксалоацетата; глутаминовой кислоты из α -кетоглутарата. Однако **глутаминовая кислота** чаще всего выступает как донор NH_2 -группы в реакциях биосинтеза других аминокислот, поскольку она — практически единственная аминокислота, способная синтезироваться в физиологических условиях путем аминирования свободным аммиаком благодаря наличию активной НАДФ⁺-зависимой глутаматдегидрогеназы.

Особую роль трансаминирование играет в процессах дезаминирования большинства аминокислот, сопровождающихся превращением $\alpha\text{-NH}_2$ -группы в аммиак. Этот процесс получил название *непрямого дезаминирования* аминокислот или *трансдезаминирования* (по А. Е. Браунштейну).

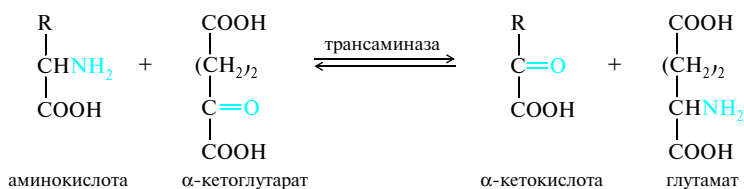
24.6.3. Непрямое дезаминирование аминокислот (трансдезаминирование)

Основанием для представления о непрямом пути превращения аминокислот в аммиак послужили следующие известные данные:

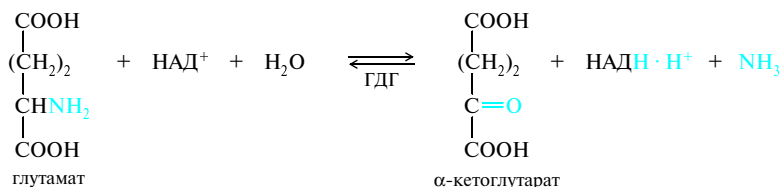
- оксидазы L-аминокислот, катализирующие реакцию окислительного дезаминирования, имеют рН-оптимум при 10,0 и мало активны при физиологических значениях рН;
- почти для всех аминокислот (кроме лизина и треонина) выявлены активные трансаминазы, широко распространенные в животных, растительных тканях, микроорганизмах;
- из всех природных аминокислот только глутаминовая кислота способна к окислительному дезаминированию и образованию аммиака в физиологических условиях при действии НАД(Ф)⁺-зависимой глутаматдегидрогеназы.

Непрямое дезаминирование аминокислот (трансдезаминирование) протекает в две стадии.

На первой стадии происходит трансаминирование аминокислоты (донор аминогруппы) с α-кетоглутаратом (акцептор аминогруппы). При действии активной трансаминазы аминокислота превращается в кетокислоту, а α-кетоглутарат — в глутаминовую кислоту:



На второй стадии происходит окислительное дезаминирование глутамата при действии активной НАД⁺-зависимой глутаматдегидрогеназы (ГДГ):



Суммарная реакция:



Таким образом, в совокупности реакций обеих стадий — трансаминирования и дезаминирования NH₂-группа аминокислоты превращается в аммиак. Глутаминовая кислота в этом процессе выполнила *коллекторную функцию* — ее аминогруппа собрана с других аминокислот. Эта функция определяет уникальность роли глутаминовой кислоты в катаболизме других аминокислот.

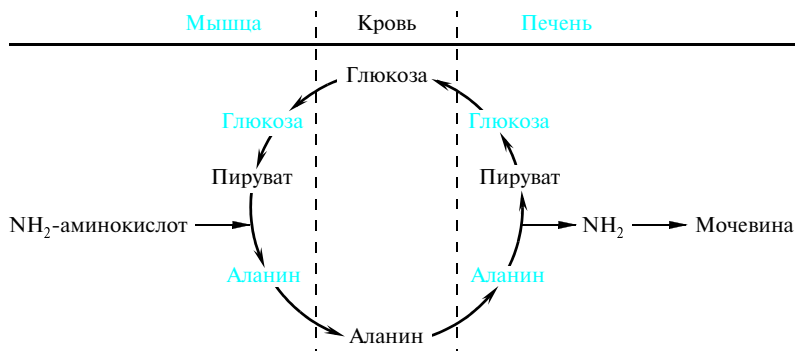


Рис. 24.6. Глюкозо-аланиновый цикл

Функциональное значение трансаминирования в различных тканях неодинаково. Так, значительная часть азота аминокислот работающей мышцы приходится на аланин, который синтезируется путем трансаминирования пирувата, образующегося из глюкозы, затем он поступает в кровь и поглощается печенью, где вновь в процессе непрямого дезаминирования превращается в пируват, который вовлекается в процесс глюконеогенеза, а аминогруппа утилизируется в печени с образованием мочевины. Таким образом, аланин, по-видимому, в плазме крови является главной транспортной формой азота, а в печени служит ключевым предшественником глюкозы белкового происхождения (рис. 24.6).

24.6.4. Превращение углеродного скелета аминокислот

Азот аминокислот, отщепляемый, как правило, на ранних стадиях катаболизма, включается в общий метаболический пул. В зависимости от потребностей организма он может реутилизироваться в анаболических процессах или включаться в конечный продукт обмена азота — мочевину и экскретироваться из организма.

Безазотистые углеродные остатки аминокислот образуют кислоты, чаще всего кетокислоты, которые далее деградируют по общим путям катаболизма других окисленных углеводов (рис. 24.7).

Метаболиты, образующиеся из углеродных скелетов аминокислот, либо непосредственно включаются в цикл трикарбоновых кислот, либо превращаются в пируват и через ацетил-КоА деградируют до образования конечных продуктов — CO₂ и H₂O. В зависимости от потребностей организма безазотистые метаболиты могут включаться в синтез глюкозы (*гликогенные аминокислоты*) либо в синтез высших жирных кислот (*кетогенные аминокислоты*).

Гликогенные и кетогенные аминокислоты. К гликогенным аминокислотам относятся те аминокислоты, при катаболизме которых образуются непосредственные предшественники глюкозы, вовлекаемые в процесс глюконеогенеза — пируват, оксалоацетат, фосфоеноилпируват (таких аминокислот 14), либо в жиры (кетогенные, одна аминокислота), либо и в углеводы, и в жиры (гликогенные и кетогенные, 5 аминокислот). Таким образом, классификация

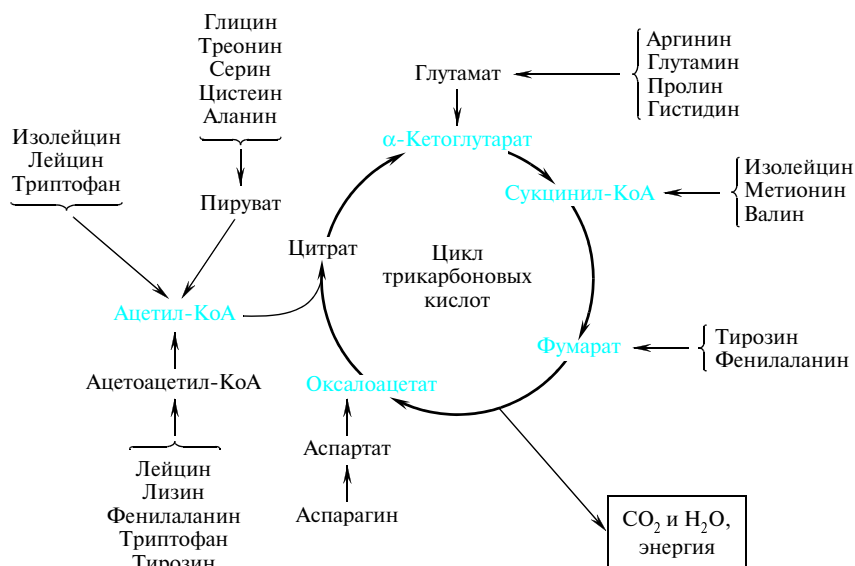


Рис. 24.7. Метаболиты, образующиеся из углеродных скелетов аминокислот

аминокислот по признаку кетогенности или гликогенности достаточно условна, поскольку интермедиаты некоторых из них могут включаться как в синтез углеводов, так и жиров (табл. 24.2).

На рис. 24.8 представлены пути окислительного распада аминокислот с разветвленной цепью — кетогенной аминокислоты лейцина, а также валина и изолейцина, являющихся одновременно кетогенными и гликогенными. В процессе метаболических превращений валина происходит образование сукцинил-КоА, который через цикл ТКК и при участии некоторых других ферментов может превратиться в пируват, а затем в глюкозу. В то же время лейцин дает непосредственно кетопродукт ацетоацетат и, кроме того, ацетил-КоА, из которого также может образовываться ацетоацетат. Изолейцин дает ацетил-КоА и пропионил-КоА. Через метилмалонил-КоА пропионил-КоА превращается в сукцинил-КоА, и, следовательно, его надлежит считать гликогенным, а так как ацетил-КоА — кетогенное соединение, то изолейцин можно отнести одновременно к обеим категориям.

Таблица 24.2. Гликогенные и кетогенные аминокислоты

| Гликогенные | | Кетогенные | Гликогенные и кетогенные |
|-----------------------|----------|------------|--------------------------|
| Аланин | Гистидин | Лейцин | Изолейцин |
| Аргинин | Метионин | | Лизин |
| Аспарагиновая кислота | Пролин | | Фенилаланин |
| Цистеин | Серин | | Тирозин |
| Глутаминовая кислота | Треонин | | Триптофан |
| Глицин | Глутамин | | |
| Аспарагин | Валин | | |

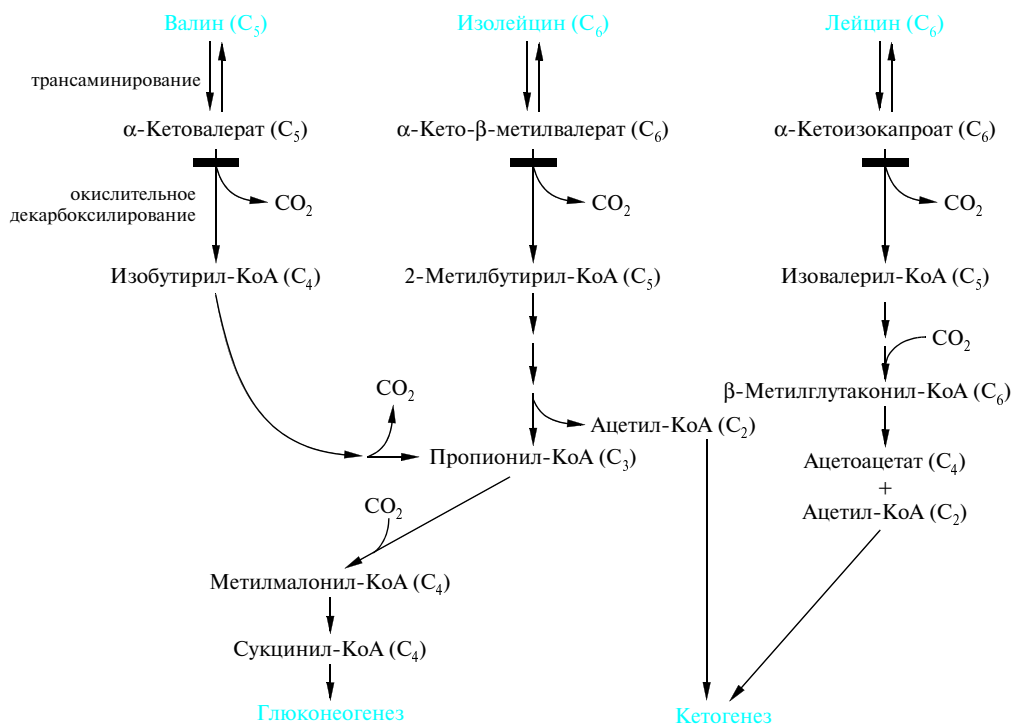


Рис. 24.8. Пути катаболизма аминокислот с разветвленной цепью

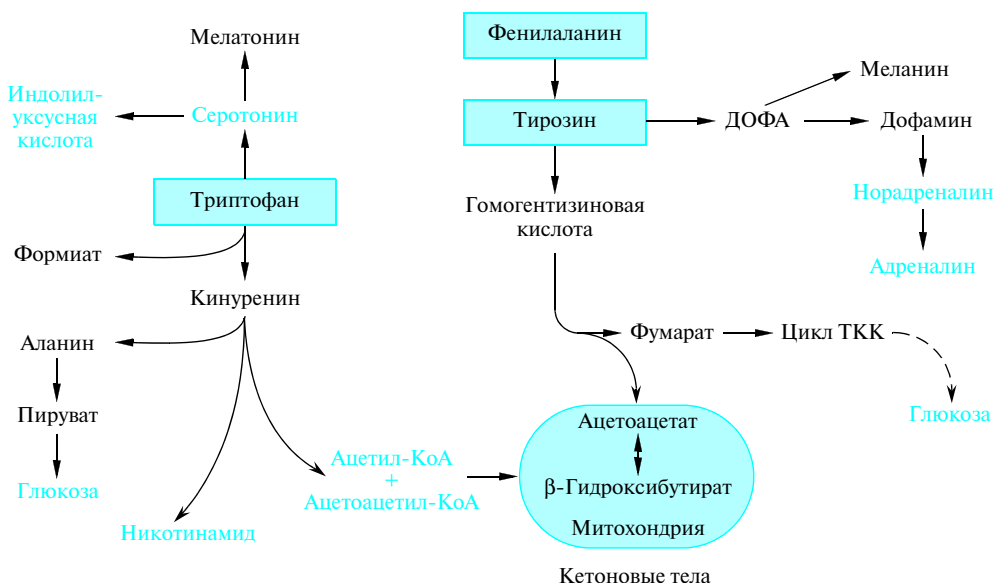


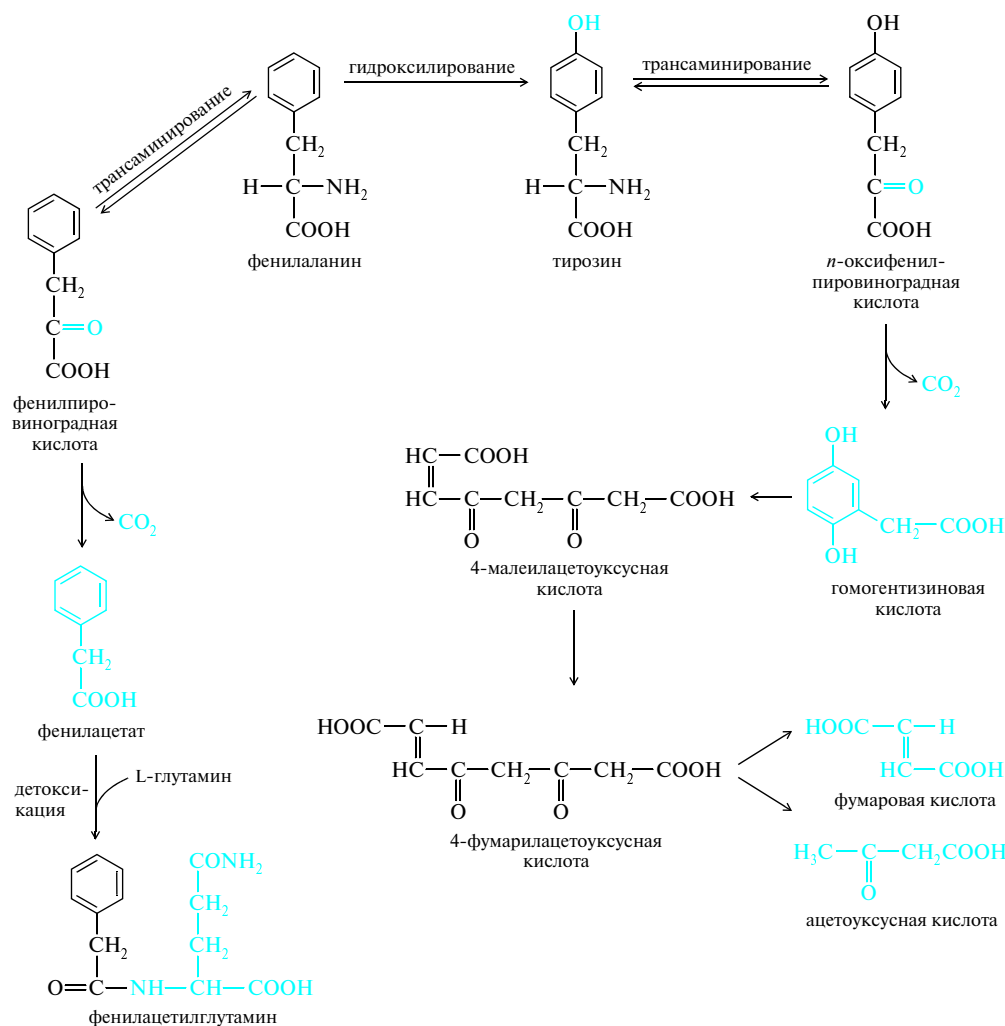
Рис. 24.9. Пути катаболизма ароматических аминокислот

К группе аминокислот, безазотистые остатки которых способны метаболизировать как по пути углеводного, так и липидного обмена, относятся ароматические аминокислоты — триптофан, фенилаланин, тирозин, схема путей катаболизма которых приведена на рис. 24.9.

Метаболические превращения триптофана приводят к образованию различных важных соединений, в том числе **серотонина** — вещества, присутствующего в нервной, а также в некоторых других тканях млекопитающих, обладающего мощным вазопрессорным действием; индолилуксусной кислоты — ростового вещества растений (типа ауксина); витамина никотиновой кислоты, необходимой для синтеза никотинамидных коферментов (НАД⁺ и НАДФ⁺).

Катаболизм триптофана в организме идет в основном по кинурениновому пути (около 95%) и лишь незначительной частью — по серотониновому, в процессе которого образуется индолилуксусная кислота, которая выводится из организма с мочой.

Основные метаболиты, образующиеся в процессе катаболических превращений фенилаланина и тирозина, приведены ниже:



Следует отметить, что окислительный распад фенилаланина и тирозина представляет особый интерес в связи с тем, что многие врожденные нарушения белкового обмена связаны именно с обменом этих аминокислот, например наследственная болезнь *фенилкетонурия* (фенилпировиноградная олигофрения). Причиной этого заболевания является потеря способности организма синтезировать фермент **фенилаланин-4-монооксигеназу**, катализирующую превращение фенилаланина в тирозин. Это приводит к накоплению фенилаланина в тканях, а следовательно, и продуктов его трансаминирования фенилпировиноградной и фенилуксусной кислот, оказывающих токсическое действие на организм, и в первую очередь на ЦНС, вызывая расстройство психической деятельности человека.

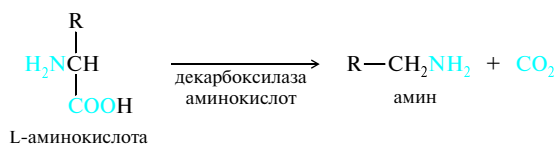
Распад тирозина начинается с трансаминирования, приводящего к образованию *n*-оксифенилпировиноградной кислоты. Последняя при действии фермента **оксидазы *n*-оксифенилпировиноградной кислоты** (медьсодержащий белок) катализирует превращение своего субстрата в гомогентизиновую кислоту, причем реакция эта включает в себя декарбоксилирование, окисление, гидроксילирование ароматического ядра и миграцию боковой цепи. **Оксидаза гомогентизиновой кислоты** — фермент, нуждающийся в ионах двухвалентного железа, катализирует образование из гомогентизиновой кислоты малеилацетоксусной кислоты. Последняя превращается в соответствующее транссоединение — фумарилацетоксусную кислоту, расщепление которой приводит к образованию, во-первых, фумаровой кислоты, которая подвергается дальнейшим превращениям при участии ферментов цикла ТКК, и, во-вторых, ацетоксусной кислоты, которая может либо войти также в цикл ТКК (в форме ацетил-КоА), либо превратиться в жирные кислоты.

24.6.5. Декарбоксилирование аминокислот

Отщепление карбоксильной группы аминокислот в виде CO_2 катализируется декарбоксилазами аминокислот, которые весьма широко распространены в природе. Примеры ферментативного декарбоксилирования аминокислот и их производных у различных видов живых организмов представлены в табл. 24.3.

В животных тканях выявлено декарбоксилирование тирозина, триптофана, 5-окситриптофана, валина, серина, гистидина, глутаминовой и γ -оксиглутаминовой кислот, 3,4-дифенилаланина, цистеина и цистеинсульфиновой кислоты, аргинина, орнитина, *S*-аденозилметионина, α -аминомалоновой кислоты.

Среди различных типов декарбоксилирования аминокислот для организма человека и животных наибольшее значение имеет α -декарбоксилирование, т. е. отщепление карбоксильной группы при α -углеродном атоме и образование продуктов реакции аминов, обладающих, как правило, сильным фармакологическим действием и поэтому названных *биогенными аминами*.

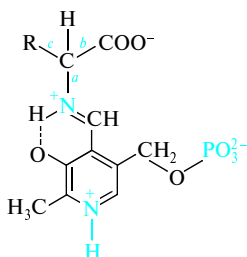


Т а б л и ц а 24.3. Ферментативное декарбоксилирование аминокислот и их производных (по Т. Т. Березову и Б. Ф. Коровкину, 1983)

| Субстрат | Продукт реакции | Распространение | | |
|---|--|-----------------|---------------|---------------------|
| | | живот- ные | расте- ния | микроорга- низмы |
| <i>S</i> -Аденозилметионин | <i>S</i> -Аденозилгомоцистеамин | + | | + |
| <i>n</i> -Аминобензойная кислота | Анилин | | | + |
| α -Аминомалоновая кислота | Глицин | + | | |
| α -Аминомасляная кислота | Пропиламин | | | + |
| Антраниловая кислота | Анилин | | | + |
| L-Аргинин | Агматин | | | + |
| L-Аспарагиновая кислота | β -Аланин | +(?) | | + |
| L-Аспарагиновая кислота | α -Аланин | | | + |
| L-Валин | 2-Метилпропиламин | + | + | + |
| L-Гистидин | Гистамин | + | + | |
| Две молекулы глицина | $2\text{CO}_2 + 2\text{NH}_3 + \text{CH}_3\text{COOH}$ | | | + |
| L-Глутаминовая кислота | γ -Аминомасляная кислота | + | + | + |
| Мезо- α ; ϵ -диаминопимелиновая кислота | L-Лизин | | | + |
| 3,4-Диоксифенилаланин | 3,4-Диоксифенилэтиламин | + | + | + |
| L-Изолейцин | 2-Метилбутиламин | | + | + |
| L-Лейцин | 3-Метилбутиламин | | + | + |
| L-Лизин | Кадаверин | | | + |
| γ -Метилен- L-глутаминовая кислота | γ -Аmino- α -метиленмасляная кислота | | + | |
| Норвалин | <i>n</i> -Бутиламин | | | + |
| Алло- β -оксиглутаминовая кислота | γ -Аmino- α -оксимасляная кислота | | | + |
| γ -Оксиглутаминовая кислота | α -Окси- γ -аминомасляная кислота | + | | + |
| 5-Оксилизин | 2-Оксикадаверин | | | + |
| 5-Окситриптофан | Серотонин | + | | |
| <i>n</i> -Оксифенилсерин | <i>n</i> -Оксифениламиноэтанол | + | | |
| L-Орнитин | Путресцин | + | | + |
| L-Серин | Этаноламин | + | | |
| L-Тирозин | Тирамин | + | + | + |
| L-Триптофан | Триптамин | + | | |
| L-Фенилаланин | Фенилэтиламин | + | | + |
| L-Цистеиновая кислота | Таурин | + | | |
| L-Цистеинсульфиновая кислота | Гипотаурин | + | | |

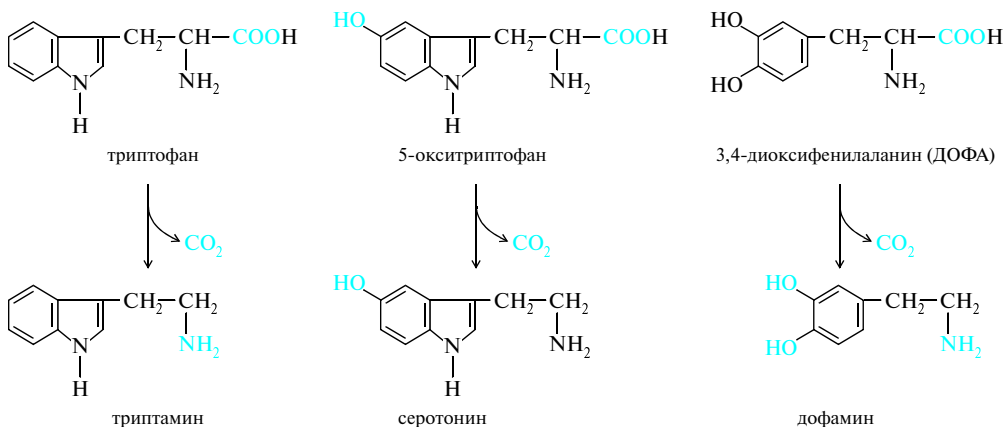
Реакции декарбоксилирования, в отличие от других процессов промежуточного обмена аминокислот, являются необратимыми. Декарбоксилазы аминокислот являются сложными ферментами, коферментами которых, как и у трансаминаз, является пиридоксальфосфат (ПФ), специфичность их действия определяется апобелковым компонентом фермента. Механизм реакции декарбоксилирования аминокислот в соответствии с теорией пиридоксалевого катализа связан с образованием шиффова основания между пиридоксальфос-

фатом и аминокислотой, лабильностью всех связей в субстрате (*a*, *b*, *c*), что обуславливает способность аминокислоты вступать в реакции трансаминирования (*a*), декарбоксилирования (*b*), альдольного расщепления (*c*).



шиффово основание между аминокислотой и пиридоксальфосфатом

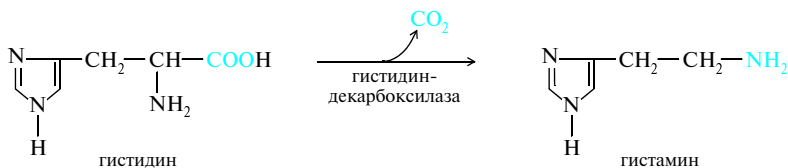
Неспецифическая декарбоксилаза ароматических аминокислот катализирует декарбоксилирование триптофана, 5-гидрокситриптофана и 3,4-диоксифенилаланина (ДОФА). Продуктами реакций, помимо CO_2 , являются соответственно триптамин, серотонин и диоксифенилэтиламин (дофамин):



Образующиеся биогенные амины — триптамин, серотонин, дофамин обладают сильным фармакологическим действием на множество физиологических функций человека и животных. Так, триптамин и серотонин оказывают сосудосуживающее действие. Кроме этого, серотонин участвует в регуляции артериального давления, температуры тела, дыхания и почечной фильтрации, является нейромедиатором, который вызывает изменение поведения, например при шизофрении. Дофамин, возможно, сам является нейромедиатором, а также предшественником широко известного медиатора норэпинефрина и гормона адреналина. Источником ДОФА в организме является тирозин, который под действием специфической гидроксилазы превращается в 3,4-диоксифенилаланин. Тирозингидроксилаза открыта в надпочечниках, в тканях мозга и периферической нервной системы.

Другим примером образования биологически активных аминов в процессе декарбоксилирования аминокислот является образование **гистамина** (из гистидина), большие количества которого выделяются из тучных клеток со-

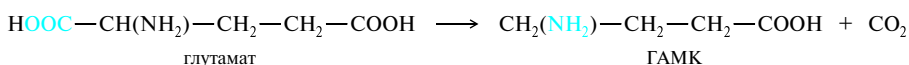
единительной ткани, вызывая аллергическую реакцию в ответ на действие ал-
лергена:



Количество гистамина увеличивается при различных патологических со-
стояниях организма: травмах, стрессе, а также при введении в организм раз-
личных ядов и некоторых лекарственных веществ (антибиотиков, лечебных
сывороток и др.).

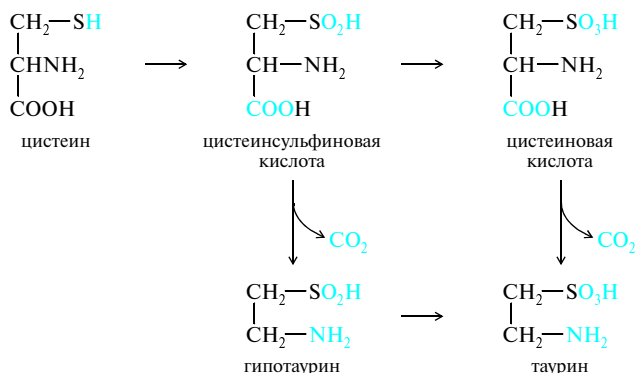
Гистамин обладает широким спектром биологического действия. Много
гистамина образуется в очаге воспаления, обладая сосудорасширяющим дей-
ствием, он ускоряет приток лейкоцитов и тем самым активирует защитные си-
лы в борьбе с инфекцией. Большое количество гистамина образуется в слизи-
стой желудка, где он активирует секрецию пепсина и соляной кислоты.

Важную биологическую функцию выполняет γ -аминомасляная кислота
(ГАМК) — продукт α -декарбоксилирования глутаминовой кислоты. Фермент,
катализирующий эту реакцию (глутаматдекарбоксилаза), является высокоспе-
цифичным:



Оба эти соединения — глутамат и ГАМК — относятся к нейромедиаторам:
ГАМК ингибирует, а глутамат активирует передачу нервных импульсов. Введе-
ние γ -аминомасляной кислоты вызывает тормозной процесс в коре головного
мозга (центральное торможение), а у животных приводит к утрате условных
рефлексов. γ -Аминомасляная кислота используется в клинике при лечении
некоторых заболеваний ЦНС, связанных с резким возбуждением коры голов-
ного мозга.

К биогенным аминам относится также **таурин**, который образуется из цис-
теина и используется в печени при образовании парных желчных кислот:



Таким образом, биогенные амины являются сильными, фармакологиче-
ски активными веществами, оказывающими разностороннее действие на фи-
зиологические функции организма. Некоторые биогенные амины (гистамин,

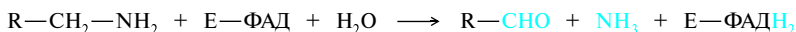
серотонин, их производные) нашли широкое применение в качестве лекарственных средств.

Детоксикация биогенных аминов. Накопление биогенных аминов может отрицательно сказываться на физиологическом статусе и вызывать серьезные нарушения в организме. Одним из механизмов обезвреживания биогенных аминов является их окислительное дезаминирование с образованием альдегидов и освобождением аммиака:

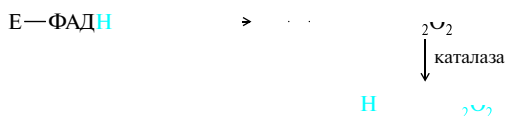


Реакции дезаминирования аминов катализируются ферментами моноамин- и диаминоксидазами (МАО и ДАО). Механизм окислительного дезаминирования моноаминов является необратимым и протекает в две стадии.

- Первая стадия сопровождается дегидрированием амина и восстановлением кофермента МАО, ФАД до ФАДН₂, отщеплением аммиака и образованием из амина альдегида: этот процесс не требует присутствия кислорода:



- На второй стадии в аэробных условиях происходит регенерация молекулярным кислородом окисленного ФАД. Образовавшийся при этом пероксид водорода ферментом катализа расщепляется на воду и кислород:



Продукты дезаминирования биогенных аминов (альдегиды) окисляются при действии фермента альдегиддегидрогеназы до органических кислот:



Ферменты, катализирующие окисление аминов, являются сложными белками. Коферментом моноаминоксидазы служит ФАД, а диаминоксидазы — пиридоксальфосфат. Моноаминоксидазы инактивируют первичные, вторичные и третичные амины, а диаминоксидазы — гистамин, путресцин, кадаверин и в меньшей степени алифатические амины. Некоторые ингибиторы моноаминоксидазы используются как лекарственные средства для лечения депрессии, сопровождающейся нарушением психики и мышления. К антидепрессантам — ингибиторам моноаминоксидазы относятся **ниламид**, **пиразидол**, **инказан** и др.

24.6.6. Роль пиридоксальфосфата (ПФ) в белковом обмене

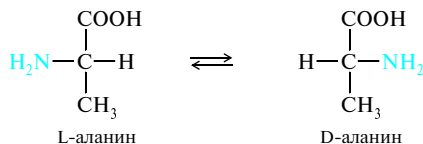
Пиридоксальфосфат (фосфорилированное производное альдегидной формы витамина В₆) является коферментом множества ферментов, катализирующих превращения аминокислот. Во всех реакциях, катализируемых ПФ-зависимым ферментом, между аминокислотой и карбонильным атомом пиридоксальфосфата образуется ковалентный комплекс (шиффово основание), в котором ПФ действует как электрофильный катализатор, стабилизируя

отрицательно заряженные промежуточные продукты каталитического процесса. Субстратная специфичность, направленность превращения субстрата определяется исключительно белковой частью фермента.

Витамин B₆ по праву называют «фактором целостности белкового обмена».

Ниже приведены наиболее типичные реакции обмена аминокислот, катализируемые пиридоксальфосфатзависимыми ферментами.

1. Рацемизация оптически активных аминокислот, например аланина:



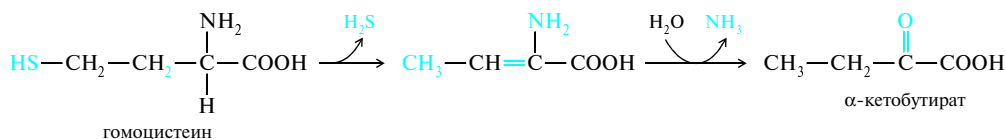
2. Трансаминирование — обратимая реакция переноса аминной группы с аминокислоты на α-кетокислоту (24.6.2).

3. Декарбоксилирование аминокислот (24.6.5).

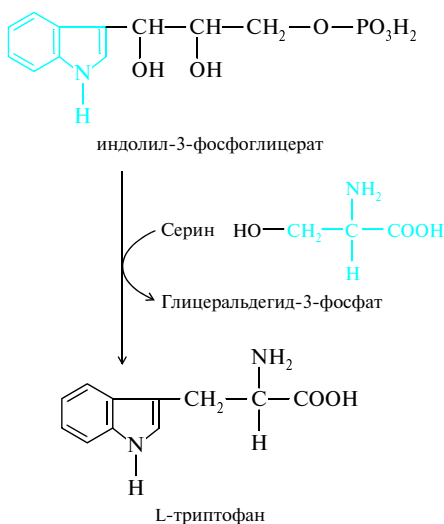
4. Реакции α,β-элиминации, такие, как дегидратация серина, в процессе которой происходит неокислительное дезаминирование серина и превращение его в пируват:



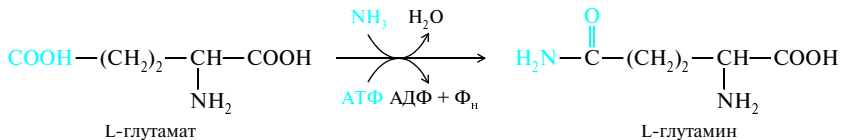
5. Реакция β,γ-элиминации, например десульфирование гомоцистеина:



6. Синтез триптофана из индолил-3-глицерофосфата и серина:



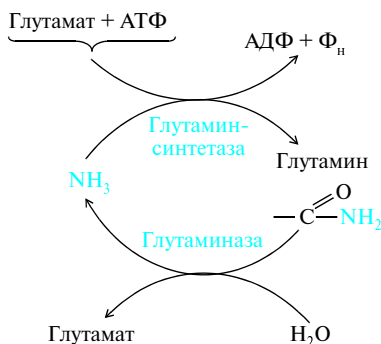
В организме человека примерно 90% образовавшегося аммиака выводится в виде мочевины, синтез которой происходит в печени. Транспорт аммиака из других органов в печень осуществляется в основном в виде глутамина (амида глутаминовой кислоты). Биосинтез глутамина (Глн) катализируется митохондриальным ферментом **глутаминсинтетазой**, присутствующим почти во всех тканях. На синтез одной амидной связи затрачивается энергия гидролиза 1 молекулы АТФ:



Глутамину принадлежит важная роль в обмене аминокислот и аммиака.

Значение глутаминсинтетазной реакции заключается в следующем.

- Глутамин — это нетоксичная форма хранения и транспорта аммиака кровью в печень, почки, кишечник, где его освобождение происходит путем гидролитического отщепления, катализируемого **глутаминазой**. Реакция является экзергонической и идет без затраты энергии АТФ:



Глутамат, который при этом регенерирует, возвращается в ткани, а аммиак в почках используется на образование аммонийных солей, в печени — вовлекается в синтез мочевины.

- Глутамин является донором азота в анаболических реакциях, например в синтезе пуриновых и пиримидиновых оснований.

- Глутамин — это генетически детерминированная аминокислота, входящая в состав белков. Таким образом, образование его из глутамата — это путь синтеза заменимой аминокислоты в организме.

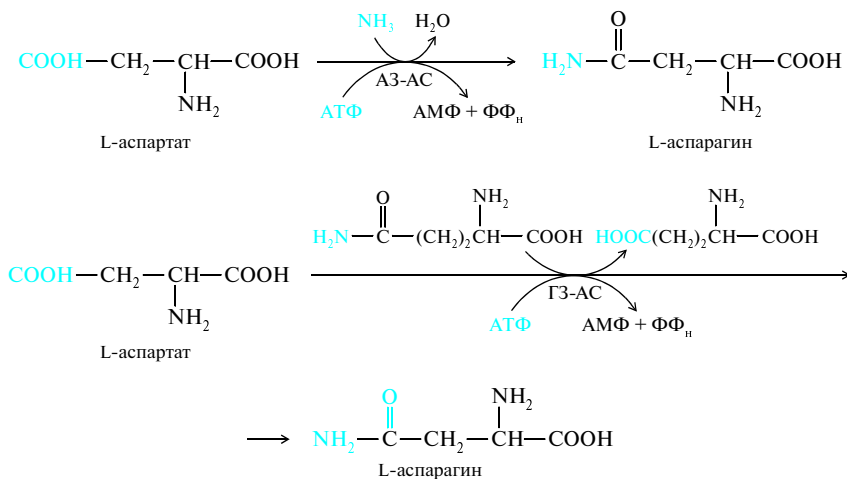
- Глутамин в небольшом количестве выводится с мочой из организма.

Следовательно, он выполняет не только транспортную функцию аммиака в крови, но и функцию детоксикации и выведения его из организма.

Благодаря высокому родству глутамата к NH_3 , глутаминсинтетазной реакции принадлежит важная роль в поддержании низкой концентрации аммиака в крови и тканях.

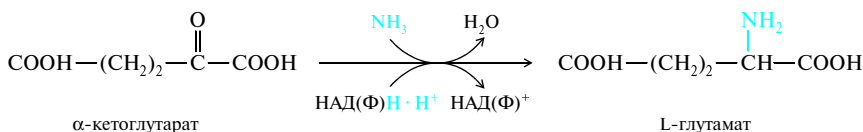
Обезвреживание аммиака происходит также в реакции синтеза *аспарагина* (амида аспарагиновой кислоты), который может катализироваться двумя типами аспарагинсинтетаз: **аммиакзависимой аспарагинсинтетазой** (АЗ-АС;

микроорганизмы и животные) или **глутаминзависимой аспарагинсинтетазой** (ГЗ-АС), выделенной из животных тканей:



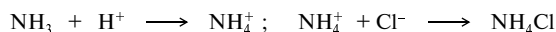
Функции аспарагина в определенной степени сходны с функциями глутамина. Так же как и глутамин, аспарагин является одной из 20 аминокислот, входящих в состав белков; осуществляет транспорт NH_3 в крови в нетоксичной форме; способен частично выводиться из организма с мочой.

Еще одним механизмом связывания аммиака является *восстановительное аминирование α -кетоглутарата*, т. е. в реакции, обратной окислительному дезаминированию глутамата, которая катализируется **глутаматдегидрогеназой**; донором восстановительных эквивалентов в этой реакции является восстановленная форма кофермента НАДН или НАДФН.



Синтез L-глутамата из α -кетоглутарата — одного из промежуточных метаболитов цикла трикарбоновых кислот важен для обмена других аминокислот, образующихся из глутамата. Однако вклад этой реакции в детоксикацию аммиака, по-видимому, невелик.

Около 4% от общего количества образовавшегося аммиака в организме выводится в виде аммонийных солей. Особенно активно переход неионизированной формы аммиака в ионизированную происходит в почках (уже в просвете почечного канальца) при ацидозе, когда образующийся в результате глутаминазной реакции аммиак нейтрализует кислоты:



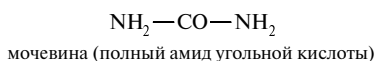
Следует обратить внимание, что экскреция аммиака почками в виде аммонийных солей служит в большей степени, по-видимому, именно для выведения кислот, а не азота. На это указывает значительная скорость их экскреции при ацидозе и отсутствие при алкалозе. Одновременно этот процесс обеспечивает сбережение организмом катионов Na^+ или K^+ , которые в отсутствие

ионов аммония выводились бы с анионами кислот, и, следовательно, является одним из важных механизмов регуляции кислотно-щелочного и водно-солевого обменов.

Таким образом, в результате реакций синтеза амидов глутамата и аспартата — соответственно глутамина и аспарагина, удаления аммиака с помощью глутаматдегидрогеназы и образования аммонийных солей в почках в целом происходит детоксикация и выведение около 10% аминного азота катаболизируемых аминокислот, аминов, азотистых оснований и других азотсодержащих компонентов.

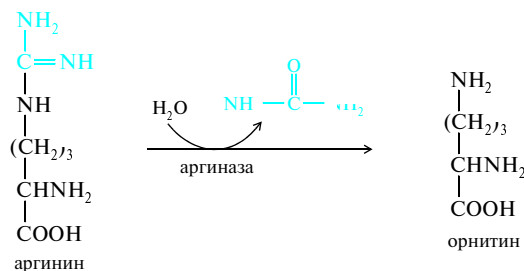
24.7.1. Биосинтез мочевины

Главный путь экскреции азота у млекопитающих происходит в составе мочевины, представляющей собой инертное, водорастворимое, нетоксичное вещество:



Как отмечалось ранее, мочевина синтезируется в печени, затем поступает в кровь и экскретируется почками. На долю мочевины приходится 80—90% выделяемого азота у человека при сбалансированном режиме питания.

Орнитиновый цикл синтеза мочевины. В начале XX в. в печени был открыт гидролитический фермент **аргиназа**, отщепляющий гуанидиновую группу от аминокислоты аргинина. В процессе гидролиза аргинина образуется **мочевина** и аминокислота **орнитин**, не входящая в состав белка:

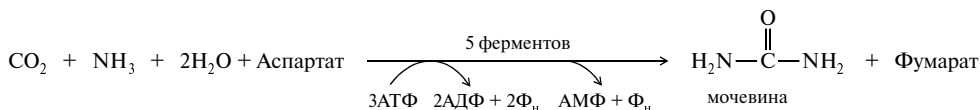


Спустя 30 лет Г. Кребс и К. Гензелейт вывели уравнение реакции синтеза мочевины и предположили существование циклического процесса, в котором орнитин, образующийся при распаде аргинина, вновь регенерируется в аргинин. Дальнейшие исследования подтвердили циклический характер механизма биосинтеза мочевины. Впоследствии были детализированы отдельные реакции цикла, ферментные системы, энергетика и регуляция этого процесса. Так был окончательно расшифрован знаменитый цикл синтеза мочевины, получивший название *орнитинового цикла* Кребса—Гензелейта.

Механизм орнитинового цикла. Цикл мочевинообразования происходит в три этапа, включающие пять реакций, каждая из которых катализируется отдельным ферментом:

- синтез аминокислоты цитруллина (две реакции);
- синтез аминокислоты аргинина (две реакции);
- образование мочевины (одна реакция).

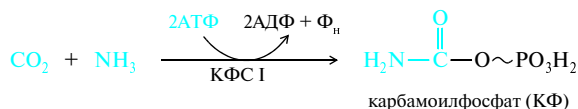
Суммарную реакцию синтеза мочевины можно представить следующим образом:



Из реакции следует, что:

- непосредственных источников азота мочевины — два: аммиак и NH_2 -аспартата, который превращается в безазотистое соединение фумаровую кислоту;
- источником углерода мочевины является CO_2 , который можно представить как акцептор азота;
- процесс сильно эндэргонический: на синтез одной молекулы мочевины затрачивается три молекулы АТФ.

Первый этап — синтез аминокислоты цидуллина протекает в митохондриях печени, где аммиак обезвреживается путем связывания с CO_2 и образования карбоамилфосфата при участии фермента карбоамилфосфатсинтазы I (КФС I):

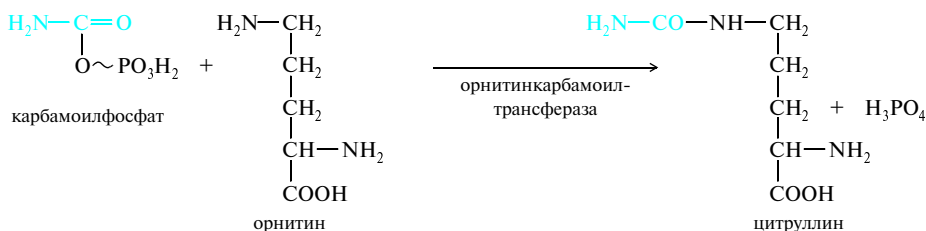


Реакция является эндэргонической и сопровождается гидролизом двух молекул АТФ.

В настоящее время в клетках животных выделены два типа **карбоамилфосфатсинтаз (КФС)**: *аммиак-зависимая* КФС I, локализованная в митохондриях печени и катализирующая синтез КФ в процессе образования мочевины, и *глутамин-зависимая* КФС II, широко распространенный фермент цитозоля клеток различных тканей, катализирующий образование КФ в процессе синтеза пиримидиновых оснований (гл. 26).

КФС I — регуляторный фермент синтеза мочевины, регуляция осуществляется по аллостерическому механизму, ингибитором фермента является **аргинин**. В состав КФС I входит биотин (витамин Н), максимальная активность фермента проявляется в присутствии *N*-ацетилглутаминовой кислоты — активатора КФС I.

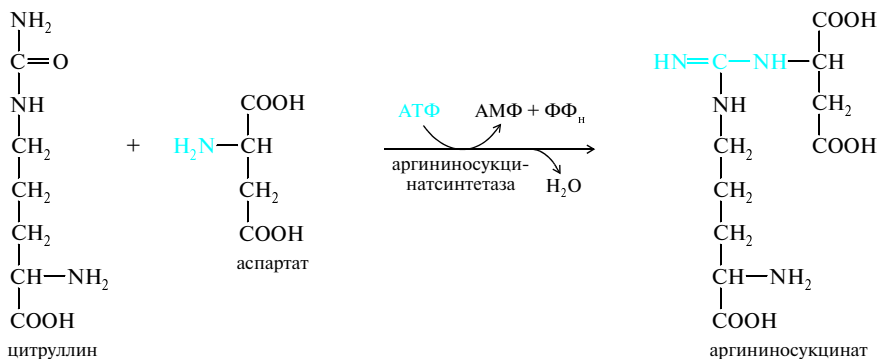
Затем следует реакция конденсации образовавшегося карбоамилфосфата и аминокислоты орнитина, катализируемая ферментом **орнитинкарбоамилтрансферазой (ОКТФ)**; в ходе реакции образуется **цидуллин** и регенерирует молекула неорганического фосфата:



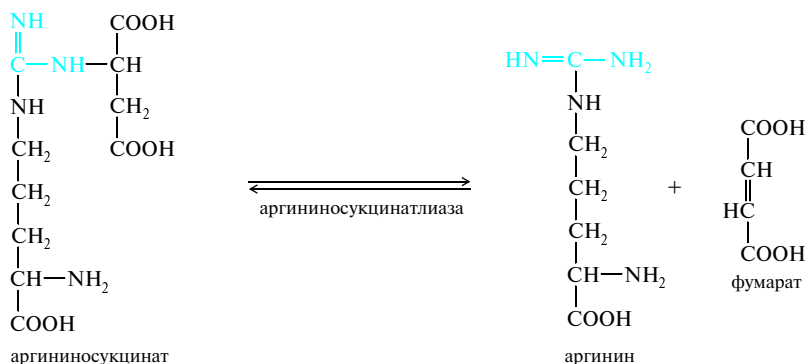
ОКТФ в митохондриях печени ассоциирована с КФС I, что помогает избежать гидролиза карбамоилфосфата и способствует необратимости реакции образования цитруллина. Так же как и первый фермент, ОКТФ выполняет регуляторную функцию в процессе синтеза мочевины.

Второй этап — синтез аргинина из цитруллина и аспартата (донора аминогруппы) протекает уже в цитоплазме печени и включает две реакции.

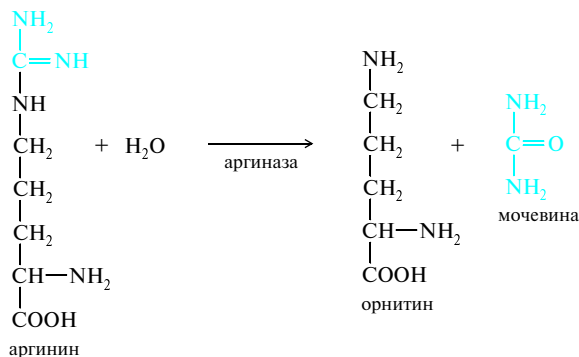
1. Конденсация цитруллина и аспарагиновой кислоты с образованием аргининосукцината катализируется **аргининосукцинатсинтетазой**:



2. Аргининосукцинат распадается на аргинин и фумаровую кислоту при участии фермента аргининосукцинатлиазы:



На третьем этапе аргинин расщепляется на мочевину и орнитин под действием фермента аргиназы:



Необходимо учесть, что аргиназа содержится в печени только тех организмов, которые экскретируют мочевины как основной и конечный продукт азотистого обмена. Очень незначительное количество аргиназы выявлено в почках и мозговой ткани. Аргиназа относится к аллостерическим регуляторным ферментам, ее ингибитором является орнитин и лизин.

Таким образом, орнитиновый цикл мочевинообразования может быть представлен в следующем виде (рис. 24.10).

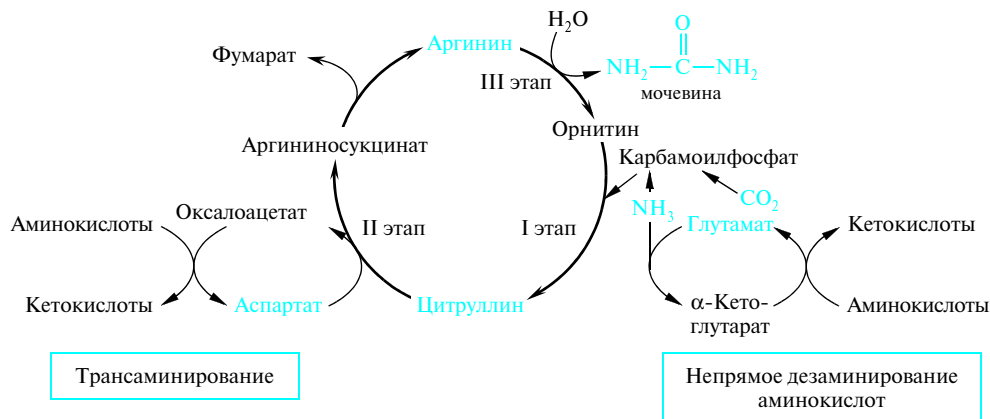


Рис. 24.10. Схема орнитинового цикла синтеза мочевины: обведены пути поступления α -аминогрупп аминокислот в цикл мочевинообразования

Процесс синтеза мочевины является необратимым, поскольку сопровождается значительным уменьшением свободной энергии ($\Delta G^{\circ} = -40$ кДж). Примечательна компартментализация цикла мочевины и связанных с ним реакций. Так, образование аммиака в реакциях трансдезаминирования, его включение в карбамоилфосфат и синтез цитруллина происходят в митохондриальном матриксе, а все последующие реакции (второй и третий этапы) — в цитозоле клетки печени.

Важную роль в синтезе мочевины имеет образование фумарата, поскольку он связывает между собой орнитиновый цикл мочевины с циклом трикарбоновых кислот (рис. 24.11).

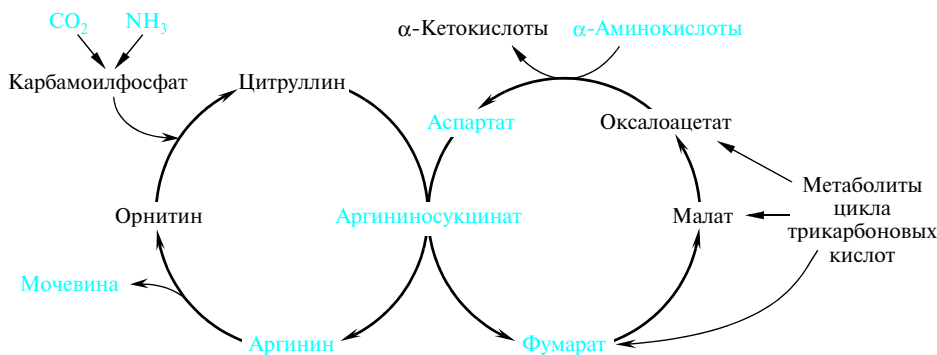


Рис. 24.11. Схема взаимосвязи орнитинового цикла синтеза мочевины и цикла трикарбоновых кислот

Как видно из рис. 24.11, фумарат под действием ферментов цикла трикарбоновых кислот превращается в *оксалоацетат*. Последний имеет ключевое значение, поскольку существует несколько возможных путей его превращения: 1) он может подвергаться трансаминированию в аспартат; 2) превращаться в глюкозу по пути глюконеогенеза; 3) при конденсации оксалоацетата с ацетил-КоА образуется цитрат, т. е. могут инициироваться реакции цикла трикарбоновых кислот. Таким образом, между обоими циклами имеются сложные взаимосвязи, определяющие скорость реакций, зависящую от энергетических потребностей клетки и концентраций конечных продуктов метаболизма.

Нарушения синтеза мочевины. Метаболические нарушения мочевинообразования могут быть обусловлены недостатком любого из пяти ферментов, катализирующих в печени синтез мочевины. Как указывалось ранее, скоростьлимитирующими стадиями являются реакции, катализируемые карбамоилфосфатсинтетазой и орнитинкарбамоилтрансферазой (первый этап), а также аргиназой (третий этап). Все нарушения синтеза мочевины вызывают аммиачное отравление, клиническими симптомами которого являются рвота, нарушение координации движения, раздражительность, сонливость и умственная отсталость. Лечение большинства подобных заболеваний основано прежде всего на ограничении белка в диете; пищу следует принимать небольшими порциями, чтобы избежать быстрого повышения уровня аммиака. Большинство известных заболеваний, приводящих к нарушению мочевинообразования, являются наследственными.

24.8. Биосинтез аминокислот

Важное место в биосинтезе азотсодержащих органических соединений занимают процессы, приводящие к включению в их состав азота. Первичным источником азота органических соединений служит атмосферный азот, составляющий по объему 78% атмосферы. Метаболизм азота в биосфере начинается с восстановления его до аммиака, т. е. с биологической фиксации азота, к рассмотрению которой мы и переходим.

24.8.1. Биологическая фиксация молекулярного азота

Способностью к восстановлению атмосферного азота обладают азотфиксирующие организмы.

К числу таких организмов относятся некоторые виды гетеротрофных бактерий как аэробных рода *Azotobacter*, так и анаэробных рода *Clostridium*, фотосинтезирующие бактерии рода *Rhodospirillum*, некоторые водоросли и, наконец, симбиотические системы, состоящие из бактерий рода *Rhizobium* и некоторых растений, в основном представителей семейства бобовых. В последнем случае ни бактерии, обитающие в корневых клубеньках растения, ни само растение не обладают способностью фиксировать азот, и только их симбиоз приводит к возникновению весьма эффективной и важной «кооперативной» системы фиксации азота.

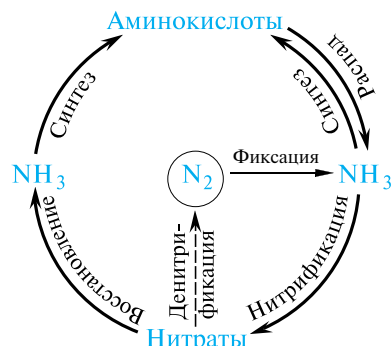


Рис. 24.12. Биологический цикл азота

Первый этап — фиксация атмосферного азота азотфиксирующими организмами является первым этапом цикла азота в природе (рис. 24.12).

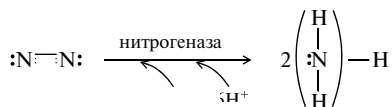
Второй этап — нитрификация аммиака, осуществляемая почвенными микроорганизмами, которые способны использовать NH_3 в качестве источника энергии, окисляя его до NO_2^- и NO_3^- . Важную роль как форма хранения азота в почве играет NO_3^- .

Третий этап — восстановление нитратов растениями и многими микроорганизмами вновь до аммиака при помощи фермента нитроредуктазы.

Четвертый этап — использование аммиака растениями, животными для синтеза аминокислот и построения своих белков.

Аминокислоты, выделяющиеся при распаде белков, возвращаются в почву, а нитрифицирующие бактерии вновь превращают их в NO_2^- и NO_3^- . Другие виды микроорганизмов осуществляют процесс *денитрификации*, превращая NO_2^- в молекулярный азот, который возвращается в атмосферу.

Молекулярные механизмы фиксации азота. Энергия связи $\text{N}\equiv\text{N}$ составляет 940 кДж/моль, т. е. она весьма устойчива к химическим воздействиям, не даром азот в переводе означает *безжизненный*. Ферментативная система, катализирующая реакцию фиксации N_2 , называется *нитрогеназой*:



Таким образом, для фиксации N_2 необходимы сильные восстановители (поток электронов), а также АТФ и Mg^{2+} . Природа доноров электронов различна у разных микроорганизмов. У аэробных бактерий (*Azotobacter*, *Rhizobium*) необходимые для фиксации N_2 восстановители и АТФ образуются в ходе углеводного обмена в реакциях с участием НАДФ. Фотосинтетические бактерии и синезеленые водоросли способны к фотохимическому образованию сильных восстановителей.

Нитрогеназный комплекс состоит из белковых компонентов двух типов:

- молибдоферредоксинин (Mo-Fe-протеин), или собственно нитрогеназа, содержащая четыре идентичные субъединицы, в каждую из которых входит два атома молибдена, негемовое железо, лабильный сульфид; молекулярная масса тетрамера ~200 kDa;
- редуктазный компонент (Fe-белок), или азоферредоксин, имеет молекулярную массу от 50 до 70 kDa, димер также содержит негемовое железо и лабильный сульфид.

Таким образом, оба компонента представляют собой *железопротеины* (Fe—S-белки), в которых железо связано с атомом серы остатка цистеина и неорганическим сульфидом.

Суммарное уравнение фиксации азота имеет следующий вид:



Как было отмечено выше, для превращения $\text{N}_2 \rightarrow \text{NH}_4^+$ под действием нитрогеназного комплекса необходимы мощные восстановители (первичный донор электронов $\text{НАДФН} \cdot \text{H}^+$) и АТФ. У большинства азотфиксирующих организмов непосредственно источником электронов с высоким потенциалом для

этой шестиэлектронной реакции служит ферредоксин (железопротеин типа $\text{Fe}_4\text{—S}_4$, молекулярная масса ~ 10 kDa), который восстанавливается НАДФН и переносит свои электроны на азоферредоксин (редуктазный компонент). Реакция катализируется флаводоксином (ФМН-содержащий фермент).

Ниже приведена возможная последовательность реакций фиксации молекулярного азота (рис. 24.13).

- Восстановленный ферредоксин передает электроны редуктазному комплексу (компонент 2), катализатором этой реакции является флаводоксин.

- АТФ связывается с редуктазой, происходит изменение ее конформации, приводящее к увеличению восстановительной способности (окислительно-восстановительный потенциал снижается с $-0,29$ до $-0,40$ В), что делает редуктазу способной перенести электроны на нитрогеназный компонент.

- Происходит перенос электронов на компонент 1, осуществляется гидролиз АТФ до АДФ и H_3PO_4 , и редуктаза отделяется от нитрогеназного компонента. Наконец, N_2 связывается с нитрогеназным компонентом и восстанавливается до NH_4^+ , энергия, необходимая для этого процесса, обеспечивает гидролизом АТФ.

Следует отметить важную функцию молибдена в процессе азотфиксации. Он способствует формированию функционально активной конформации нитрогеназы, участвует в передаче электронов и связывании азота, известно также, что молибден индуцирует синтез этого комплекса.

Практическое значение. Изучение нитрогеназной системы, механизма ее функционирования имеет большое практическое значение. Ведутся поиски биологических методов, с помощью которых можно было бы сделать азот атмосферы более доступным для практических нужд. Большую часть биологически значимого азота дают клубеньковые бактерии — ризобии в симбиозе с бобовыми растениями. Методами генной инженерии можно интенсифицировать азотфиксацию этих бактерий с целью создания более эффективных симбиотических азотфиксаторов. Клубеньковые бактерии содержат значительное количество генов, отвечающих за азотфиксацию в симбиозе с соответствующим растением. К ним относятся непосредственно гены симбиоза, отвечающие за специфичность связывания бактерии с растением, гены собственно азотфиксации, кодирующие синтез нитрогеназы, а также вспомогательные гены, отвечающие за обеспечение процесса энергией, регуляцию и др. Эти гены локализованы как в плаزمидях, так и в хромосомах ризобий. Стратегия генно-

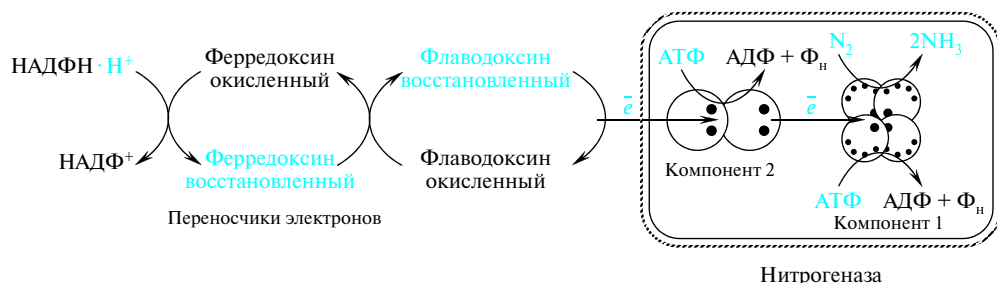


Рис. 24.13. Схема механизма фиксации молекулярного азота

инженерного конструирования эффективных штаммов клубеньковых бактерий заключается в следующем.

- Повышение энергетического потенциала клетки. Нитрогеназный комплекс наряду с азотфиксацией катализирует восстановление протонов до молекулярного водорода. Этот процесс энергозависимый и требует расхода АТФ, достигающего более 30% энергии, используемой для азотфиксации. Фермент гидрогеназа способствует утилизации водорода, направляя поток энергии на процесс азотфиксации. Таким образом, экспрессия гена этого фермента создает благоприятные условия для эффективного усвоения азота.

- Получение рекомбинантных штаммов, устойчивых к действию азотистых соединений, которые ингибируют процесс образования клубеньков.

- Получение штаммов с более активным нитрогеназным комплексом.

Другой вариант генно-инженерного конструирования системы азотфиксации относится непосредственно к растениям. Введение в геном растительной клетки Ti-плазмид агробактерий так называемой ТДНК является хорошо отработанной процедурой (гл. 31). В ТДНК можно без труда вводить гены микробных клеток, в том числе и кодирующие белки азотфиксации.

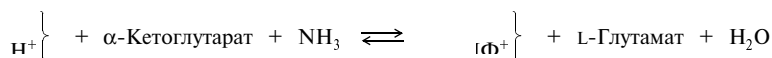
Изучение нитрогеназной системы, механизма ее функционирования имеет большое практическое значение. Ведутся поиски биологических подходов, с помощью которых можно было бы сделать азот атмосферы более доступным для практических нужд.

24.8.2. Первичная ассимиляция аммиака

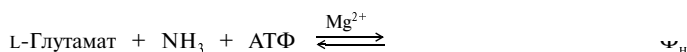
Включение аммиака в органические азотсодержащие соединения может происходить различными путями. Однако у большинства видов живых организмов наиболее важными в количественном отношении являются реакции, катализируемые тремя ферментами — глутаматдегидрогеназой, глутаминсинтетазой и карбамоилфосфатсинтетазой.

Следует отметить, что характеристика указанных ферментов, так же как и химизм катализируемых ими реакций, была изложена ранее в разделах, отражающих роль этих ферментов в метаболических превращениях аминокислот в организме человека и животных (24.7; 24.8). В связи с этим ниже лишь обобщен материал по роли глутаматдегидрогеназной, глутамин- и карбамоилсинтетазной реакций в ассимиляции аммиака и приведено схематическое изображение этих реакций.

Глутаматдегидрогеназа (ГДГ) катализирует образование глутамата из α -кетоглутарата и аммиака при участии НАДН \cdot H^+ или НАДФН \cdot H^+ .



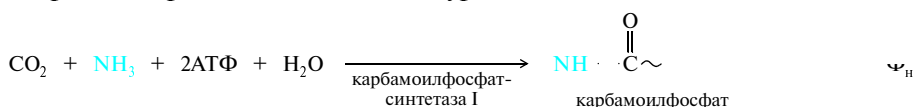
Важной реакцией, приводящей к включению аммиака в органические соединения, является также АТФ-зависимое образование глутамина под действием **глутаминсинтетазы**:



Таким образом, как отмечалось ранее, в организме имеется хорошо функционирующая система, связывающая две молекулы аммиака:



Наконец, большое значение имеет реакция, катализируемая **карбамоилфосфатсинтетазой**, приводящая к включению аммиака в некоторые биосинтетические продукты, например в пиримидины (гл. 26) и мочевины (24.7.1). Стехиометрия этой реакции описывается уравнением



24.8.3. Биосинтез заменимых аминокислот

Человек и животные способны синтезировать только 10 из 20 аминокислот, необходимых для синтеза белка, — это *заменимые аминокислоты* (24.2). Пути биосинтеза этих аминокислот разнообразны, но при этом они обладают одним важным свойством:

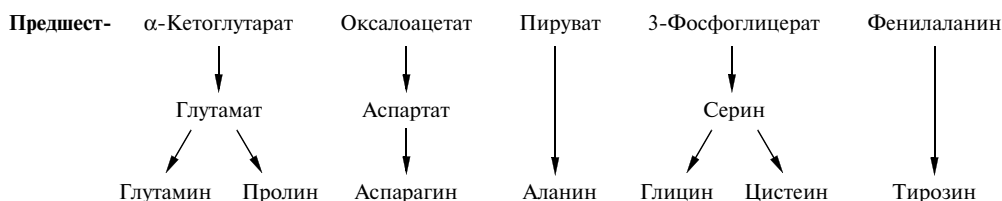
❗ углеродный скелет аминокислот образуется из промежуточных метаболитов гликолиза, пентозофосфатного пути, цикла трикарбоновых кислот.

Синтез заменимых аминокислот осуществляется с помощью весьма простых реакций, протекающих, как правило, в одну или две стадии, которые обеспечивают аминирование углеродного скелета предшественника.

Принято выделять три основных пути биосинтеза аминокислот:

- прямое аминирование α -кетокислот или ненасыщенных органических кислот;
- реакции трансаминирования;
- ферментативные взаимопревращения отдельных аминокислот как заменимых, так и незаменимых.

Предшественники заменимых аминокислот приведены ниже:



На рис. 24.14 приведена схема синтеза девяти заменимых аминокислот, которые могут образовываться из глюкозы. Десятая аминокислота — тирозин — синтезируется путем гидроксирования незаменимой аминокислоты фенилаланина.

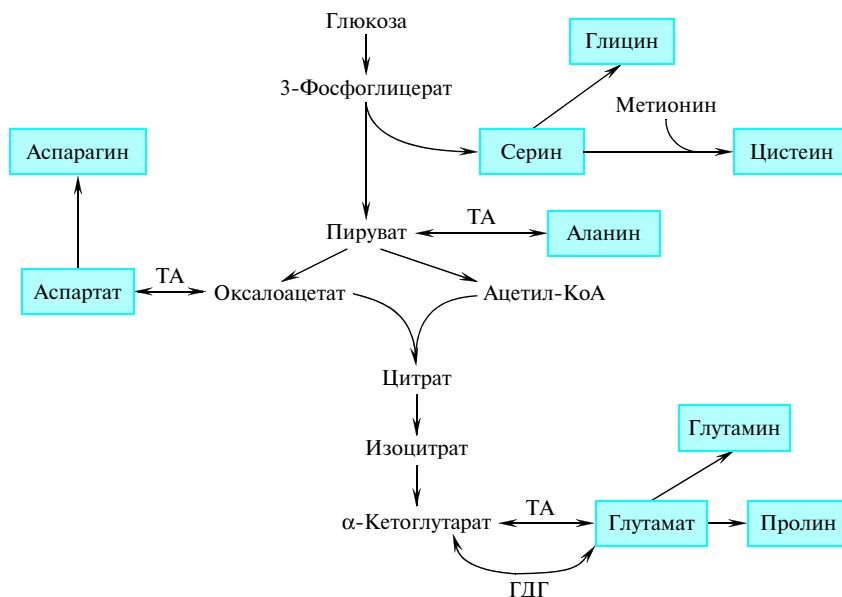
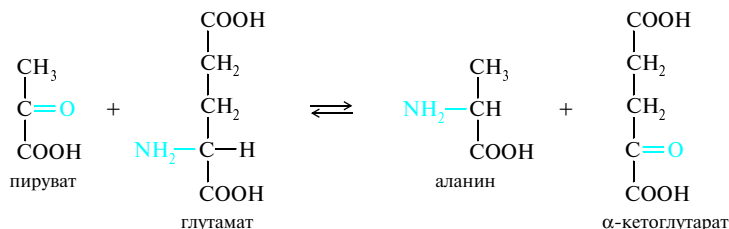


Рис. 24.14. Пути синтеза заменимых аминокислот, образующихся из глюкозы:

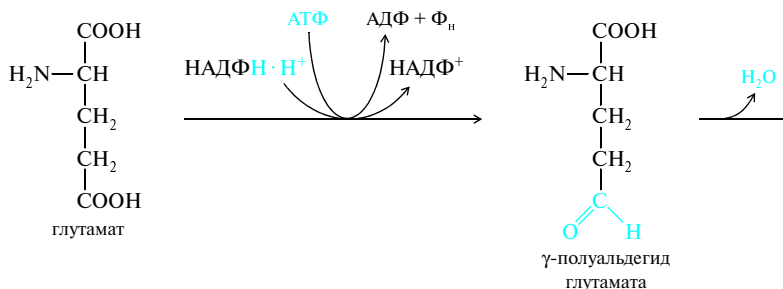
ТА — трансаминирование; ГДГ — глутаматдегидрогеназа

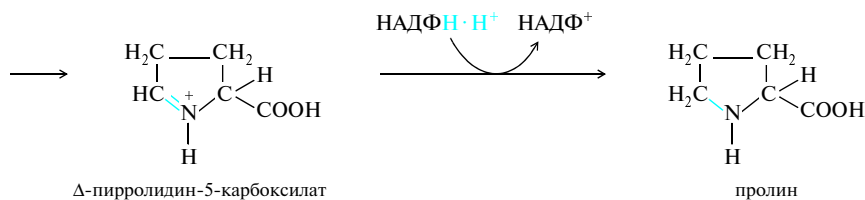
Синтез глутамата из α -кетоглутарата путем восстановительного аминирования уже обсуждался, равно как и реакция аминирования глутамата и превращения его в глутамин.

Аланин синтезируется из пирувата путем трансаминирования, чаще всего с глутаматом. Реакция катализируется ферментом **глутаматпируваттрансаминазой**:

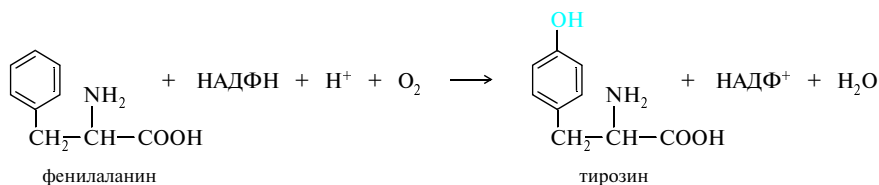


Синтез пролина из глутамата включает следующие превращения: АТФ-зависимое восстановление до γ -полуальдегида; циклизация с отщеплением H_2O и восстановлением НАДФН завершает процесс синтеза пролина:

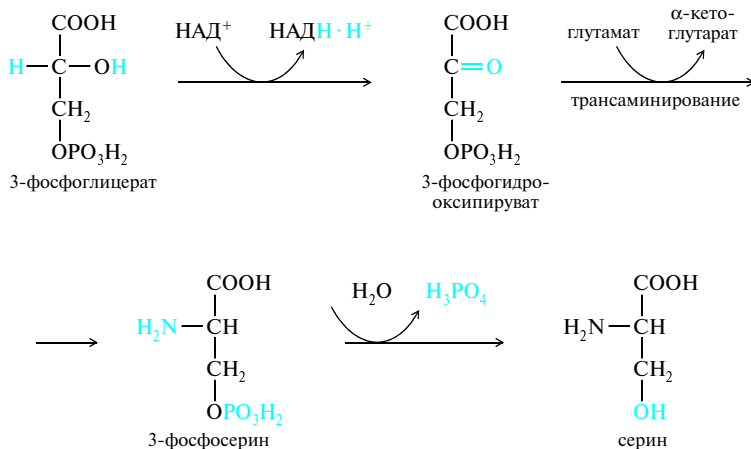




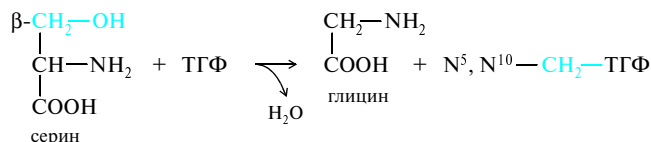
Тирозин, как отмечалось выше, образуется из незаменимой аминокислоты фенилаланина путем ее гидроксирования под действием **оксигеназы (фенилаланин-4-гидроксилаза)** за счет прямого присоединения кислорода:



Серин синтезируется из промежуточного продукта гликолиза — 3-фосфоглицерата. Вначале происходит его окисление до 3-фосфогидропирувата, затем трансаминирование с глутаматом с последующим дефосфорилированием:



Серин является предшественником глицина и цистеина. При синтезе глицина β-углеродный атом серина переносится на тетрагидрофолат (ТГФ) — переносчик одноуглеродных фрагментов:



Эта реакция катализируется ферментом **серингидроксиметилтрансферазой**, протестической группой которого является пиридоксальфосфат.

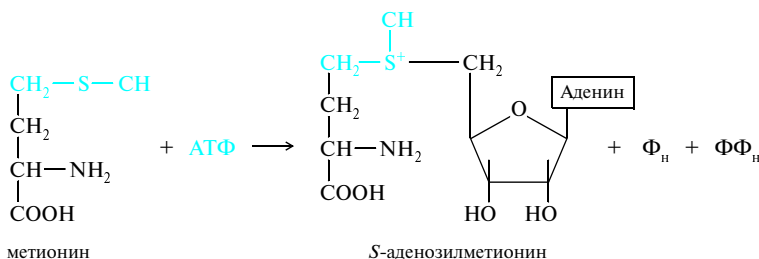
Цистеин синтезируется из серина и гомоцистеина (деметилованного метионина), выступающего донором сульфогруппы. Реакции протекают в две стадии и катализируются также пиридоксальфосфатзависимыми ферментами — **цистатионсинтазой** и **цистатининазой**:



24.8.4. Биосинтез незаменимых аминокислот

Как указывалось ранее, незаменимые аминокислоты не синтезируются в организме человека и животных, их необходимо включать в состав пищи для обеспечения оптимального роста и для поддержания азотистого баланса. Для человека являются незаменимыми следующие аминокислоты: лейцин, изолейцин, валин, лизин, метионин, фенилаланин, триптофан, треонин, гистидин и аргинин. Восемь из перечисленных аминокислот оказались незаменимыми для многих изученных видов высших животных. Что же касается гистидина и аргинина, то эти аминокислоты могут синтезироваться в организме, но в количестве, не обеспечивающем оптимального роста и развития. Иначе обстоит дело со всеми остальными незаменимыми аминокислотами, так как организм совершенно утратил в ходе эволюции способность синтезировать их углеродные цепи, т. е. «незаменимым» у незаменимых аминокислот является их углеродный скелет. Высшие растения и большинство микроорганизмов способны к активному синтезу этих аминокислот. Пути их биосинтеза у различных видов организмов идентичны или близки и гораздо сложнее, чем пути образования заменимых аминокислот. Во многих из этих реакций участвуют такие посредники, как тетрагидрофолиевая кислота (ТГФ), переносчик одноуглеродных фрагментов ($-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2$, $-\text{CHO}$, $-\text{CHNH}$, $-\text{CH}-$) и *S*-аденозилметионин — главный донор метильных групп в реакциях трансметилирования.

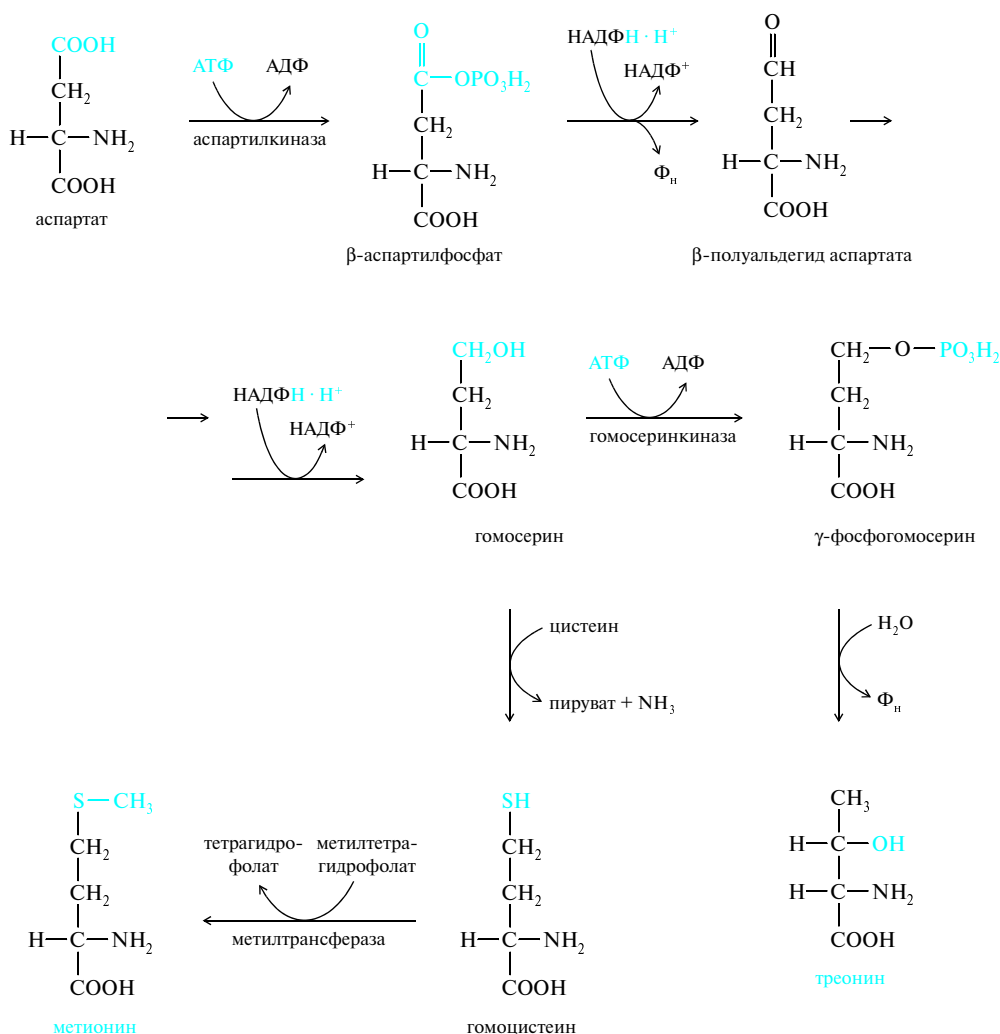
S-аденозилметионин образуется в процессе АТФ-зависимой реакции из метионина:



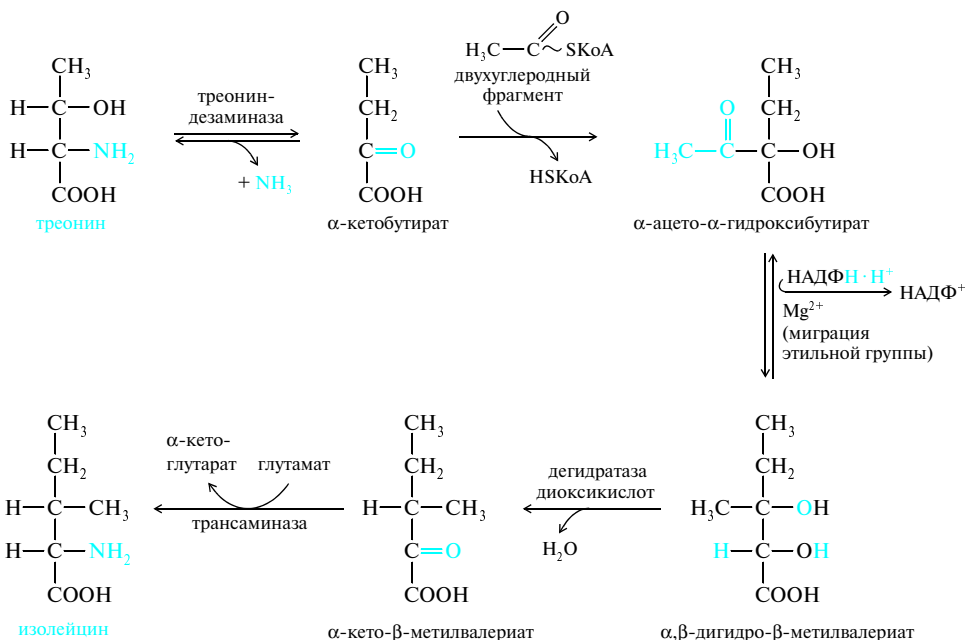
В *S*-аденозилметионине метильная группа метионина активируется под действием положительно заряженного соседнего атома серы, поэтому ее реакционная способность значительно выше, чем у *N*⁵-метилтетрагидрофолата (*N*⁵-метил ТГФ).

Для примера рассмотрим биосинтез метионина, треонина и лизина, которые относятся к так называемому *биосинтетическому семейству аспартата*, т. е. в синтезе всех трех аминокислот в качестве одного из предшественников выступает аспартат.

Метионин и треонин синтезируются из аспартата с участием АТФ, НАДФН · Н⁺ и ряда ферментов, среди которых есть пиридоксальфосфатзависимые, а также ферменты, содержащие в качестве простетической группы восстановленное производное кобаламина (витамин В₁₂). Метильную группу при биосинтезе метионина поставляет *N*⁵-метилтетрагидрофолат. Первые этапы биосинтеза этих аминокислот до образования гомосерина протекают одинаково, затем происходит разветвление путей:

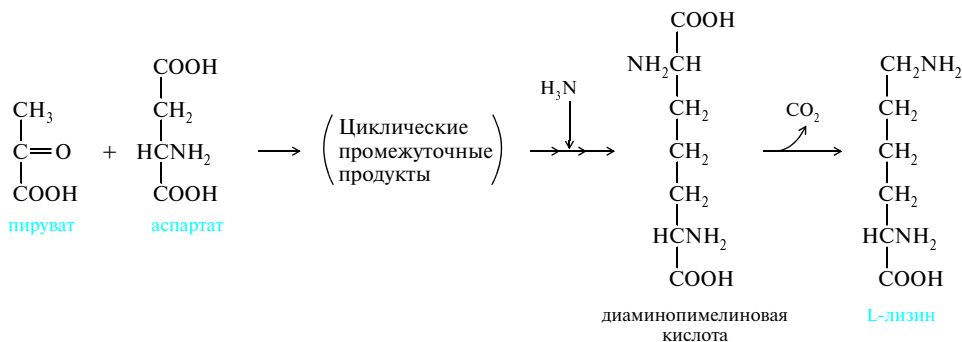


Синтез изолейцина из треонина на первом этапе катализирует фермент **треониндезаминаза**, превращающая треонин в α -кетобутират:



Последнее соединение конденсируется с двухуглеродным фрагментом, в результате чего образуется α -ацето- α -гидроксibuтират — ключевой промежуточный продукт в синтезе изолейцина. Синтез изолейцина включает пять стадий, последним заключительным этапом является реакция трансаминирования с глютаминатом.

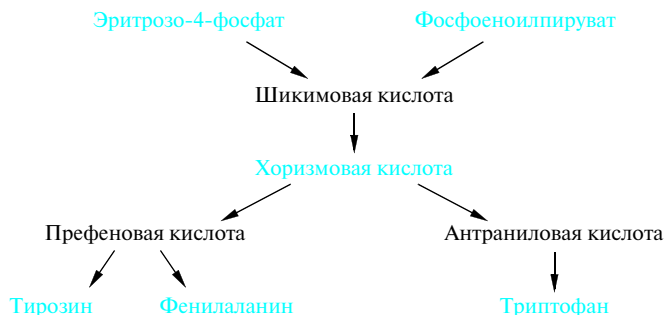
Лизин у бактерий и высших растений синтезируется в результате конденсации аспартата с пируватом через диаминопимелиновую кислоту:



У плесневых грибов лизин образуется из α -кетоглутарата и ацетил-КоА через α -аминоадипиновую кислоту.

Синтез ароматических аминокислот фенилаланина, тирозина и триптофана также идет по общему пути. Предшественниками этих аминокислот являются фосфоеноилпируват (промежуточный метаболит гликолиза) и эритрозо-4-фосфат (промежуточный метаболит пентозофосфатного пути). Процесс начинается с их конденсации и образования семиуглеродного сахара, который

затем циклизуется с образованием 5-дегидрохинной кислоты. Дальнейшие преобразования последней приводят к образованию шикимовой, а затем хоризмовой кислот, на стадии которой происходит разветвление путей синтеза фенилаланина и тирозина с триптофаном:



Следует отметить, что приведенный на схеме путь синтеза тирозина как незаменимой аминокислоты выявлен у микроорганизмов и растений, в организме человека и многих видов высших животных, как отмечалось выше, он синтезируется путем гидроксирования фенилаланина.

Синтез аминокислот с разветвленной цепью (валина и лейцина), так же как и синтез гетероциклической аминокислоты — гистидина, представляет сложные многоступенчатые процессы синтеза α -кетокислот, аминирование осуществляется, как правило, амидным азотом глутамина или α -аминогруппой глутаминовой кислоты.

Несколько упрощает ситуацию то, что все 20 аминокислот, как заменимые, так и незаменимые, могут быть подразделены всего лишь на шесть биосинтетических семейств (рис. 24.15).

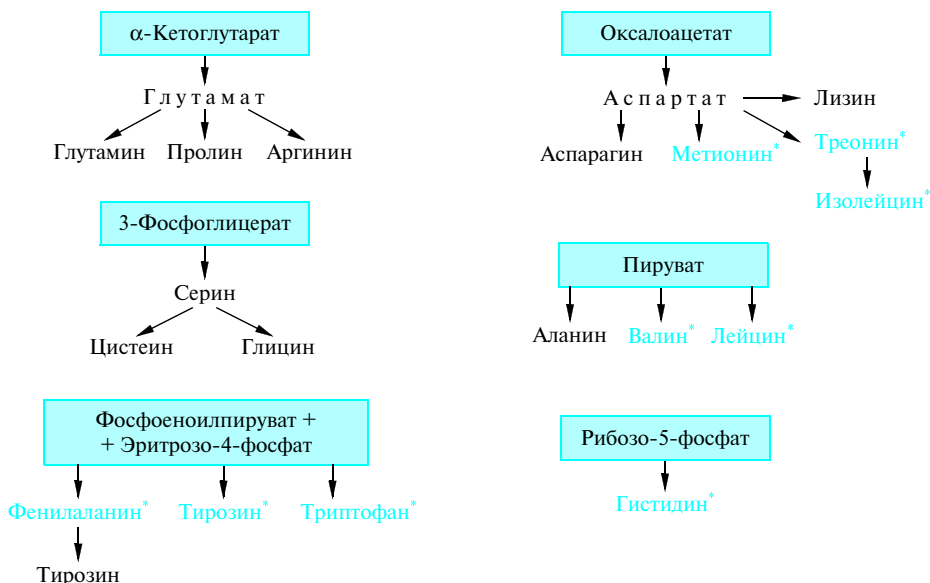


Рис. 24.15. Биосинтетические семейства аминокислот (по Л. Страйеру): выделены цветом метаболические предшественники; незаменимые аминокислоты отмечены звездочками

Становится понятным, почему пищевая потребность в незаменимых аминокислотах зависит от ряда условий, в том числе от наличия или отсутствия в пище метаболически близких соединений. Так, например, снижение потребности в тирозине уменьшает количество требующегося фенилаланина, а глутаминовая кислота подобным же образом может «замещать» аргинин. Потребность в метионине можно компенсировать гомоцистеином с добавлением адекватного количества доноров метильной группы.

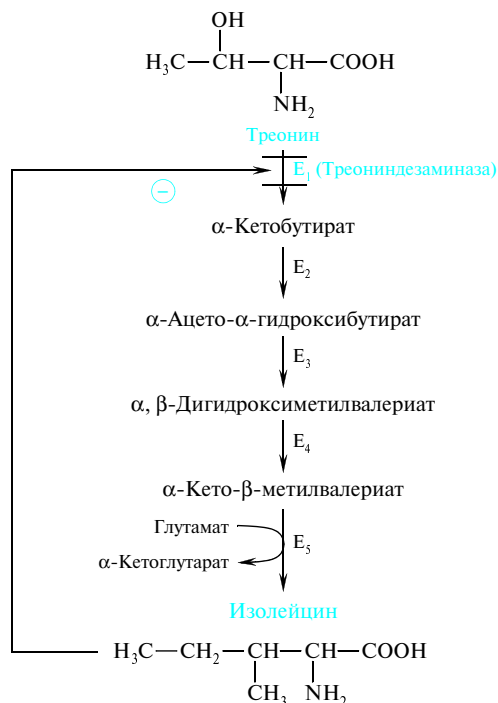
Таким образом, для суждения о «незаменимости» аминокислоты необходимо не просто исходить из указанных выше критериев, но и учитывать другие компоненты пищи. Кроме того, потребность в аминокислотах меняется в зависимости от физиологического состояния человека (например, во время беременности, лактации или болезни), от его возраста и, возможно, от состава его кишечной флоры.

24.8.5. Регуляция биосинтеза аминокислот

Скорость синтеза аминокислот регулируется двумя путями:

- по аллостерическому механизму осуществляется ингибирование регуляторного фермента конечным продуктом, т. е. аминокислотой (ретроингибирование);
- изменением количества фермента, контролируемого концентрацией аминокислоты в клетке.

Классическим примером аллостерического ингибирования может служить ферментная система *E. coli*, катализирующая синтез L-изолейцина из L-треонина, включающая пять ферментативных реакций. Ингибирование по типу обратной связи процесса превращения треонина в изолейцин приведено ниже:



Фермент **треониндезаминаза**, катализирующий первую необратимую реакцию, ингибируется продуктом последней пятой реакции — изолейцином, выступающим в качестве высокоспецифического ингибитора, т. е. ингибирование происходит по принципу обратной связи.

Регуляция биосинтеза аминокислот, основанная на изменении концентрации ферментов, — это генный уровень регуляции. Если данная аминокислота присутствует в достаточном количестве, гены, кодирующие ферменты этого пути, репрессируются, когда же ее концентрация снижается, происходит *индукция генов* и ферменты начинают вырабатываться в большом количестве. Механизм генетической репрессии приведен в главе 29.

В клетках выработались механизмы не только регуляции скорости синтеза отдельных аминокислот, но и координирование их синтеза, поскольку для белкового синтеза аминокислоты нужны в определенных соотношениях. Так, у *E. coli* синтез четырех аминокислот, образующихся из аспартата — лизина, метионина, треонина и изолейцина, регулируется на первом этапе перехода аспартата в аспартилфосфат. Регуляторный фермент аспартилкиназа имеет три *изофермента*, регулируемых независимо друг от друга как по аллостерическому механизму, так и путем изменения скорости их синтеза в клетке.

24.9. Нарушение белкового обмена

Для оценки состояния белкового обмена прежде всего используется информация, полученная при определении белковых компонентов плазмы крови. Белки плазмы крови можно подразделить на три основные группы: альбумины, глобулины и фибриноген. Нормальное содержание альбуминов составляет 40—50 г/л, глобулинов 20—30 г/л, фибриногена 2—4 г/л, общего белка 65—85 г/л.

В клинической практике встречаются состояния, характеризующиеся изменением общего количества белков плазмы: гипопроотеинемия, диспротеинемия, гиперпротеинемия.

Гиперпротеинемия — состояние, сопровождающееся увеличением общего содержания белков плазмы. Различают относительную и абсолютную гиперпротеинемия. Чаще развивается относительная гиперпротеинемия как следствие потери воды организмом, а следовательно, снижение ее содержания в плазме, что ведет к относительному повышению концентрации белков в крови. К таким патологическим состояниям относятся: диарея у детей, рвота при непроходимости верхнего отрезка тонкой кишки, обширные ожоги.

Абсолютная гиперпротеинемия — явление более редкое. Она чаще всего является следствием увеличения синтеза γ -глобулинов, например в результате инфекционного или токсического раздражения ретикуло-эндотелиальной системы. Сюда же можно отнести гиперпротеинемия при миеломной болезни. В сыворотке крови больных миеломной болезнью появляются специфические белки, не существующие в нормальных условиях. Такое состояние принято называть парапротеинемией.

Гипопроотеинемия — уменьшение общего количества белка в плазме, которое происходит главным образом за счет уменьшения количества альбуминов. Выраженная гипопроотеинемия — постоянный и патогенетически важный симптом нефротического синдрома. Содержание общего белка снижается до 30—40 г/л.

Гипопротеинемия наблюдается также при поражении печеночных клеток (острая атрофия печени, токсический гепатит и др.). Кроме того, гипопротеинемия может возникнуть при резко увеличенной проницаемости стенок капилляров при белковой недостаточности (поражение ЖКТ, карцинома и др.).

При многих заболеваниях изменяется соотношение отдельных белковых фракций плазмы крови, хотя общее содержание белка остается в пределах нормы. Такое состояние носит название *диспротеинемии*.

На долю альбуминов приходится более половины от общего количества белков плазмы крови человека. По молекулярной массе альбумины являются самыми легкими белками (70 kDa). Известно, что снижение альбуминов в сыворотке крови ниже 30 г/л приводит к возникновению отеков за счет снижения онкотического давления. Альбумины плазмы выполняют также важную функцию по транспортировке многих биологически активных веществ, а также анионов и катионов, лекарственных веществ и других ксенобиотиков.

Все альбумины плазмы синтезируются гепатоцитами. Известно, что патологический процесс в гепатоцитах резко снижает их синтетические возможности; в результате содержание альбуминов падает, что приводит к снижению онкотического давления, развитию отеков, а затем асцита.

При электрофорезе на бумаге выделяют четыре глобулиновые фракции: α_1 , α_2 , β , и γ . Фракции эти гетерогенны. Известно, что α - и β -глобулиновые фракции содержат липопротеины и гликопротеины, а также белки, связанные с металлами, выполняющими разнообразные функции; γ -глобулиновая фракция в основном представлена гликопротеинами, являющимися антителами.

Повышенное содержание гликопротеинов в плазме наблюдается при туберкулезе, плевритах, пневмониях, остром ревматизме, нефротическом синдроме, диабете, инфаркте миокарда, некоторых злокачественных заболеваниях. У больных ревматизмом увеличение содержания гликопротеинов в сыворотке соответствует тяжести заболевания. Это объясняется деполимеризацией при ревматизме основного вещества соединительной ткани, что приводит к поступлению гликопротеинов в кровь.

Важным диагностическим показателем является величина, характеризующая соотношение в сыворотке крови концентраций альбуминов (А) и глобулинов (Г), — коэффициент А/Г. В норме его величина лежит в интервале значений 1,3—2,0.

Небелковые азотистые компоненты крови. Содержание небелкового азота в цельной крови и плазме почти одинаково и составляет в крови 15—25 ммоль/л. Небелковый азот крови включает азот мочевины (50% от общего количества небелкового азота), аминокислот (25,0%), 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.

При ряде патологий уровень небелкового азота в крови повышается. Это состояние носит название *азотемия*. В зависимости от причин, обуславливающих азотемию, она подразделяется на продукционную и ретенционную.

Продукционная азотемия наблюдается при избыточном поступлении азотсодержащих продуктов в кровь вследствие усиленного распада тканевых белков.

Ретенционная азотемия наступает за счет недостаточного выделения с мочой азотсодержащих продуктов при нормальном их поступлении в кровяное русло. Она, в свою очередь, может быть почечной и внепочечной.

Главным конечным продуктом обмена белков в организме является мочевины. Нормальное содержание мочевины в крови — 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, содержание которого в 2,14 раза ниже концентрации мочевины) является признаком нарушения функции почек средней тяжести, до 33 ммоль/л — тяжелым и свыше 50 ммоль/л — очень тяжелым нарушением с неблагоприятным прогнозом. Количество мочевины в крови и моче понижено при циррозах печени, острой желтой атрофии, отравлениях фосфором, мышьяком и другими ядами, поражающими паренхиму печени.

О нарушении обмена аминокислот в организме судят не только по количественному и качественному составу продуктов их обмена в крови и моче, но и по уровню свободных аминокислот в биологических жидкостях организма.

Часть свободных аминокислот попадает в кровь в процессе пищеварения, другая — эндогенная — часть образуется в результате распада белков тканей. В сыворотке содержание свободных аминокислот составляет 2,7—4,6 ммоль/л. Аминокислотный спектр сыворотки соответствует аминокислотному спектру 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 превалирования катаболических или анаболических процессов в организме, сопровождающих ряд патологических состояний.

Увеличение 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, что связано с усиленным распадом белков тканей.

Повышение содержания аминокислот в моче (*гипераминоацидурия*) наблюдается при заболеваниях паренхимы печени, что связано с нарушением в печени процессов дезаминирования и трансаминирования, 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.

Известны многие *наследственные заболевания*, вызванные нарушением обмена белков и аминокислот, приводящие к нарушению развития и роста детей, тяжелым поражениям функций головного мозга. Однако до настоящего времени причина торможения психической деятельности при этих заболеваниях окончательно не выяснена.

Ниже приведены примеры подобных нарушений.

Цистинурия относится к довольно распространенным наследственным заболеваниям, метаболический дефект которой выражается в общей аминокаци-

дурии и экскреции с мочой в 50 раз выше нормы в основном четырех аминокислот: цистина, лизина, аргинина и орнитина. У людей с цистинурией наблюдается тенденция к образованию в организме камней. Эта врожденная аномалия обмена связана с полным блокированием реабсорбции цистина и частичным нарушением всасывания трех других аминокислот в почках.

При другой наследственной патологии — *болезни Вильсона*, помимо общей гипераминоацидурии, отмечается снижение концентрации медьсодержащего белка — церулоплазмينا — в сыворотке крови и отложение меди в мозге, печени, почках. Генетический дефект связан с нарушением синтеза церулоплазмينا. Возможно, свободная медь образует комплексы с аминокислотами, которые не всасываются в почечных канальцах.

Фенилкетонурия развивается как результат потери способности организма синтезировать фенилаланингидроксилазу, катализирующую превращение фенилаланина в тирозин. Характерной особенностью болезни является резкое замедление умственного развития ребенка, а также экскреция с мочой больших количеств фенилпировиноградной кислоты (до 1—2 г в сутки) и фенилацетилглутамина (до 2—3 г). Развитие болезни можно предотвратить, если значительно снизить или исключить прием фенилаланина с пищей с самого рождения ребенка.

Алкаптонурия характеризуется экскрецией с мочой больших количеств (до 0,5 г в сутки) гомогентизиновой кислоты, развиваются охроноз, отложение пигмента в тканях. Метаболический дефект при алкаптонурии связан с врожденным отсутствием в печени и почках оксидазы гомогентизиновой кислоты.

Альбинизм характеризуется врожденным отсутствием пигментов в коже, волосах и сетчатке. Метаболический дефект связан с нарушением способности синтезировать тирозиназу — фермент, катализирующий окисление тирозина в диоксифенилаланин и диоксифенилаланинхинон, которые являются предшественниками пигмента меланина.

Таким образом, при наследственных заболеваниях первичные нарушения обмена отдельных аминокислот чаще всего связаны с синтезом дефектных ферментных белков или их полным отсутствием (ферментопатии, или энзимопатии). Идентификация химической реакции или ферментативной системы, нарушение функции которой является первопричиной развития тяжелого наследственного заболевания, представляет не только большой теоретический интерес, но и играет решающую роль в диагностике и терапии этих болезней.

Глава 25

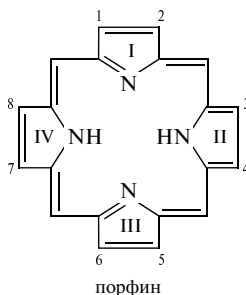
ОБМЕН ГЕМОПРОТЕИНОВ

25.1. Общая характеристика

Гемопротеины относятся к сложным белкам, в состав простетической группы которых входят ион металла и порфириновое ядро. Порфиринсодержащие соединения занимают центральное положение в различных процессах жизнедеятельности, например, хлорофилл (магниевый комплекс замещенного

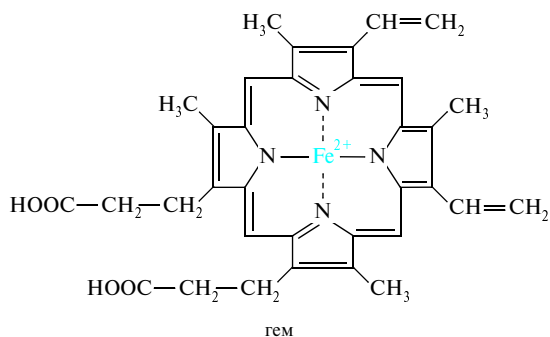
порфирина) принимает участие в фотосинтезе, т. е. в процессе, от которого в конечном счете зависит использование солнечной энергии всеми организмами (гл. 16). В настоящей главе рассмотрен обмен сложных белков, небелковый компонент которых представлен производным порфиринов, а в качестве комплексообразующего металла — железо.

Родоначальником ряда порфиринов можно считать тетрапиррольный порфирин, из которого получают все остальные порфирины, замещая водородные атомы в положениях 1—8 различными радикалами, чаще всего метильной, этильной и винильной группами или остатком пропионовой кислоты.



Классификация порфиринов исходит из типа заместителей его боковых цепей. Наиболее важными считаются следующие классы: **этиопорфирины**, которые имеют в качестве заместителей четыре метильные и четыре этильные группы; **мезопорфирины** с четырьмя метильными, двумя этильными и двумя карбоксивинильными группами; **протопорфирины**, содержащие четыре метильные, две винильные и две карбоксиэтильные группы, и **копропорфирины** с четырьмя метильными и четырьмя карбоксиэтильными группами.

Порфирины образуют комплексы с ионами многих металлов, таких, как магний, железо, цинк, никель, кобальт, медь и серебро. В таких комплексах ион металла находится в центре порфиринового ядра, причем его четыре лигандных места заняты атомами азота пиррола. Наиболее важное биохимическое значение имеют комплексы, образованные железом и протопорфирином IX (гл. 3). Комплекс, в котором железо находится в двухвалентном состоянии, называется *гемом*, а комплекс с трехвалентным железом — *гемин*.



Гемоглобин осуществляет перенос кислорода от легких к различным органам, в которых протекают реакции окисления. Молекула гемоглобина состоит

из двух α - и двух β -полипептидных цепей и четырех гемов, соединенных слабыми связями с глобиновой частью (гл. 3). Гем входит в состав некоторых других белков, по своей биохимической функции сходных с гемоглобином. К ним относится миоглобин — кислородсодержащий белок мышц, состоящий из одной полипептидной цепи, сходной по структуре с субъединицей гемоглобина; *цитохромы* — соединения, функционирующие как переносчики электронов в окислительно-восстановительных реакциях (гл. 15); *каталаза* и *пероксидаза*, катализирующие превращение пероксида водорода в молекулу воды.

Обмен железопорфиринов будет рассмотрен на примере распада и синтеза гемоглобина — наиболее важного и хорошо изученного белка этой группы. На рис. 25.1 представлена сводная схема последовательных стадий деградации и

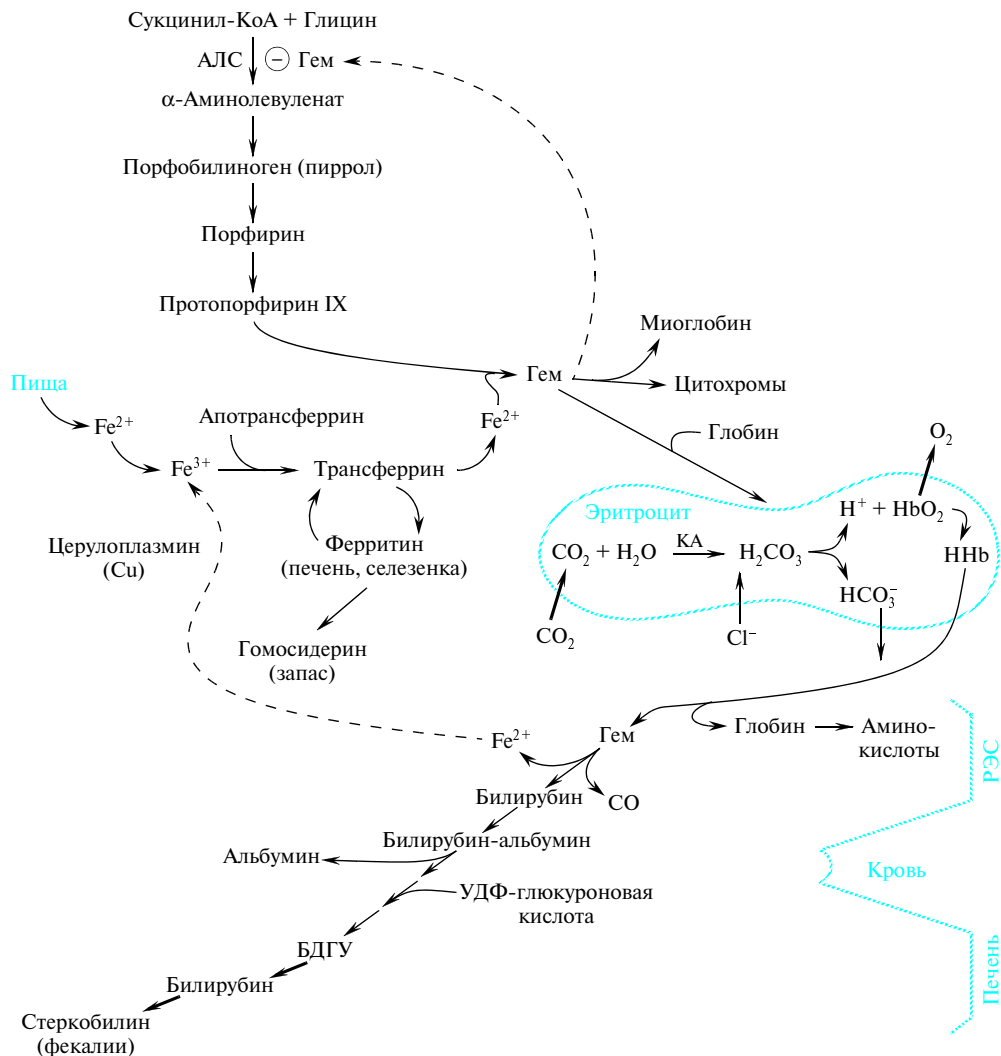


Рис. 25.1. Синтез и деградация гемоглобина:

РЭС — ретикулоэндотелиальная система; Нб — гемоглобин; АЛС — аминолевулинсинтаза; КА — карбоангидраза; БДГУ — билирубиндиглюкуронид

синтеза гемоглобина, а также отражены его дыхательная функция и образование в эритроцитах крови оксигемоглобина.

В процессе катаболизма гемоглобина его белковый компонент (глобин) гидролизуеться до аминокислот; железо гема включается в общий пул железа в организме и может вновь использоваться. Вместе с тем свободная от железа порфириновая часть гема необратимо расщепляется до образования желчных пигментов, которые выводятся из организма с содержимым толстого кишечника. Таким образом, гем и продукты его распада не могут реутилизироваться в процессе синтеза порфириновой структуры гемопротейнов. Синтез сложного тетрапиррольного комплекса происходит в организме *de novo* из простых предшественников.

25.2. Биосинтез гемоглобина

Гемоглобин является основным компонентом эритроцитов — красных кровяных клеток крови и определяет их специализированные функции — связывать и переносить кислород от легких к тканям, а углекислый газ — в обратном направлении. В одном эритроците содержится около миллиона молекул гемоглобина, общее содержание гемоглобина в крови составляет 13—16 г/дл.

В организме человека образуется 160 млн эритроцитов в минуту; они циркулируют в крови 110—120 дней и затем разрушаются. Зрелые эритроциты — это *безъядерные клетки*, не содержащие мРНК, рибосом и митохондрий; основным энергетическим процессом в них является гликолиз. В зрелом эритроците активен пентозофосфатный путь, в процессе которого происходит восстановление НАДФН. Синтез гемоглобина происходит в процессе развития эритроцитов из стволовых клеток костного мозга, на стадии образования незрелой безъядерной красной клетки — *ретикулоцита*, которая поступает в кровь. Ретикулоциты содержат много глобиновой мРНК и активно синтезируют гемоглобин, пока клетка в процессе созревания не превращается в эритроцит, утрачивающий мРНК, рибосомы и митохондрии. В результате зрелый эритроцит обладает упрощенным метаболизмом, нацеленным на сохранение целостности мембраны и предотвращение окисления гемоглобина. Эритропоэз стимулируется белком **эритропоэтином**, вырабатываемым в мозговом слое почек. При гипоксии выработка эритропоэтина увеличивается, а следовательно, активируется эритропоэз, т. е. регуляция уровня красных кровяных клеток осуществляется автоматически и обратно пропорциональна парциальному давлению кислорода.

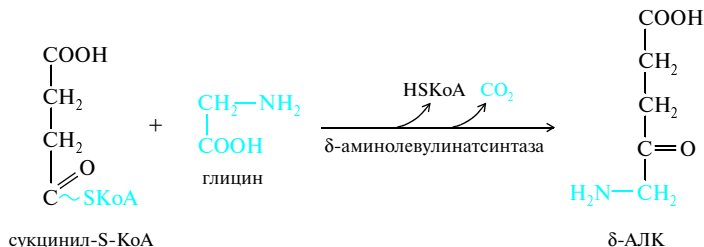
25.2.1. Биосинтез гема

В настоящее время выяснены основные реакции образования тетрапирролов, являющихся непосредственными предшественниками гема и хлорофилла. С помощью меченых атомов было показано, что в синтезе гема в бесклеточных экстрактах эритроцитов птиц принимают участие два исходных реагента: аминокислота глицин и сукцинил-КоА (или активная форма янтарной кислоты) — промежуточный метаболит цикла трикарбоновых кислот. Ис-

точником четырех атомов азота и восьми атомов углерода тетрапиррольного кольца является глицин, остальные атомы углерода образуются из сукцинил-КоА.

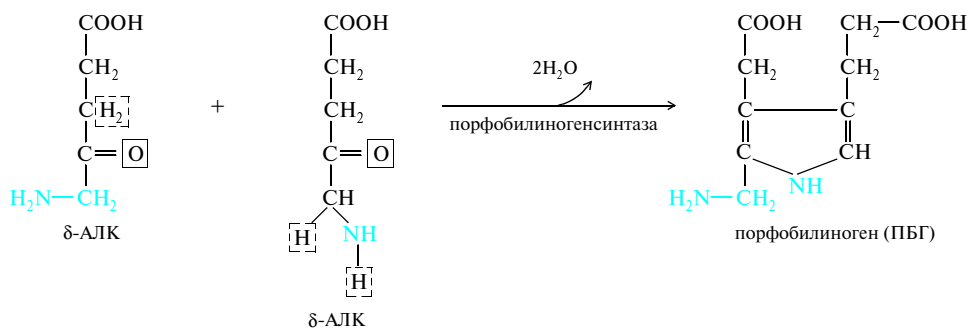
Последовательность химических реакций синтеза тетрапирролов в организме животных можно условно разделить на следующие стадии.

В первой стадии, протекающей в два этапа, сукцинил-КоА взаимодействует с глицином с образованием δ -аминолевулиновой кислоты (δ -АЛК):



Эту стадию катализирует пиридоксальфосфатзависимый фермент **δ -аминолевулинатсинтаза** — регуляторный фермент синтеза тетрапирролов во всех живых организмах.

Во второй стадии имеет место межмолекулярная конденсация двух молекул δ -аминолевулиновой кислоты с образованием порфибилиногена (ПБГ), замещенного пиррола:



Фермент, катализирующий эту стадию, порфибилиногенсинтаза также является регуляторным ферментом, ингибируемым конечными продуктами синтеза.

Следующая стадия сводится к конденсации четырех монопиррольных молекул порфибилиногена с образованием тетрапиррольного комплекса протопорфирина IX, являющегося непосредственным предшественником гема.

Превращение порфибилиногена в порфирин представляет сложный многостадийный процесс, многие детали которого еще не ясны (рис. 25.2). Как показано на рис. 25.2, под действием двух ферментов — уропорфириноген I-синтазы (УПГ I-синтаза) и уропорфириноген III-косинтазы (УПГ III-косинтаза) синтезируется специфический изомер циклического тетрапиррола, называемый **уропорфириногеном III**. После этого в результате химической модификации боковых радикалов, окислительно-восстановительных превращений образуются разные виды порфиринов. Следует отметить, что порфириногены

бесцветны по сравнению с окрашенными порфиринами, так как у них нет сопряженной системы и они содержат шесть дополнительных атомов водорода.

На заключительной стадии протопорфирин IX присоединяет молекулу железа при участии **гемсинтетазы** (или **феррохелатазы**) и образуется гем. Источником железа в этой реакции является белок **ферритин**, который депонирует железо; в наибольших количествах он откладывается в клетках костного мозга, печени, селезенки.

Ферритин — это крупный олигомерный белок, состоящий из 24 идентичных протомеров, молекулярная масса ~450 kDa. Протомеры ферритина образуют сферическую структуру, внутри которой имеется полость. Ионы железа через каналы в белковой «оболочке» проникают в полость, образуя «железное» ядро в молекуле ферритина. Избыток железа в ретикулоэндотелиальных клетках печени и селезенки может депонироваться в **гемосидерине**, который в отличие от ферритина является водонерастворимым железосодержащим комплексом. Часть железа, необходимого для синтеза гема, компенсируется его поступлением с пищей. Перенос железа с током крови к местам депонирования и использования осуществляется водорастворимым белком плазмы крови **трансферрином**. Он имеет два центра связывания железа, которое в комплексе с белками находится в трехвалентном состоянии, однако при переходе железа от одного белка к другому его валентность каждый раз меняется дважды: Fe^{3+} , Fe^{2+} и опять Fe^{3+} . В окислительно-восстановительных превращениях железа принимают участие, по-видимому, сами белки-переносчики, а также медьсодержащий белок **церулоплазмин**, присутствующий в сыворотке крови (см. рис. 25.1). Полагают, что изменение валентности железа необходимо для его освобождения из соединения с одним белком и переноса на другой.

Следует обратить внимание, что реакции синтеза гема протекают как в цитозоле клетки, так и в митохондриях. Так, аминолевулинсинтетаза находится в митохондриях, где и начинается синтез гема, синтез же порфобилиногена и все последующие превращения до образования копропорфириногена III протекают в цитозоле клеток. Копропорфириноген III далее поступает в митохондрии, где и завершается синтез гема.

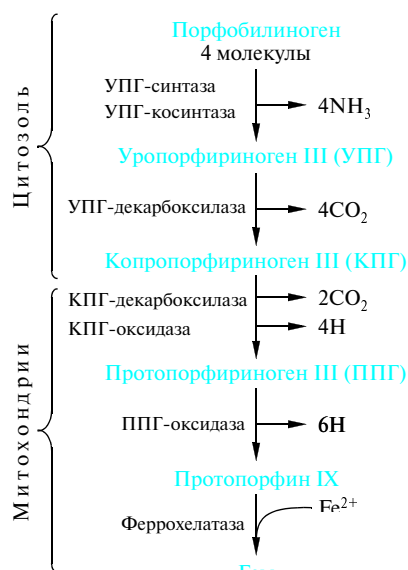
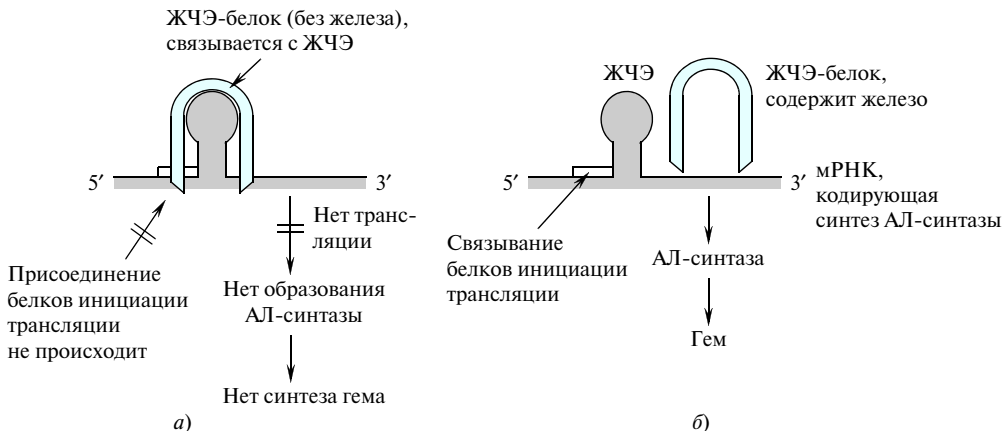


Рис. 25.2. Основные стадии синтеза гема из порфобилиногена

25.2.2. Регуляция биосинтеза гема

Основной скоростьюлимитирующей реакцией синтеза гема является конденсация глицина и сукцинил-КоА, катализируемая аминолевулинатсинтазой (АЛ-синтаза). Установлено, что в ретикулоцитах регуляция осуществляется на уровне синтеза **АЛ-синтазы** на стадии инициации трансляции. При этом



транскрипции (рис. 25.4). Главный регуляторный эффект гема состоит в том, что синтез АЛ-синтазы значительно ускоряется в отсутствие гема и замедляется в его присутствии.

Многие вещества, применяемые в настоящее время, например инсектициды, канцерогенные и фармацевтические препараты, активируют синтез АЛ-синтазы в печени, так как в процессе метаболизма этих соединений возрастает потребление гема системой цитохрома Р-450, в результате чего внутриклеточная концентрация гема снижается. Это, в свою очередь, вызывает депрессию синтеза АЛ-синтазы и повышение скорости синтеза гема.

В эритропоэтических тканях активность АЛ-синтазы возрастает при гипоксии, в то время как в печени гипоксия не оказывает влияния на активность этого фермента. Синтез апобелка гемоглобина — α - и β -цепей глобина происходит только в присутствии гема. В опытах с ретикулоцитами было показано, что в отсутствие гема один из факторов инициаций биосинтеза белка фосфорилируется, что приводит к остановке трансляции α - и β -цепей глобина. Таким образом, оба компонента — гем и глобин — должны образовываться в относительно одинаковых количествах, для чего и существует координирующая регуляторная связь.

25.3. Распад гемоглобина

Срок жизни эритроцитов 110—120 дней; ежедневно из разрушившихся эритроцитов освобождается 8—9 г гемоглобина. При разрушении гемоглобина его белковая часть (глобин) гидролизуеться до аминокислот, которые могут использоваться в белковом синтезе; железо гема включается в общий пул и также может снова использоваться. Порфириновая часть гема (без железа) деградирует необратимо до образования желчных пигментов, которые выводятся из организма.

Состарившиеся эритроциты фагоцитируются макрофагами в основном в селезенке, а также в костном мозге и печени. Гемоглобин, освобождающийся из эритроцитов в крови, связывается с гаптоглобином (α_2 -глобулин плазмы крови) и транспортируется в клетки ретикулоэндотелиальной системы (РЭС), главным образом селезенки.

25.3.1. Образование желчных пигментов

Первой реакцией распада гемоглобина является разрыв α -метиновой связи между пиррольными кольцами I и II, окисление метиленовой группы до СО и раскрытие тетрапиррольного кольца. Образуется зеленый пигмент *вердоглобин*, в котором еще содержится железо и глобин. Эта реакция катализируется сложной ферментативной системой — **гемоксигеназой**, дециклизирующей в присутствии НАДФН и O_2 . Далее, по-видимому, спонтанно происходит отделение от вердоглобина железа (Fe^{3+}), белкового компонента и образование первого желчного пигмента — **биливердина**, окрашенного в зеленый цвет (рис. 25.5).

У млекопитающих НАДФН-зависимая **биливердинредуктаза** восстанавливает метенильный мостик между пирролами IV и III в метиленовую группу, в результате чего образуется желтый пигмент **билирубин**.

Метаболизм билирубина и его элиминация из организма включают три процесса:

- транспорт билирубина кровью и поступление в паренхимальные клетки печени;
- детоксикация билирубина в ЭПР клеток печени;
- секреция билирубина и выведение из организма.

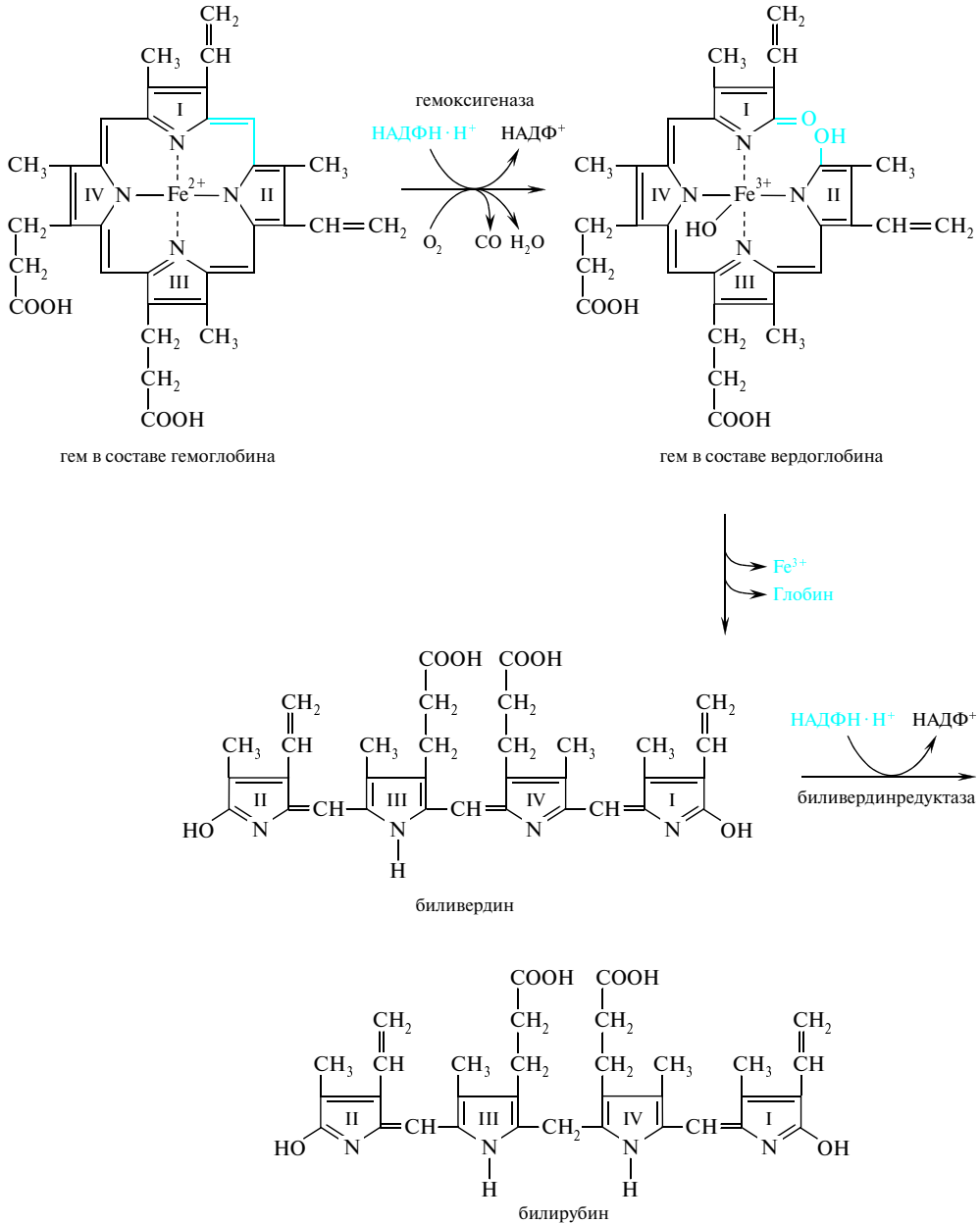


Рис. 25.5. Образование желчных пигментов в ретикулоэндотелиальных клетках

25.3.2. Транспорт билирубина кровью

Билирубин слабо растворим в водной среде, и, поступив в кровь, он специфически связывается с альбуминами плазмы крови, молекулы которых имеют два центра связывания билирубина — высоко- и низкоаффинный. Билирубин в комплексе с альбуминами носит название «непрямого» билирубина, поскольку для его определения в крови необходимо предварительное осаждение белков спиртом. После этого билирубин вступает во взаимодействие с диазореактивом Эрлиха.

В крови взрослого здорового человека содержится относительно постоянное количество билирубина. При этом около 75% его приходится на долю «непрямого» билирубина. На поверхности клеток печени происходит отделение билирубина от альбумина и по механизму *облегченной диффузии* при участии переносчика билирубин поглощается клетками печени.

25.3.3. Детоксикация билирубина в печени

Свободный билирубин, поступая с током крови в печень, подвергается обезвреживанию путем связывания с глюкуроновой кислотой. Этот процесс, приводящий к повышению растворимости в воде билирубина, называется *конъюгацией*, которая протекает в гладком ЭПР и осуществляется специальным набором ферментов. В нем принимает участие фермент **УДФ-глюкуронилтрансфераза** и УДФ-глюкуроновая кислота, являющаяся донором глюкуроновой кислоты. В этой реакции к билирубину последовательно присоединяет-

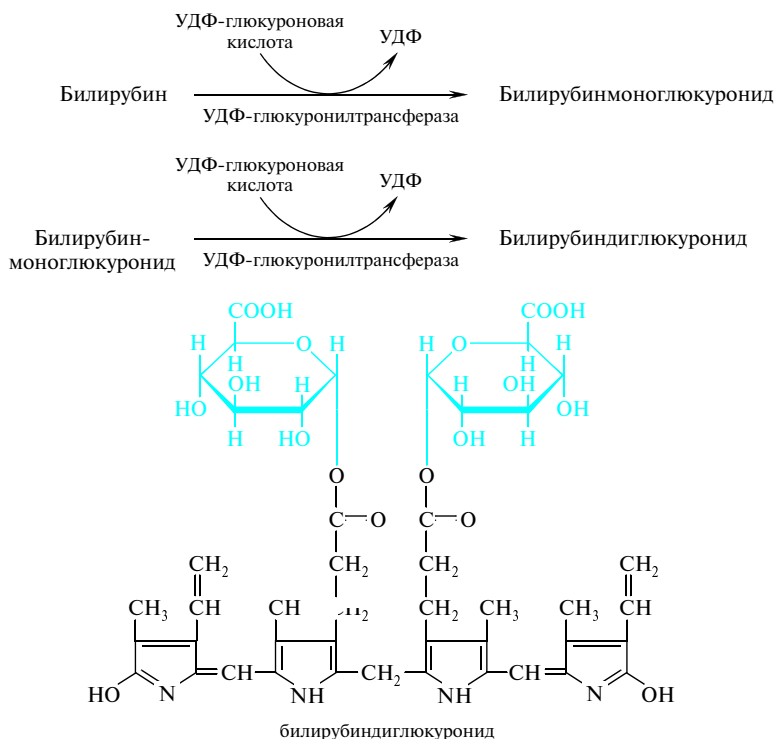


Рис. 25.6. Конъюгирование билирубина с глюкуроновой кислотой

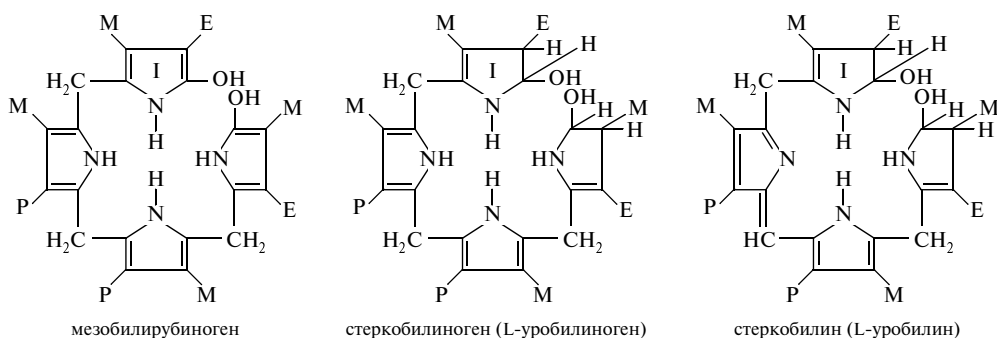
ся два остатка глюкуроновой кислоты с образованием комплекса — билирубиндиглюкуронида, хорошо растворимого в воде и дающего прямую реакцию с диазореактивом («прямой» билирубин) (рис. 25.6).

25.3.4. Секретия билирубина в кишечник

У млекопитающих билирубин секретируется в желчь преимущественно в форме билирубиндиглюкоурида (свыше 97%). Часть «прямого» билирубина из печени всасывается в кровь и составляет $\approx 20\text{—}25\%$ от его общего содержания в крови. Транспорт конъюгированного билирубина из печени в желчь против весьма высокого градиента концентрации осуществляется с помощью механизма *активного транспорта*, что, вероятно, является скоростным лимитирующей стадией всего процесса метаболизма билирубина в печени.

Вместе с желчью диглюкоурид билирубина экскретируется в кишечник, где подвергается модификации под действием ферментных систем микроорганизмов кишечника. Вначале бактериальные β -глюкуронидазы отщепляют глюкуроновую кислоту; освободившийся билирубин подвергается восстановлению кишечной микрофлорой до бесцветных тетрапиррольных соединений, называемых *уробилиногенами*. К ним относятся **мезобилирубиноген** и **стеркобилиноген** (или L-уробилиноген). При этом небольшая часть мезобилирубиногена поступает через воротную вену в печень, где подвергается разрушению с образованием моно- и дипиррольных соединений. Кроме того, очень небольшая часть стеркобилиногена после всасывания через систему геморроидальных вен попадает в большой круг кровообращения, минуя печень, и в таком виде выводится почками с мочой.

Основное количество стеркобилиногена из тонкого кишечника поступает в толстый кишечник, где восстанавливается до стеркобилина (окрашенные соединения) и выводится с фекалиями. Ежедневно из организма взрослого человека выделяется 200—300 мг желчных пигментов с калом и 1—2 мг — с мочой. Ниже приведена структура желчных пигментов, где М — метильная, Е — этильная группы, Р — пропионовая кислота:



25.3.5. Нарушение обмена гемоглобина

Гипербилирубинемия. Содержание билирубина в крови здорового взрослого человека равно 1,7—17 мкмоль/л. В тех случаях, когда концентрация билирубина превышает верхнюю границу (17 мкмоль/л), говорят о *гипербилирубинемии*.

Если желчные пигменты накапливаются в крови и их концентрация достигает примерно 30 мкмоль/л, они придают интенсивную желтую окраску коже. Такие состояния, называемые желтухами, могут возникнуть как вследствие образования избытка билирубина в ходе катаболизма гемопротеинов, так и вследствие нарушения механизмов, при помощи которых печень справляется с потоком билирубина в процессе детоксикации. Соотношение между билирубином и его метаболитами при желтухах существенно отличается от нормы, что позволяет сделать вывод об этиологии и молекулярных механизмах развития данной патологии и выработать тактику рациональной терапии. Дифференциальная диагностика клинических расстройств базируется на знании основных этапов метаболизма билирубина (табл. 25.1).

Как уже указывалось, в крови содержится как неконъюгированный («непрямой») билирубин, так и билирубинглюкурониды («прямой») в соотношении примерно $\frac{3}{4} : \frac{1}{4}$. Количество и соотношение между «прямым» и «непрямым» билирубином резко меняются при поражениях печени, селезенки, костного мозга, болезнях крови и т. д., поэтому определение обеих форм билирубина в крови имеет существенное значение в клинике при дифференциальной диагностике различных форм желтухи.

При желчнокаменной болезни в составе желчных камней наряду с основным их компонентом — холестерином — всегда обнаруживается свободный билирубин. Из-за плохой растворимости в воде он выпадает в осадок в желчном пузыре в виде билирубината кальция, участвующего в формировании камней. Важным диагностическим признаком является определение уробилиногена в моче, суточное содержание которого в норме составляет от 0,64 до 4,0 мг. Если же с мочой выделяется повышенное содержание уробилиногена, это является свидетельством недостаточности функции печени, например при паренхиматозных или гемолитических желтухах, когда печень частично теряет способность извлекать этот пигмент из крови воротной вены. Исчезновение уробилиногена из мочи при наличии билирубина является свидетельством

Т а б л и ц а 25.1. Основные нарушения обмена билирубина

| Этапы обмена билирубина | Причины нарушений |
|--|---|
| Образование — распад эритроцитов, деградация гемопротеинов | Гемолиз — дефекты мембран и ферментов эритроцитов, инфекция |
| Транспорт | Конкуренция за центры связывания на сывороточном альбумине |
| Поглощение печенью | Уменьшение количества лиганд. Конкуренция с органическими анионами за мембранно-связывающие центры |
| Конъюгация | Низкая активность УДФ-глюкуронилтрансферазы. Ингибирование лекарствами УДФ-глюкуронилтрансферазы. Врожденный гипотиреоз, цирроз |
| Секреция в желчные каналцы | Гепатит (холестаз). Цирроз. Незрелость секреторного механизма у новорожденных |
| Экскреция | Механическое препятствие (обтурационный гепатит). Сниженная бактериальная деградация |

полного прекращения поступления желчи в кишечник. Такое состояние часто наблюдается при закупорке или протока желчного пузыря (желчнокаменная болезнь), или общего желчного протока (желчнокаменная болезнь, раковые поражения поджелудочной железы человека и др.).

Таким образом, количественный и качественный анализ желчных пигментов не только в крови, но и в моче представляет клинический интерес.

Порфирии. К порфириям относят группу заболеваний, характеризующихся повышенным выделением порфиринов (копропорфиринов и уропорфиринов) или их предшественников. Различают два типа порфирий — первичные и вторичные.

Первичные порфирии относятся к энзимопатиям, т. е. это наследственные заболевания, при которых нарушен синтез ферментов, катализирующих превращения этих пигментов. Это может приводить к избыточному образованию предшественников гема и выделению с мочой большого количества δ -аминолевулиновой кислоты, порфобилиногена, порфиринов.

Вторичные, или приобретенные (токсические), порфирии могут быть вызваны действием токсических соединений, таких, как гексахлорбензол, солей тяжелых металлов, а также лекарственных препаратов, например **гризеофульфина**. Эти вещества могут являться ингибиторами ферментов синтеза гема и приводить к накоплению предшественников гема и экскреции их из организма с мочой. У больных с различными видами порфирий моча имеет красный цвет вследствие выведения избыточного количества окрашенных порфиринов; отмечается также чувствительность кожи к солнечному облучению за счет фотосенсибилизации порфиринами.

Глава 26

ОБМЕН НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ И НУКЛЕОТИДОВ

26.1. Общая характеристика

Многие аспекты обмена нуклеиновых кислот имеют самое непосредственное отношение к важнейшим проблемам современной молекулярной биологии и биохимии. В числе этих проблем — расшифровка молекулярных механизмов, определяющих синтез различных макромолекулярных структур, изучение законов передачи генетической информации, проблема клеточной дифференцировки и др.

В предыдущих главах были рассмотрены структура и роль нуклеиновых кислот как генетического материала, матричные механизмы биосинтеза нуклеиновых кислот и их участие в биосинтезе белка. Настоящая глава посвящена в основном биохимическим механизмам обмена мономерных единиц нуклеиновых кислот — мононуклеотидов, а именно рассмотрены распад и биосинтез пуриновых и пиримидиновых рибо- и дезоксирибонуклеотидов, регуляторные механизмы этих процессов. В этой главе также представлен материал

о деполимеризации полимерной цепи нуклеиновых кислот как в процессе пищеварения, так и внутриклеточном катаболизме.

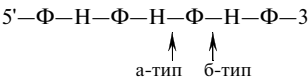
26.2. Деструкция нуклеиновых кислот

Ферменты, катализирующие распад нуклеиновых кислот, — нуклеазы известны давно и достаточно хорошо изучены. Ферменты, расщепляющие ДНК, называются **дезоксирибонуклеазами** (ДНК-азы), а те, что гидролизуют РНК, **рибонуклеазами** (РНК-азы). Распад экзогенных нуклеиновых кислот в процессе пищеварения осуществляется в основном гидролитическим путем в тонком кишечнике под действием ДНК-аз и РНК-аз, секретируемых поджелудочной железой до олиго-, ди- и мононуклеотидов. Полная деполимеризация нуклеиновых кислот до мононуклеотидов может завершаться под действием других ферментов тонкого кишечника, например фосфодиэстераз.

Внутри каждой группы тканевых нуклеаз — рибо- и дезоксирибонуклеаз есть ферменты, отличающиеся по специфичности действия на субстрат и функциям в клетке.

По специфичности действия различают следующие нуклеазы:

- действующие на внутренние межнуклеотидные связи — эндонуклеазы и на концевые — экзонуклеазы;
- разрушающие одно- и (или) двухцепочечные нуклеиновые кислоты;
- узнающие 3'- или 5'-концы;
- расщепляющие по α- или β-типу:



где Н — нуклеозид; Φ — фосфат;

- узнающие пуриновые или пиримидиновые основания;
- различающие определенные палиндромные последовательности (рестриктазы).

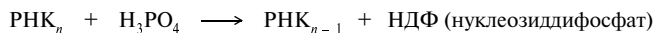
Образовавшиеся под действием нуклеаз нуклеотиды расщепляются нуклеотидазами и нуклеозидазами (табл. 26.1).

Т а б л и ц а 26.1. Ферментативное расщепление нуклеиновых кислот

| Фермент | Субстрат | Реакция | Конечные продукты |
|---------------------------|---------------------------|---|---|
| Нуклеаза | ДНК, РНК | $ДНК_n + (n - 1)H_2O \longrightarrow nНМФ$ | Нуклеозидмонофосфат (НМФ) |
| Полинуклеотид-фосфорилаза | ДНК, РНК | $РНК_n + H_3PO_4 \longrightarrow РНК_{(n - 1)} + НДФ$ | Укороченная на один нуклеотид $РНК_{n - 1} + НДФ$ |
| 3'- или 5'-Нуклеотидаза | Нуклеозидмонофосфат (НМФ) | $НМФ + H \longrightarrow \text{нуклеозид} + P_4$ | Нуклеозид (Н), ортофосфорная кислота |
| Нуклеозидаза | Нуклеозид (Н) | $Н + H_2O \longrightarrow АО + Р$ | Азотистое основание (АО), рибоза (Р) |
| Нуклеозид-фосфорилаза | Нуклеозид (Н) | $Н + H_3PO_4 \longrightarrow АО + P-1-\Phi$ | Азотистое основание (АО), рибозо-1-фосфат (P-1-Φ) |

Как видно из табл. 26.1, деградация ДНК и РНК осуществляется как под действием гидролитических, так и фосфорилитических нуклеаз. В настоящее время эти ферменты открыты как в микроорганизмах, так и в животных тканях.

Механизм действия фосфорилитического расщепления полинуклеотидной цепи сводится к переносу нуклеотидных остатков с РНК на неорганический фосфат:



Полагают, что *in vivo* фермент катализирует распад клеточных РНК до нуклеозиддифосфатов, участвуя тем самым в регуляции концентрации клеточного неорганического фосфата.

Функции различных типов РНК-аз и ДНК-аз в клетке разнообразны. Так, панкреатическая рибонуклеаза (РНК-аза I) обладает экзо- и эндонуклеазным действием и катализирует деградацию всех типов РНК. Вместе с тем известны высокоспецифичные тканевые РНК-азы, расщепляющие фосфодиэфирную связь в области строго определенных нуклеотидных последовательностей и участвующие в созревании первичных транскриптов рибосомальных и транспортных РНК.

Что касается группы ДНК-аз, то, например, ДНК-аза I, выделенная из клеток поджелудочной железы, расщепляет одну из цепей ДНК с образованием олигодезоксирибонуклеотидов, имеющих фосфорильную группу на 5'-конце ДНК. ДНК-аза II, содержащаяся в тимусе и селезенке, гидролизует 3'-5'-фосфодиэфирные связи в обоих цепях ДНК таким образом, что образуются 3'-фосфоолигонуклеотиды.

Рестриктазы — ферменты ДНК-азного типа действия, катализируют деполимеризацию ДНК в строго определенных участках молекулы. Рестриктазы обладают высокой специфичностью действия относительно азотистых оснований, расположенных рядом с расщепляемой связью. Они используются для расшифровки последовательности нуклеотидных остатков в ДНК фагов и вирусов, а также находят широкое применение в генетической инженерии для получения рекомбинантных ДНК (гл. 31).

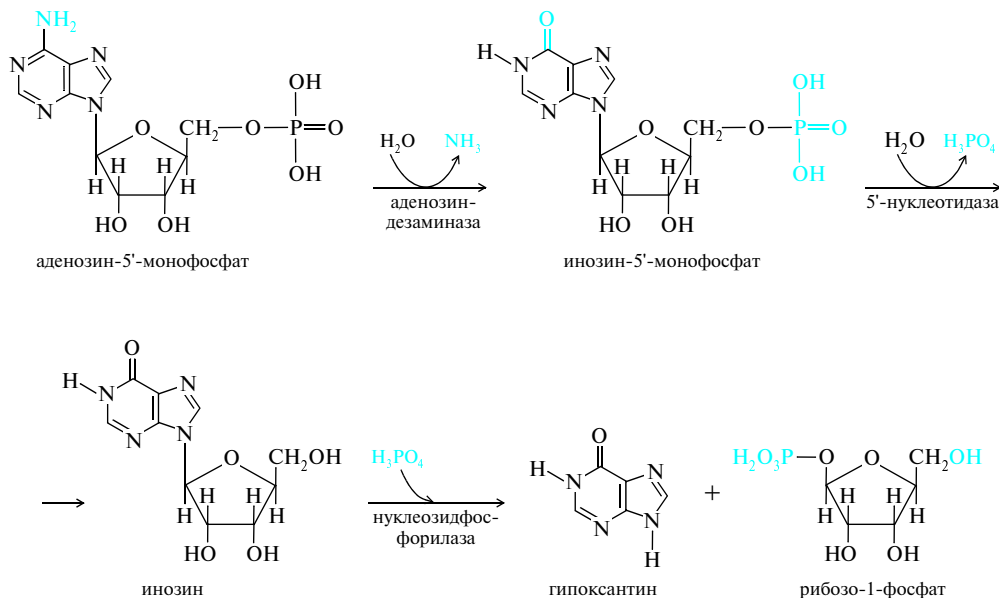
В отношении дальнейшей судьбы мононуклеотидов в кишечнике существует два предположения. Во-первых, мононуклеотиды расщепляются под действием неспецифических фосфатаз (кислой и щелочной), которые гидролизуют фосфоэфирную связь («нуклеотидазное» действие) с образованием нуклеозидов и фосфорной кислоты, и в таком виде всасываются. Второе предположение заключается в том, что мононуклеотиды всасываются и распад их осуществляется в клетках слизистой оболочки кишечника. Имеются также доказательства существования в стенке кишечника нуклеотидаз, катализирующих гидролитический распад мононуклеотидов. Дальнейший распад образовавшихся нуклеозидов осуществляется внутри клеток слизистой преимущественно фосфорилитическим, а не гидролитическим путем.

Распад нуклеотидов в тканях. В результате действия внутриклеточных эндо- и экзонуклеаз нуклеиновые кислоты расщепляются до мононуклеотидов, которые под действием 3'- или 5'-нуклеотидаз гидролитически распадаются до нуклеозида и ортофосфорной кислоты. Известно, что АМФ в живот-

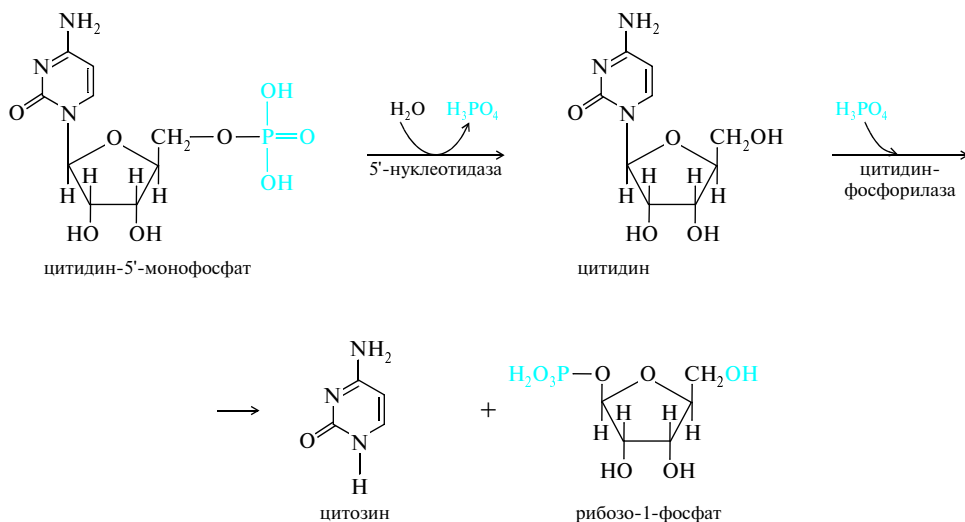
ных тканях предварительно дезаминируется и превращается в инозин-5'-мо-нофосфат (ИМФ).

Образовавшиеся нуклеозиды в животных тканях чаще всего деградируют фосфорилитическим путем переноса остатка рибозы на свободную фосфорную кислоту с образованием рибозо-1-фосфата и азотистого основания пуринового или пиримидинового ряда.

Последовательность реакций распада нуклеотидов пуринового ряда на примере деградации аденозин-5'-монофосфата представлена на следующей схеме:



Последовательность ферментативных превращений пиримидиновых нуклеотидов приведена на примере распада цитидин-5'-монофосфата:



26.2.1. Катаболизм пуринов

Степень деградации циклической структуры пуринов сильно варьирует от вида к виду. У большинства приматов (в том числе человека), птиц, некоторых рептилий и многих насекомых главным выводимым с мочой продуктом катаболизма пуринов является **мочевая кислота**, в которой кольцевая система пуринов остается интактной; в то же время у всех остальных наземных животных конечным продуктом является аллантоин, который образуется в ходе окисления (дециклизации) шестичленного гетероцикла. У амфибий и рыб **аллантоин** далее расщепляется до **аллантоиновой кислоты**. Во многих микроорганизмах аллантоиновая кислота превращается в **глиоксилат** и **мочевину** (рис. 26.1).

Важным промежуточным продуктом катаболизма пуринов служит **ксантин**. После расщепления *N*-гликозидной связи гуанин превращается в ксантин в результате одностадийной реакции, катализируемой гидролитическим ферментом **гуаниндезаминазой**. Распад производных аденина протекает у млекопитающих и птиц через дезаминирование аденина с последующим превращением в свободный **гипоксантин**, который затем окисляется до **ксантина** под действием **ксантиноксидазы**. Реакция окисления, катализируемая этим ферментом,

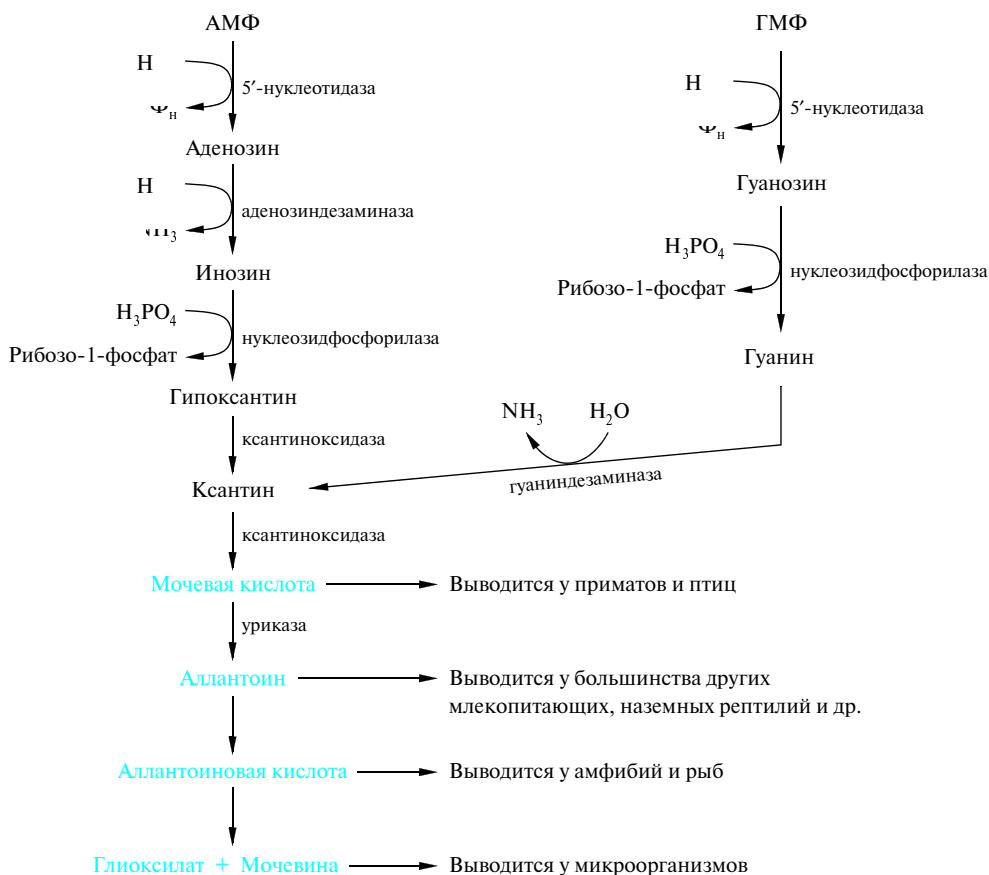
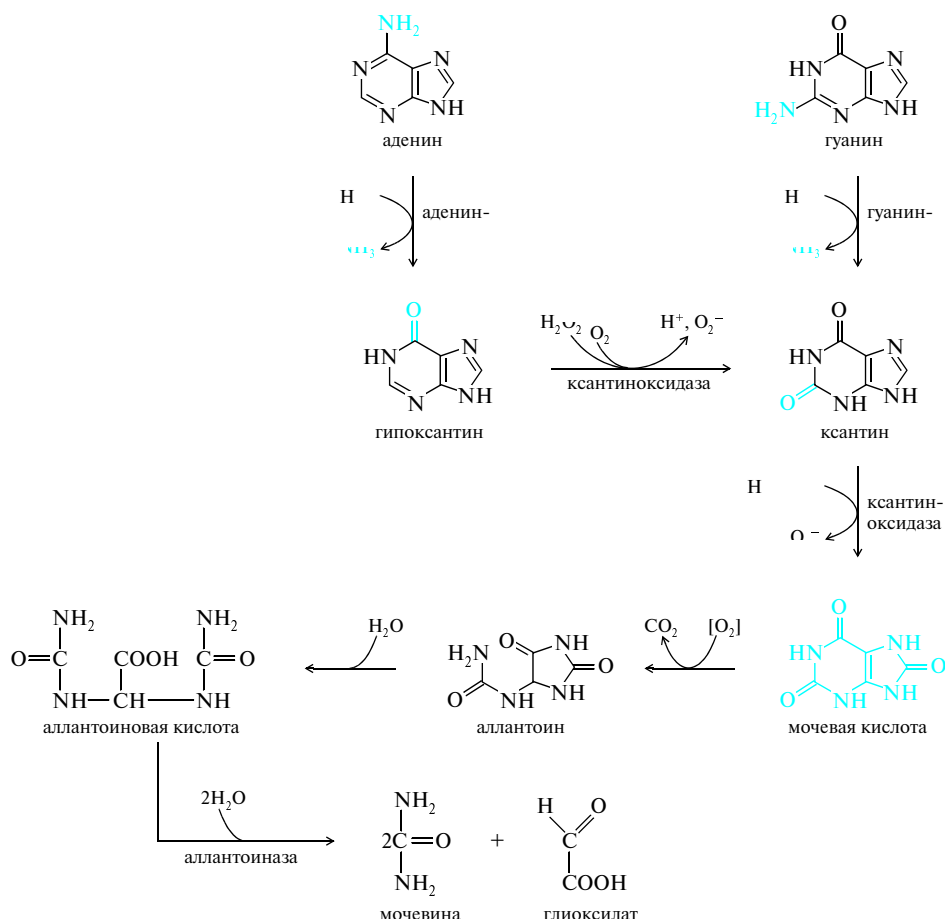


Рис. 26.1. Схема расщепления пуриновых нуклеотидов

сопровождается образованием высокотоксичного супероксид-радикала O_2^- детоксикация которого происходит с помощью **супероксиддисмутазы**.

Последовательность реакций превращения пуринов в процессе их катаболизма при участии специфических ферментов представлена на следующей схеме:

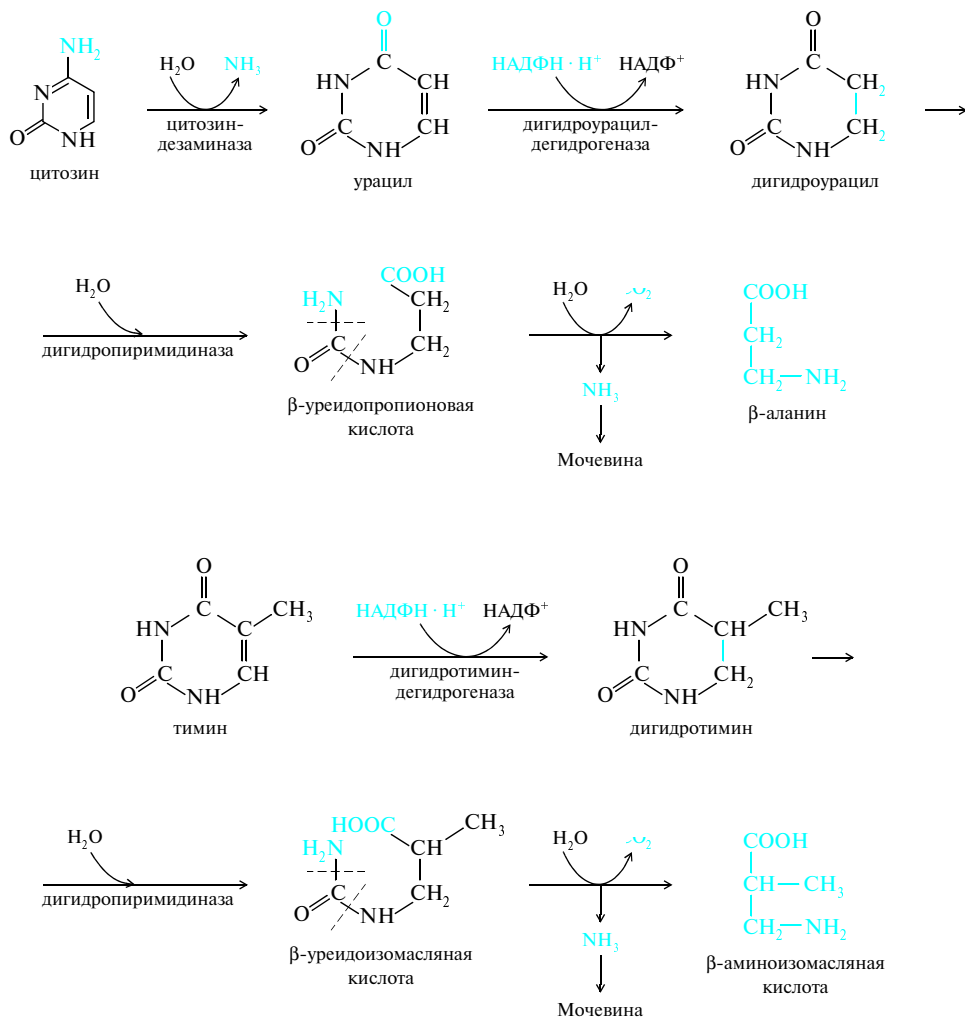


26.2.2. Катаболизм пиримидинов

Основной путь катаболизма пиримидинов в организме человека и млекопитающих включает восстановление урацила или тимина с образованием полностью гидрированного гетероцикла соответственно дегидроурацила или дегидротимина. Расщепление цитозина происходит по тому же самому механизму, что и двух других нуклеотидов, после его дезаминирования на первой стадии и образования урацила.

Раскрытие кольца в дегидроурациле приводит к образованию β -уреидо-пропионовой кислоты, которая далее гидролизруется до CO_2 , NH_3 и β -аланина. При аналогичном механизме превращения тимина из него получаются CO_2 , NH_3 и β -аминоизомасляная кислота.

Последовательность реакций катаболизма пиримидинов представлена ниже:



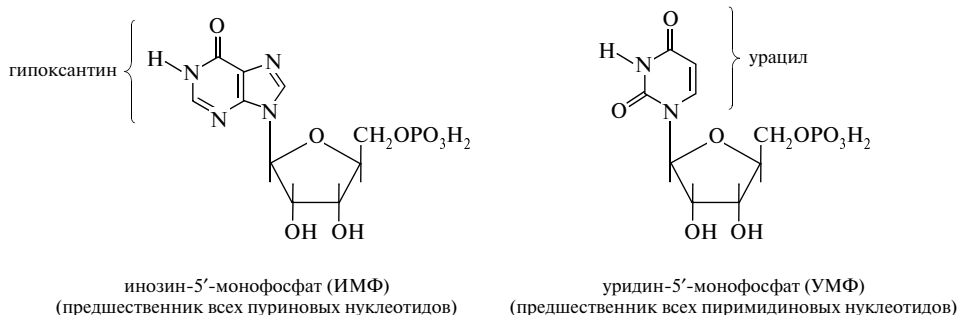
Продукты катаболизма пиримидинов либо выводятся из организма, либо повторно утилизируются в других метаболических процессах. Так, β -аланин используется при биосинтезе витамина B_3 (пантотеновая кислота), который, в свою очередь, необходим для синтеза коэнзима А и ацилпереносящего белка — компонента, участвующего в синтезе жирных кислот.

26.3. Биосинтез нуклеотидов

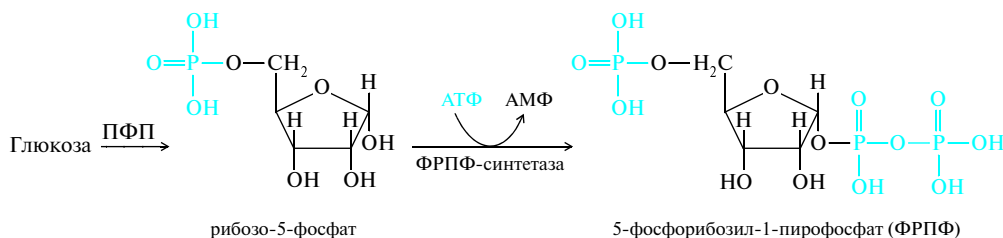
Почти все организмы способны синтезировать пиримидиновые и пуриновые нуклеотиды de novo из простых соединений.

Первым продуктом нуклеотидной природы пуринового пути является **инозин-5-монофосфат (ИМФ)**, превращающийся затем во все остальные пури-

новые нуклеотиды. Структурным предшественником всех пиримидиновых нуклеотидов является уридинмонофосфат (УМФ):



В процессах синтеза обоих типов нуклеотидов фосфорибозильный компонент участвует в виде 5-фосфорибозил-1-пирофосфата (ФРПФ), который получается при фосфорилировании рибозо-5-фосфата — промежуточного метаболита пентозного пути окисления глюкозы (ПФП). Эта реакция катализируется регуляторным ферментом **фосфорибозилпирофосфатсинтетазой (ФРПФ-синтетазой)**:

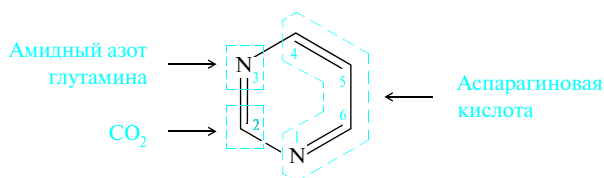


Однако стратегия синтеза пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов различна.

Метаболические пути, ведущие к образованию пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов, различаются в основном тем, на каком этапе синтеза возникает *N*-гликозидная связь. При синтезе пуринов эта связь образуется на первом этапе, и циклическая система строится уже после того, как связь образовалась. В отличие от этого синтез пиримидинового кольца завершается еще до образования связи между этим кольцом и рибозо-5-фосфатом.

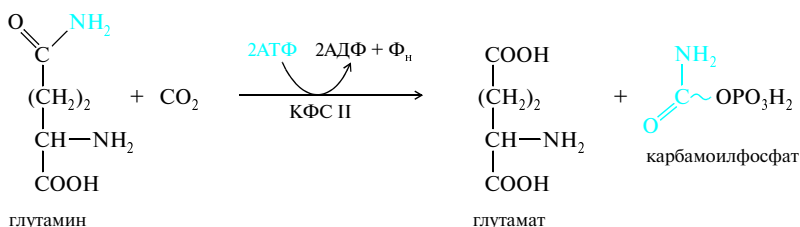
26.3.1. Биосинтез пиримидиновых рибонуклеотидов

Применение меченых атомов позволило выяснить происхождение каждого из атомов пиримидинового кольца:

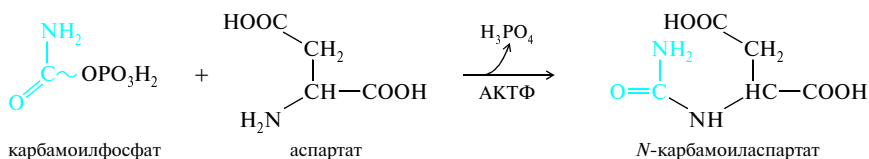


Биосинтез уридинмонофосфата (УМФ) — общего предшественника всех пиримидиновых нуклеотидов включает шесть реакций.

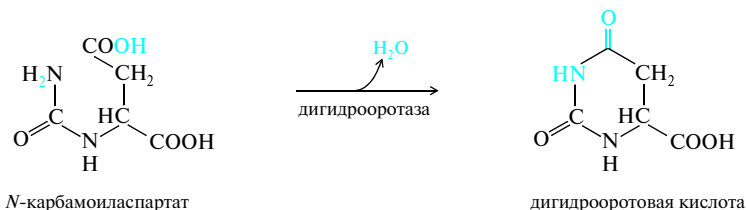
1. Образование карбамоилфосфата при действии карбамоилфосфатсинтетазы II (КФС II). Донором аминогруппы в этой реакции является глутамин (амидная группа). При синтезе мочевины (гл. 24) в реакции синтеза карбамоилфосфата участвует NH_3 , а не глутамин и эта реакция катализируется **карбамоилфосфатсинтетазой I (КФС I)**. Установлено, что КФС I содержится только в митохондриях печени и катализирует синтез мочевины, а КФС II присутствует в цитозоле практически всех клеток организма и участвует в синтезе пиримидинов:



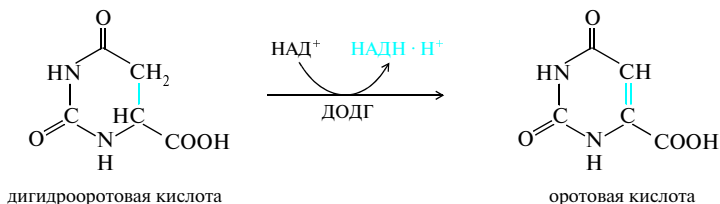
2. Карбамоильная группа переносится от карбамоилфосфата на α -аминогруппу аспарагиновой кислоты; эта реакция катализируется **аспартаткарбамоилтрансферазой (АКТФ)**:



3. Под действием **дигидрооротазы** происходит циклизация *N*-карбамоиласпартата и образование **дигидрооротовой кислоты**:

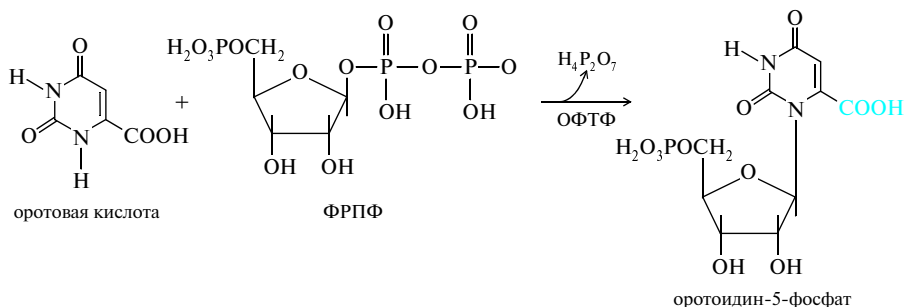


4. Дигидрооротовая кислота окисляется в оротовую кислоту НАД^+ -зависимой **дигидрооротатдегидрогеназой (ДОДГ)**:



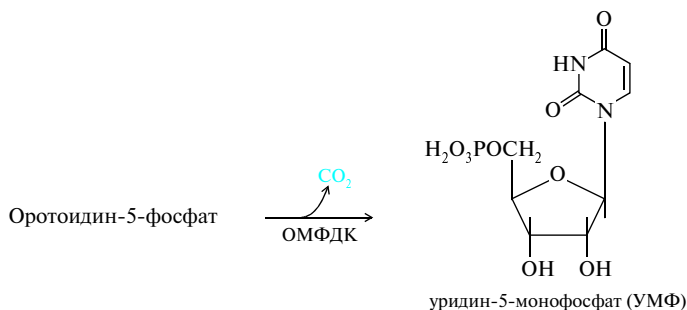
Синтез пиримидинового кольца завершается на этом этапе.

5. Присоединение рибозо-5-фосфата. Оно осуществляется при взаимодействии оротовой кислоты с ФРПФ в реакции, катализируемой **оротатфосфорибозилтрансферазой (ОФТФ)**:

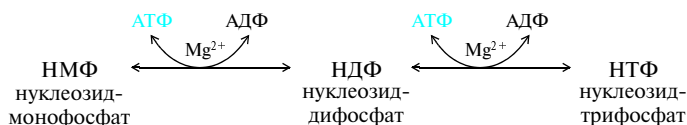


Фермент специфичен в отношении оротовой кислоты; ни ее предшественники, ни родственные пиримидины не могут служить для него субстратом.

Синтез уридиловой кислоты (УМФ) завершается путем необратимого декарбоксилирования оротидин-5'-фосфата (ОМФ) **оротидинмонофосфатдекарбоксилазой (ОМФДК)**:

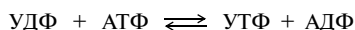
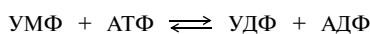


Фактическими предшественниками для синтеза нуклеиновой кислоты служат **нуклеозидтрифосфаты**, которые образуются из нуклеотидмонофосфатов (НМФ) в результате двух последовательно протекающих трансферазных реакций:



Трансферазы, катализирующие эти реакции, не проявляют специфичности в отношении оснований и фосфорилируют аденин-, гуанин-, урацил- и цитозиннуклеотиды. При таких реакциях общее содержание АТФ, естественно, снижается. Следует помнить, что этот трифосфат образуется в результате экзергонических окислительных реакций в процессе окислительного фосфорилирования.

Таким образом, образование УТФ из УМФ происходит в результате последовательных трансферазных (киназных) реакций при действии нуклеозидмонофосфат- и нуклеозиддифосфаттрансфераз:



Молекула УТФ выполняет в процессах метаболизма следующие важные функции:

- структурный предшественник, необходимый для синтеза РНК;
- общий родоначальник всех остальных пиримидиновых нуклеотидов;
- переносчик различных соединений в других метаболических превращениях, например глюкозы при синтезе гликогена, глюкуроновой кислоты в реакциях конъюгации и др.

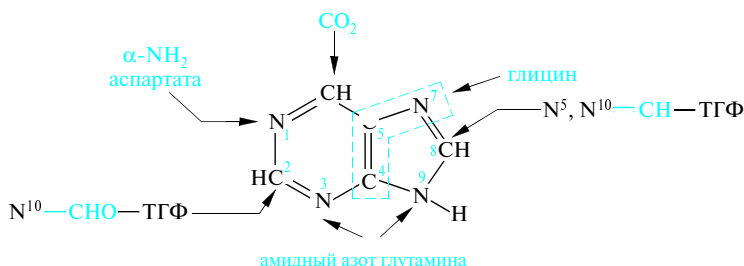
Биосинтез цитидинтрифосфата (ЦТФ). Известен только один путь образования цитидиновых нуклеотидов, а именно аминирование УТФ, в котором донором аминогруппы выступает глутамин:



Следует отметить, что ферменты реутилизации пиримидиновых оснований, т. е. их повторного использования в реакциях биосинтеза нуклеотидов, не были обнаружены.

26.3.2. Биосинтез пуриновых рибонуклеотидов

Биосинтез пуриновых нуклеотидов de novo из простых предшественников у различных видов живых организмов протекает одинаково. Происхождение каждого атома пуринового гетероцикла установлено экспериментами с использованием изотопов.



Из приведенной выше схемы видно, что четвертый и пятый атомы углерода и седьмой атом азота образуются из глицина. Два атома азота (N^3 и N^9) происходят из амидной группы глутамина, один атом азота (N^1) — из α -аминогруппы аспарагиновой кислоты; углеродный атом (C^2) происходит из N^{10} -формилтетрагидрофолиевой кислоты, атом углерода в восьмом положении — из N^5 , N^{10} -метенилтетрагидрофолиевой кислоты и, наконец, углерод C^6 имеет своим источником CO_2 .

Как отмечалось выше, общим предшественником синтеза всех пуриновых нуклеотидов является **инозин-5-монофосфат (ИМФ)**, содержащий в качестве азотистого основания гипоксантин. В процессе синтеза ИМФ фосфорибозилпирофосфат (ФРПФ) участвует в первой реакции, образуя фосфорибозиламин, и все последующие стадии сводятся к сборке пуринового кольца на этой основе. Особенностью пути синтеза ИМФ является участие тетрагидрофолата (восстановленная форма витамина B_9), коферментная функция которого

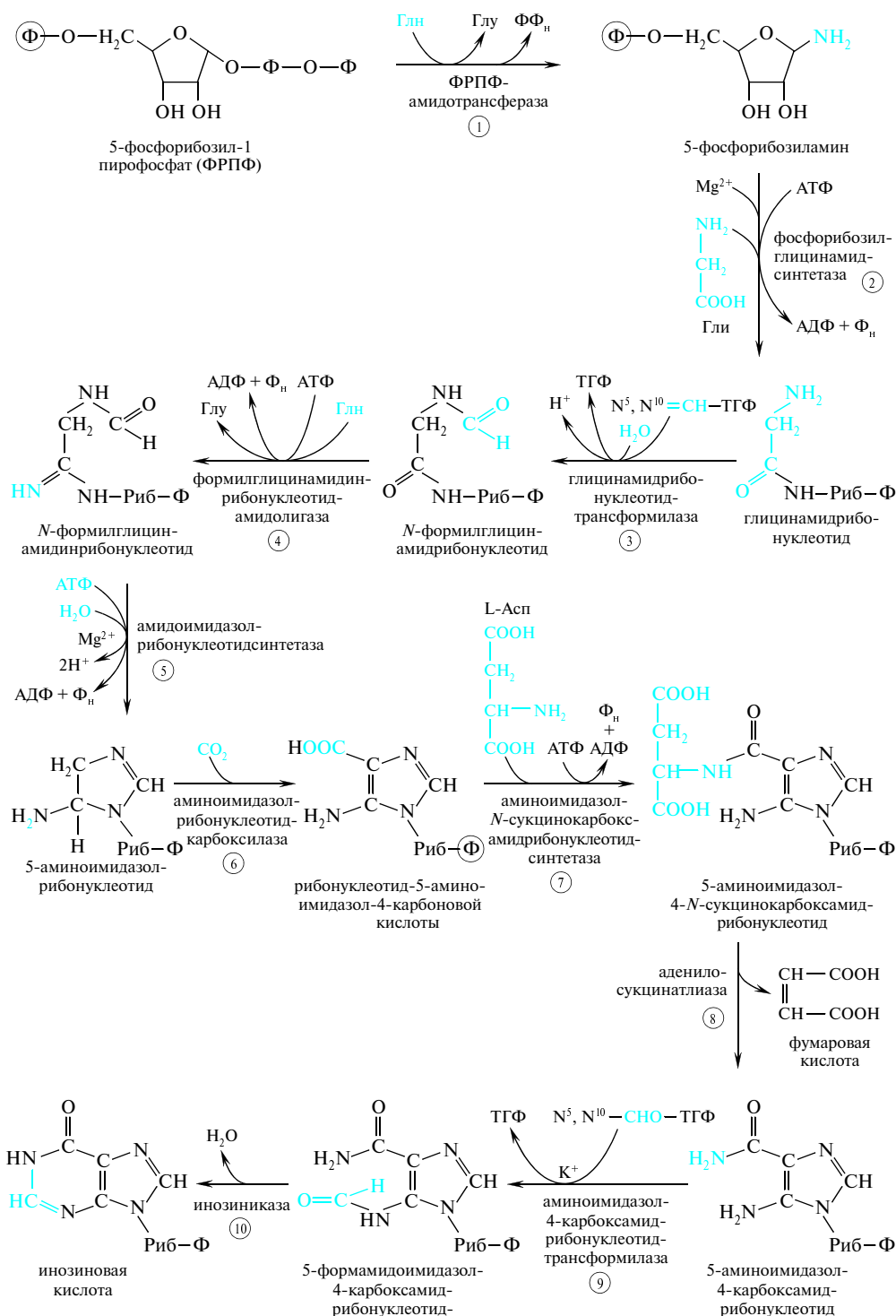


Рис. 26.2. Метаболический путь синтеза ИМФ

связана с переносом одноуглеродных остатков, в частности формильной ($-\text{CHO}$)— N^{10} -формил-ТГФ и метильной ($-\text{CH}=\text{N}^5\text{N}^{10}$)-метенил-ТГФ.

Последовательные реакции синтеза ИМФ, катализирующие их ферменты, представлены на рис. 26.2.

Анаболический путь синтеза ИМФ заканчивается образованием гетероциклического азотистого основания — гипоксантина. Этот путь значительно более сложен, чем путь синтеза пиримидиновых нуклеотидов, требует большего числа исходных соединений и включает последовательность десяти химических реакций (см. рис. 26.2, номера реакций обведены в кружок).

Синтез АМФ и ГМФ. Инозиновая кислота (ИМФ) в результате двухстадийных реакций может превращаться в адениловую (АМФ) и гуаниловую (ГМФ) кислоты (рис. 26.3).

В синтезе АМФ из инозиновой кислоты принимают участие аспарагиновая кислота, являющаяся донатором NH_2 -группы, и ГТФ — источник энергии; промежуточным продуктом реакции является аденилосукцинат.

Биосинтез ГМФ начинается с дегидрирования ИМФ и образования ксантидиловой кислоты; в аминировании последней используется амидный азот глутамина.

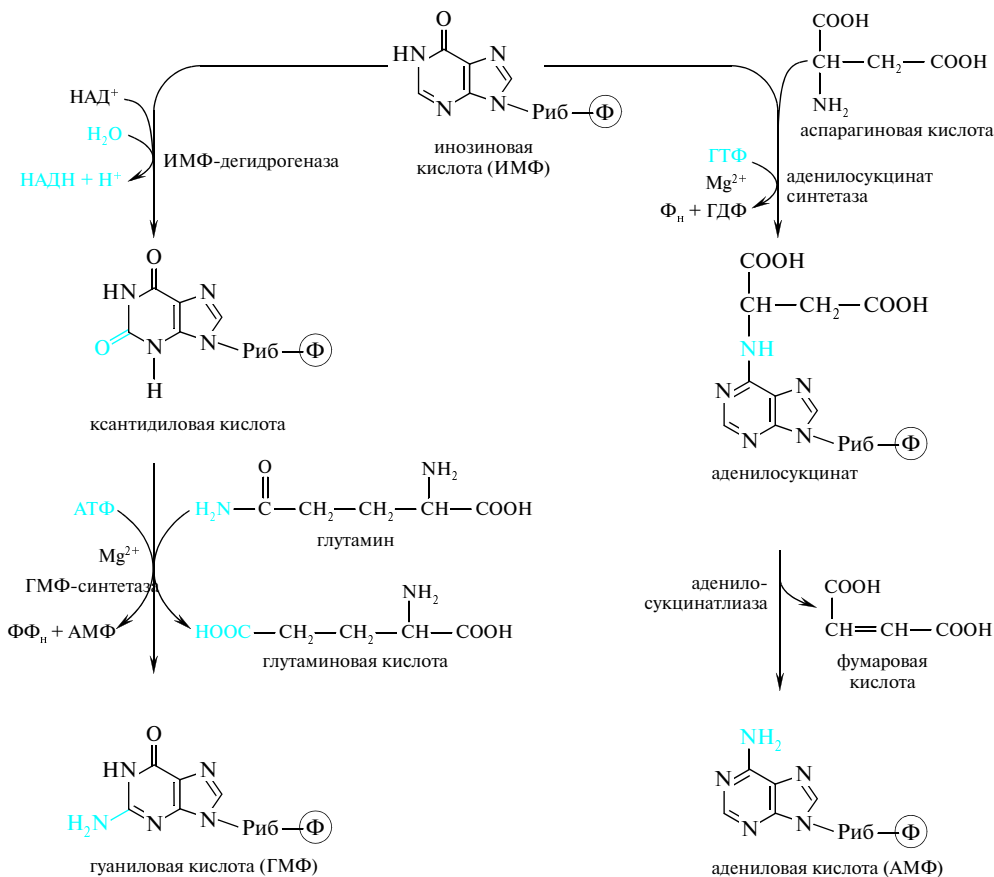
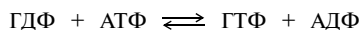
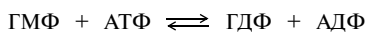


Рис. 26.3. Биосинтез адениловой (АМФ) и гуаниловой (ГМФ) кислот

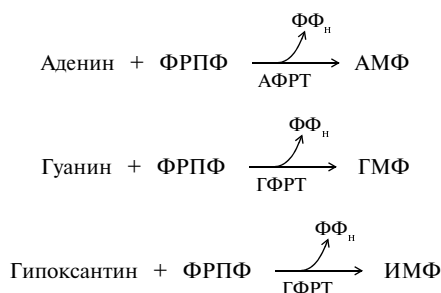
Превращение АМФ и ГМФ в соответствующие нуклеозидди- и трифосфаты протекает при участии специфических нуклеозидмонофосфат- и нуклеозиддифосфаттрансфераз по схеме:



Альтернативный путь синтеза пуриновых нуклеотидов. Приведенные выше реакции представляют собой основные пути синтеза пуриновых нуклеотидов. Однако следует помнить, что этот процесс требует затраты значительного количества энергии в форме АТФ. Так, на синтез циклической структуры пуринов затрачивается 5 молекул АТФ на каждую молекулу АМФ или ГМФ.

Известен другой путь — *путь реутилизации пуриновых оснований*, образовавшихся в процессе распада эндогенных или экзогенных пуриновых нуклеотидов. По-видимому, эти реакции следует рассматривать как реакции «сбережения», использующие пуриновые кольца до их превращения в ксантин и затем в мочевую кислоту перед экскрецией.

Существуют два фермента: гипоксантин-гуанинфосфорибозилтрансфераза (ГФРТ) и аденинфосфорибозилтрансфераза (АФРТ), утилизирующие свободные пурины, превращая их вновь в нуклеотиды при взаимодействии с ФРПФ:



Иллюстрацией значения утилизации пуринов для организма является редкое генетическое заболевание у человека — синдром Леша—Нихана. При этом заболевании отсутствует ГФРТ — фермент утилизации гуанина и гипоксантина; другой фермент — АФРТ, утилизирующий аденин, — присутствует. При этом наблюдается *гиперурикемия* — повышенное содержание мочевой кислоты, приводящее к возникновению различных нейрофизиологических нарушений: повышенная нервозность, агрессивность, замедление умственного развития и др.

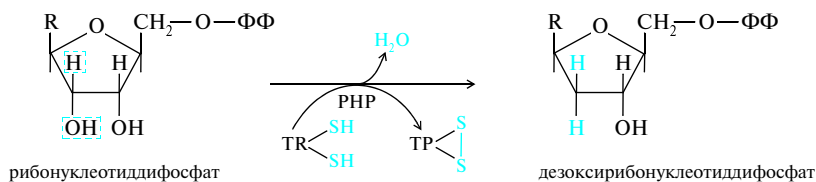
26.4. Биосинтез дезоксирибонуклеотидов

Для биосинтеза ДНК в качестве субстратов необходимы дезоксирибонуклеотиды (дРНТ): дАТФ, дГТФ, дЦТФ, дТТФ. Дезоксинуклеозидтрифосфаты образуются путем непосредственного восстановления соответствующих рибонуклеозидполифосфатов в ходе процесса, для которого необходимы следующие условия:

- субстраты для восстановления — рибонуклеотиддифосфаты: АДФ, ГДФ, ЦДФ, УДФ;

- непосредственный восстановитель рибонуклеотидов — белок тиоредоксин;
- два фермента рибонуклеотидредуктаза (RNP) и тиоредоксинредуктаза (TRP);
- наличие восстановленного НАДФН — донора восстановительных эквивалентов в реакции регенерации дисульфидной формы тиоредоксина в сульфгидрильную.

Восстановление рибонуклеотидов в дезоксирибонуклеотиды сводится к элементарному акту — восстановлению рибозы в 2-дезоксирибозу, требующему наличия двух атомов водорода; непосредственным источником восстановительных эквивалентов оказался термостабильный белок — **тиоредоксин**, содержащий две свободные SH-группы ($\text{TR} \begin{smallmatrix} \text{SH} \\ \text{SH} \end{smallmatrix}$):



Тиоредоксин представляет собой небольшой белок (11,7 kDa), состоящий из одной полипептидной цепи с одной внутрицепочечной дисульфидной связью ($\text{TR} \begin{smallmatrix} \text{S} \\ | \\ \text{S} \end{smallmatrix}$, или $\text{TR}-\text{S}_2$). Фермент тиоредоксинредуктаза (TRP) катализирует НАДФН-зависимое восстановление: $-\text{S}-\text{S}- \longrightarrow -\text{SH} + \text{HS}-$ с образованием восстановленного тиоредоксина ($\text{TR} \begin{smallmatrix} \text{SH} \\ \text{SH} \end{smallmatrix}$, или $\text{TR}-(\text{SH})_2$).

Последовательность превращений рибонуклеозиддифосфатов в процессе синтеза дезоксирибонуклеозиддифосфатов представлена на рис. 26.4.

Образующиеся в процессе биосинтеза дАДФ, дГДФ, дЦДФ фосфорилируются в нуклеотидкиназной реакции до дАТФ, дГТФ, дЦТФ; дУДФ является предшественником дТТФ.

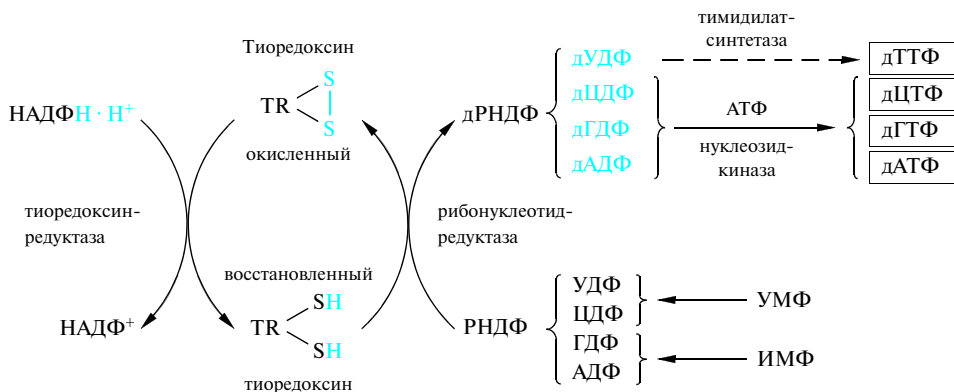
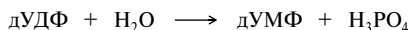


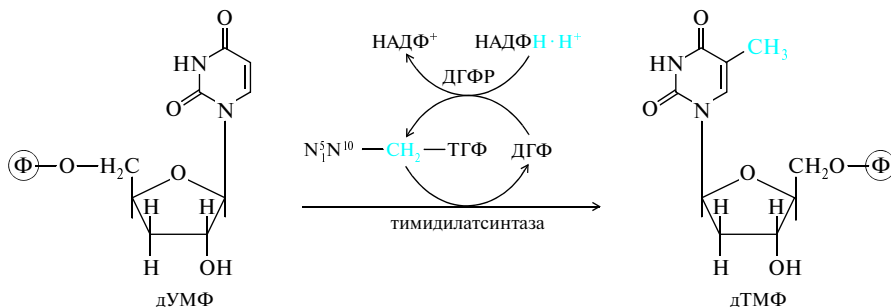
Рис. 26.4. Схема биосинтеза дезоксирибонуклеотидов:
РНДФ — рибонуклеозиддифосфат; дРНДФ — дезоксирибонуклеозиддифосфат

Биосинтез дТТФ. Этот процесс осуществляется в три этапа.

На первом этапе дУДФ гидролизуется до дУМФ:



На втором этапе происходит метилирование дУМФ, где в качестве донора метильной группы выступает метилентетрагидрофолат ($\text{N}^5\text{-N}^{10}$ -метилен-ТГФ), реакцию катализирует тимидилатсинтаза:



В этой реакции тетрагидрофолат превращается в дигидрофолат (ДГФ), так как $\text{N}^5\text{-N}^{10}$ -метилен-ТГФ одновременно с метиленовой группой ($\text{-CH}_2\text{-}$) отдает протон на ее восстановление до CH_3 -группы. ДГФ регенерирует до ТГФ под действием НАДФН-зависимой дегидрофолатредуктазы (ДГФР).

Третий этап включает две стадии фосфорилирования, катализируемые ферментами нуклеозидмонофосфат- и нуклеозиддифосфаттрансферами по схеме:



Противораковая терапия. Недостаток тимина или тетрагидрофолата в быстрорастущих и делящихся опухолевых клетках останавливает клеточный рост и даже приводит к гибели клеток. Ингибирование дегидрофолатредуктазы косвенно ингибирует превращение дУМФ \longrightarrow дТМФ. На этом основано действие группы антифолатных средств, аналогов ТГФ, обладающих противоопухолевым действием. Особенно эффективны два препарата — **аминоптерин** и **метотрексат**.

Тимидилатсинтаза — фермент, катализирующий реакцию дУМФ \longrightarrow дТМФ, непосредственно ингибируется 5-фторурацилом и 5-фтор-2'-дезоксидирином (конкурентное ингибирование). Специфическое ингибирование синтеза тимина, необходимого для синтеза ДНК, также используется в противораковой терапии.

26.5. Регуляция биосинтеза пиримидиновых и пуриновых нуклеотидов

Как синтез пиримидинов, так и синтез пуринов находится под метаболическим контролем, основанным на ингибирующем действии конечных продуктов по типу обратной связи. Регуляторными ферментами биосинтеза пиримидинов в животных тканях являются цитозольная **карбамоилфосфат-**

синтетаза, аллостерическим ингибитором которой является УТФ, и другой фермент — **аспартаткарбамоилтрансфераза**, — который ингибируется ЦТФ (рис. 26.5).

Следует отметить, что тип и специфичность контроля обнаруживают интересные вариации в зависимости от вида: аспартаткарбамоилтрансферазы из *Escherichia coli*, *Aerobacter aerogenes* и *Serratia marcescens* ингибируются по принципу обратной связи, как и в животных тканях в присутствии ЦТФ, тогда как фермент из *Pseudomonas fluorescens* сильнее всего реагирует на УТФ, а фермент из проростков латука наиболее чувствителен к УМФ. Далее аспартаткарбамоилтрансфераза из *Bacillus subtilis*, по-видимому, не ингибируется по аллостерическому типу, а *репрессуруется* ее синтез по принципу обратной связи. Эти данные, безусловно, свидетельствуют о многообразии и видовой специфичности регуляторных механизмов клетки, определяющих скорость биосинтеза пиримидиновых нуклеотидов.

Регуляция синтеза пуриновых нуклеотидов достаточно сложна (рис. 26.6).

Установлено, во-первых, что ИМФ-дегидрогеназа, участвующая в превращении ИМФ в ГМФ, ингибируется ГМФ. Таким образом, превращение ИМФ в ГМФ задерживается или совсем прекращается в условиях, когда гуаниннуклеотиды поступают в достаточных количествах. Подобным образом ингибируется активность аденилосукцинатсинтетазы, катализирующей первую реакцию превращения ИМФ в АМФ. Во-вторых, как отмечалось выше, образование АМФ и ГМФ находится под контролем еще и потому, что для синтеза ГМФ требуется АТФ, а для синтеза АМФ требуется ГТФ. Благодаря наличию



Рис. 26.5. Схема регуляции путей биосинтеза пиримидиновых нуклеотидов:

— ингибирование по принципу обратной связи; E_1 — карбамоилфосфатсинтетаза II; E_2 — аспартаткарбамоилтрансфераза

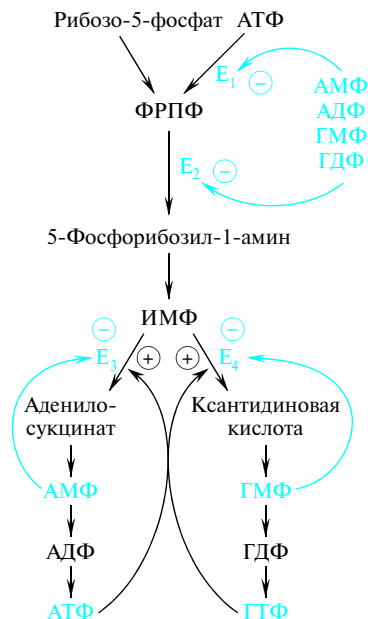


Рис. 26.6. Схема основных путей регуляции синтеза пуриновых нуклеотидов:

E_1 — ФРПФ-синтетаза; E_2 — ФРПФ-амидотрансфераза; E_3 — аденилосукцинатсинтетаза; E_4 — ИМФ-дегидрогеназа

всех этих регуляторных механизмов превращение ИМФ в аденин- или гуанин-нуклеотиды осуществляется в точном соответствии с потребностями клетки. Если в клетке содержится в избытке какое-либо из этих соединений, то необходимость в синтезе пуринов *de novo* вообще полностью отпадает, поскольку аденин- и гуаниннуклеотиды способны к взаимопревращениям. В этой ситуации действует другой регуляторный механизм, основанный на том, что аденин- и гуаниннуклеотиды служат ингибиторами первого и второго ферментов синтеза пуринов *de novo* — ФРПФ-синтетазы и ФРПФ-амидотрансферазы, т. е. процесс синтеза нуклеотидов прекращается на начальном этапе.

26.6. Нарушение обмена нуклеотидов

Основные заболевания, обусловленные нарушением обмена пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов, представлены в табл. 26.2.

Таблица 26.2. Заболевания, связанные с нарушением обмена нуклеотидов

| Заболевание | Основные симптомы | Биохимические нарушения | Лечение |
|---------------------|---|--|---|
| Оротацидурия | Гипероротацидурия. Резкое отставание умственного и физического развития | 1. Ферментативная недостаточность оротатфосфорибозилтрансферазы и оротидинмонофосфатдекарбоксилазы. 2. Уменьшение ингибирования карбамоилфосфатсинтетазы УТФ по механизму обратной связи. 3. Недостаточность пиримидиновых нуклеотидов | Введение с пищей уридина с целью устранения «пиримидинового голода» |
| Синдром Леша—Нихана | Гиперурикемия. Поражение нервной системы с явлениями деменции, агрессивности, самоистязания | 1. Отсутствие фермента гипоксантин-гуанинфосфорибозилтрансферазы. 2. Отсутствие утилизации гуанина и гипоксантина. 3. Уменьшение ингибирования ФРПФ-амидотрансферазы ИМФ и ГМФ по механизму обратной связи | Аллопуринол — конкурентный ингибитор ксантиноксидазы |
| Подагра | Гиперурикемия. Отложение уратов в области суставов, сухожилий, хрящей, сопровождающееся сильным болевым синдромом | 1. Недостаточность ферментов утилизации пуринов. 2. Активация синтеза пуринов. 3. Уменьшение экскреции мочевой кислоты почками | |

Глава 27

ВЗАИМОСВЯЗЬ И РЕГУЛЯЦИЯ ОБМЕННЫХ ПРОЦЕССОВ

27.1. Общие принципы взаимосвязи метаболических путей

Совокупность ферментативных химических реакций, которые могут протекать в клетке или в организме, составляет сущность метаболических превращений, т. е. обмена веществ. Для удобства изложения и усвоения материала отдельно рассмотрены обмены основных биомолекул — белков, нуклеиновых

кислот, липидов, углеводов и других классов соединений. Очевидно, что все процессы обмена веществ в организме взаимосвязаны во времени и в пространстве, образуя единое целое.

❗ Таким образом, создается единая система метаболических процессов, обуславливающая формирование определенных закономерностей взаимодействия между собой биомолекул, названных А. Ленинджером молекулярной логикой живых организмов, изучением которых и занимается биохимия.

Эти закономерности свойственны всем живым организмам — как человека и животных, так и микроорганизмам и растениям, — и в конечном счете именно они определяют качественно новое образование — жизнь. Однако обмен веществ даже у простого одноклеточного организма не представляет собой нечто неизменное. Функционирование живого организма находится в постоянной зависимости от окружающей среды, и сложная цепь метаболических реакций тонко регулируется и координируется с помощью системы взаимосвязанных механизмов. Проблеме регуляции уделяется в современной биохимии большое внимание, и к настоящему времени можно считать доказанным, что весь обмен и его регуляцию можно прямо или косвенно объяснить, исходя из ферментативного статуса организма.

Обмен веществ живых организмов, определяющий его метаболический статус (рис. 27.1), включает ряд уровней:

- поступление веществ в организм из среды с потребляемой пищей, их ферментативный распад (преимущественно гидролиз) до мономеров или простых органических соединений, трансмембранный перенос этих веществ через мембрану кишечного эпителия в кровь или лимфу (см. рис. 27.1; 1—3); это так называемый *внешний обмен*;
- транспорт метаболитов с циркулирующей жидкостью по кровеносным и лимфатическим сосудам в различные органы (см. рис. 27.1; 4, 8, 13, 15);
- превращение веществ в тканях, в процессе которого происходит изменение их структуры, т. е. химические процессы, совокупность которых обычно и называют метаболизмом (*metabole* — превращение, изменение); это так называемый *промежуточный обмен*, включающий как катаболические, так и анаболические процессы;
- образование конечных продуктов — CO_2 , H_2O , мочевины, мочевой кислоты и ряда других небольших органических молекул (очень ограниченное число), которые выводятся из организма.

Углеводы пищи деградируют в желудочно-кишечном тракте до моносахаридов (преимущественно глюкозы), транспортируются кровью в ткани, где окисляются и используются как источники энергии и углерода, необходимые для реакций биосинтеза. В печени и мышцах избыток глюкозы может резервироваться в виде гликогена (см. рис. 27.1; 6, 11). В печени глюкоза может также превращаться в триацилглицеролы, которые упаковываются в ЛОНП и транспортируются кровью в адипоциты — клетки жировой ткани (см. рис. 27.1; 7, 12). В адипоцитах жирные кислоты, входящие в эту фракцию, используются для синтеза липидов (27.1; 14).

Липиды пищи представлены в основном триацилглицеролами (ТАГ), которые расщепляются в желудочно-кишечном тракте до жирных кислот и 2-моно-

ацилглицеролов. В эпителиальных клетках тонкого кишечника они ресинтезируются вновь до триацилглицеролов, упаковываются в хиломикроны и секретируются через лимфу в кровь (см. рис. 27.1; 2). Жирные кислоты, входящие в хиломикроны, могут резервироваться в адипоцитах в виде триацилглицеролов или, окисляясь, использоваться как источник энергии (см. рис. 27.1; 12).

Пищевые и тканевые белки расщепляются до аминокислот, которые транспортируются кровью в различные ткани, где используются либо для биосинтеза белка и различных азотсодержащих компонентов (пурины, пиримидины, гем, креатин, адреналин и др.), либо могут окисляться и служить источником энергии (см. рис. 27.1; 15).

На приведенном рис. 27.1 отчетливо видна метаболическая специализация отдельных органов, которая определяется в первую очередь наличием в них специфической метаболической регуляции. Метаболизм в мозгу, мышцах, жировой ткани и печени сильно различается. Мышцы, например, используют в качестве источника энергии глюкозу, жирные кислоты, кетоновые тела и синтезируют гликоген в качестве энергетического резерва, в то время как мозговая ткань в качестве энергетического источника использует исключительно глюкозу. Специализация жировой ткани — синтез, запасание и мобилизация триацилглицеролов. Исключительно велика роль печени в обмене практически всех органов. Это мобилизация гликогена и глюконеогенез, которые обес-

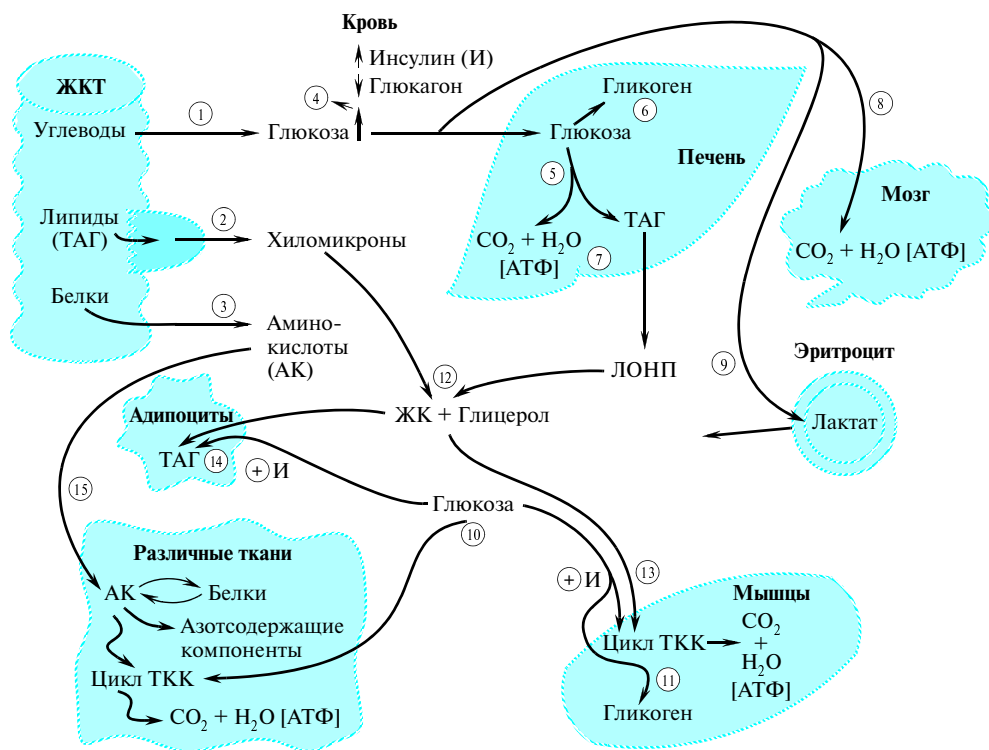


Рис. 27.1. Метаболический статус организма:

цифры в кружках указывают приблизительную последовательность метаболических превращений; ТАГ — триацилглицерол; ЖК — жирные кислоты; АК — аминокислоты

печивают потребности организма в глюкозе; синтез и эстерификация жирных кислот, их упаковка в виде ЛОНП и транспорт в жировую ткань. Печень при голодании способна обеспечить синтез кетонových тел, которые могут служить источником энергии, в том числе в мозговой ткани. Интеграция метаболических процессов во всех этих органах осуществляется гормонами и в первую очередь инсулином, глюкагоном и адреналином.

Таким образом, именно в процессе метаболизма осуществляются следующие специфические функции живой клетки:

- извлечение энергии из окружающей среды;
- превращение экзогенных веществ в «строительные блоки», т. е. предшественники биополимеров;
- сборка биополимеров из «строительных блоков»;
- деградация биомолекул, уже выполнивших свои функции.

27.2. Центральные пути

Как отмечалось ранее (гл. 15), одним из важнейших открытий метаболической биохимии было обнаружение того факта, что одни и те же реакции протекают при обмене различных групп соединений. Их объединили в одно

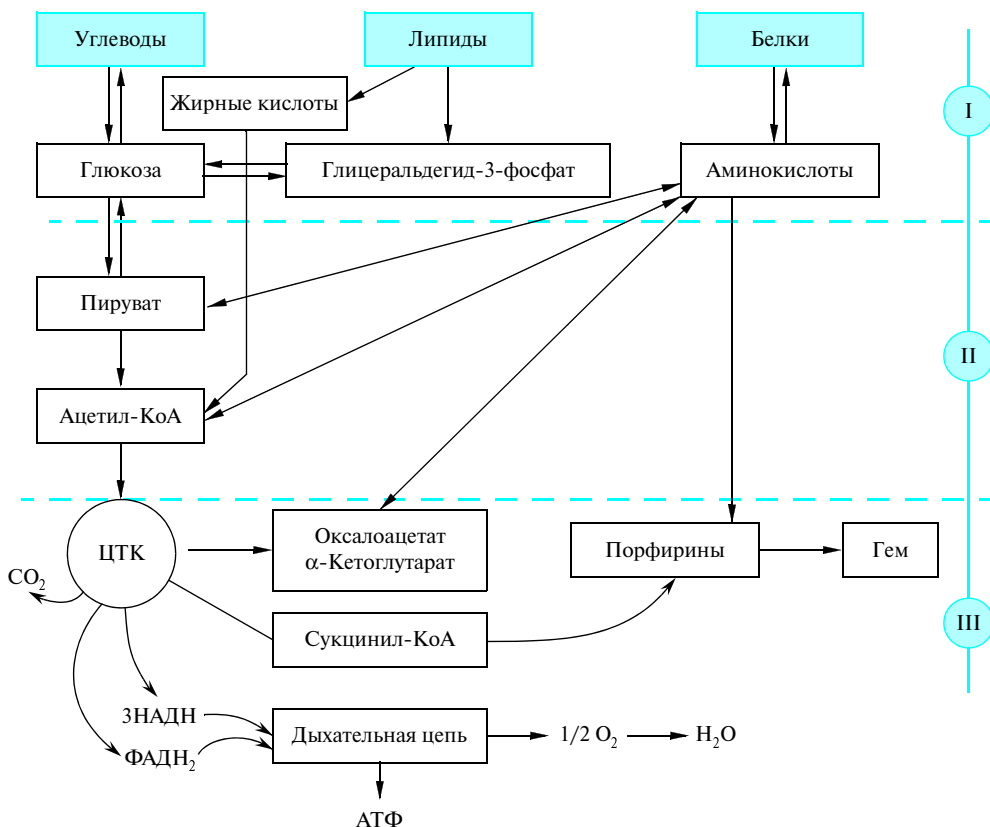


Рис. 27.2. Взаимосвязь обмена белков, углеводов, липидов:
I, II, III — этапы метаболизма

понятие — *центральные пути обмена*, сходные у всех живых организмов, а образующиеся при этом равноценные метаболиты получили название *ключевых*.

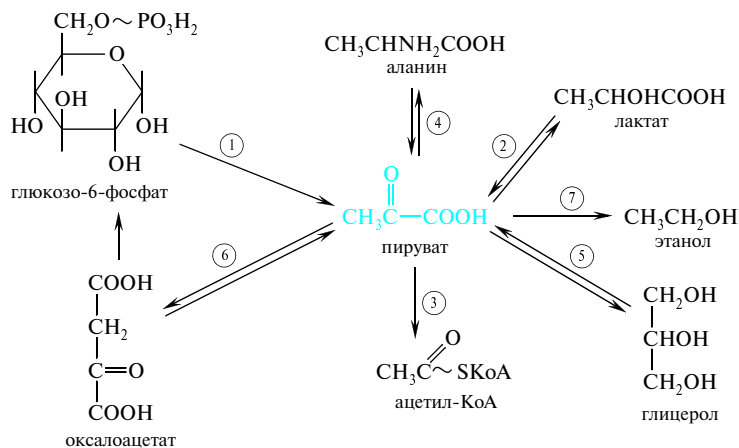
В настоящее время принято выделять три главных этапа превращения основных биомолекул — белков, углеводов, липидов, — в процессе которых происходит генерация АТФ и образование структурных блоков, необходимых для реакций биосинтеза (рис. 27.2).

Более подробно интеграция обмена этих соединений, в том числе и нуклеиновых кислот, приведена на упрощенной метаболической карте (рис. 27.3), а многие из указанных на ней процессов освещены при описании обмена отдельных групп соединений (гл. 18—20; 23—26).

Рассмотрим превращения веществ на основных этапах метаболизма.

На первом этапе крупные молекулы (биополимеры) распадаются на основные структурные блоки (мономерные). Дегградация молекул происходит преимущественно гидролитическим путем, реакции являются экзергоническими, но освобождающаяся энергия трансформируется преимущественно в тепловую форму, и генерации АТФ при этом не происходит. Первый этап является специфичным для каждого класса соединений, соответственно катализируется специфичными ферментными системами и завершается образованием мономерных молекул — гексоз, аминокислот, глицерола, жирных кислот.

На втором этапе происходит превращение упомянутых выше мономерных молекул с образованием общих, равнозначных для всех групп соединений 3- или 2-углеродных фрагментов, а именно **пирувата** (C_3) или **ацетил-КоА** (C_2). Эти метаболиты получили название *ключевых*, поскольку именно через них осуществляется взаимосвязь между обменом различных веществ в организме на втором этапе метаболических превращений веществ. Пируват лежит в точке пересечения ряда метаболических путей. Ниже приведены пути метаболизма пирувата:



В процессе гликолиза молекула глюкозо-6-фосфата превращается в две молекулы пирувата, последний в анаэробных условиях восстанавливается до лактата. Третья важная реакция — окислительное декарбоксилирование пирувата, которое завершается образованием ацетил-КоА (C_2 -фрагмент), который затем вовлекается в цикл трикарбоновых кислот. Через реакцию трансаминирования пируват связан с аминокислотами, а при окислении глицерола (метаболит липидов) образуются триозы (3-фосфоглицериновый альдегид или 3-фос-

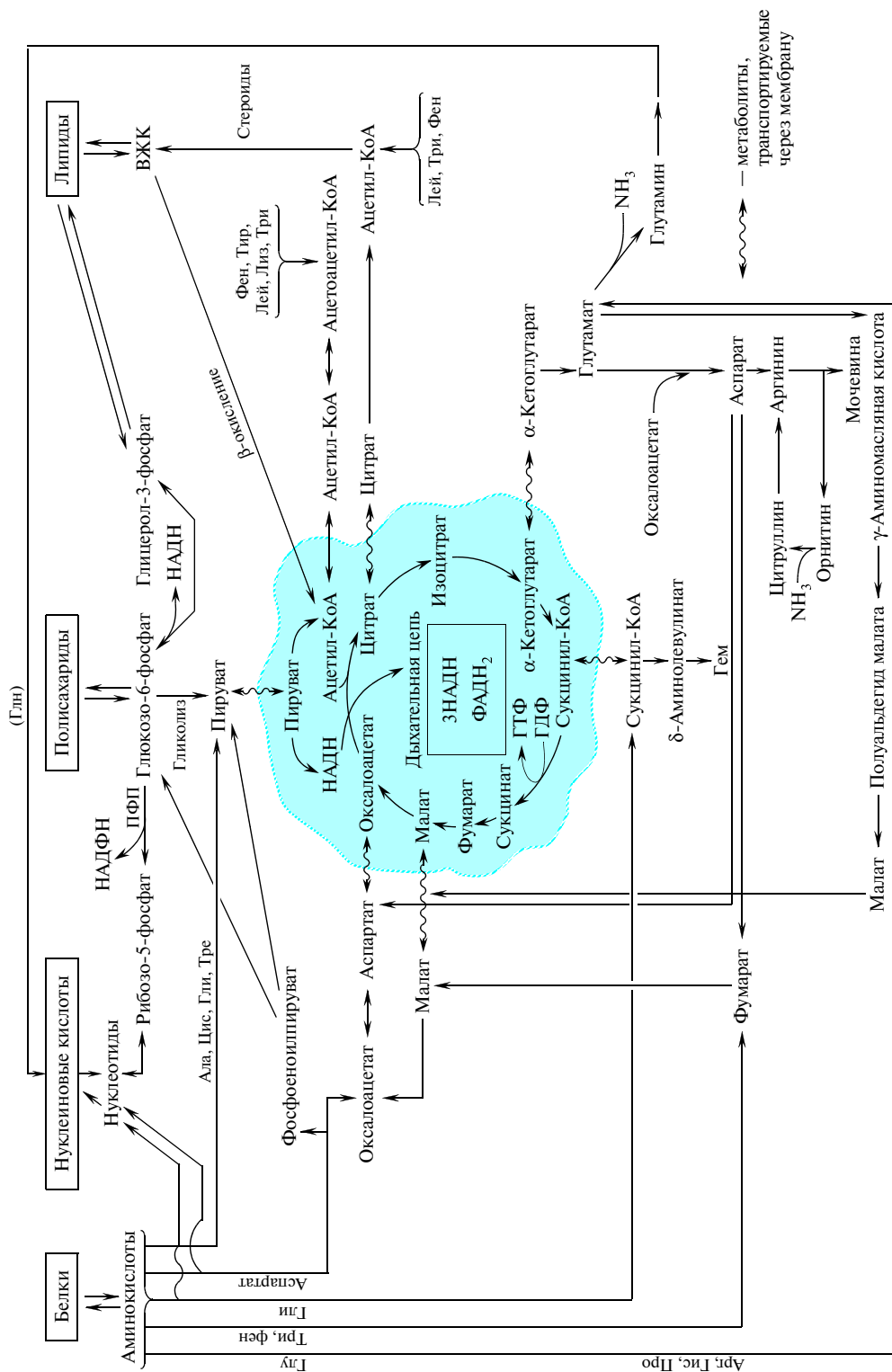
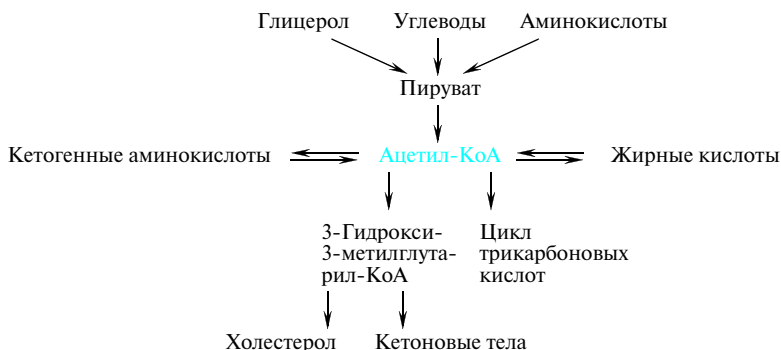


Рис. 27.3. Интеграция обмена веществ в клетке: в цвете — митохондриальный матрикс

фодиоксиацетон), который далее вовлекается в процесс гликолиза. Еще один путь метаболизма пирувата — его карбоксилирование и превращение в оксалоацетат. В дрожжах он способен метаболизировать также с образованием этилового спирта. Реакция карбоксилирования позволяет пирувату либо включиться в процесс глюконеогенеза, либо образующийся из него оксалоацетат участвует в пополнении пула промежуточных метаболитов цикла ТКК, если клетка испытывает недостаток АТФ (гл. 19).

Ацетил-КоА представляет еще более разветвленный узел метаболических путей:



Через ацетил-КоА перекидывается мостик от моносахаридов и аминокислот к липидам. Основным источником ацетил-КоА является окислительное декарбоксилирование пирувата и β -окисление жирных кислот.

Таким образом, на втором этапе образуется практически единственный общий метаболит катаболизма биомолекул различных классов в клетках — активированная форма уксусной кислоты. Как отмечалось ранее (гл. 1), по критерию химических свойств уксусная кислота из всех образующихся в обмене структурных молекул (двух-трех углеродных фрагментов) наиболее предпочтительна для использования в биологических системах как для реакций биосинтеза, так и последующего катаболизма до образования конечных продуктов. Следовательно, выбор ацетил-КоА в качестве основного центрального метаболита однозначно целесообразен, и в этом проявляется одно из свойств живой материи — принцип *молекулярной целесообразности*. Катаболизм ацетил-КоА — это его полное окисление до CO_2 в цикле ТКК, реакции же анаболического характера — синтез холестерина, кетоновых тел и жирных кислот.

Метаболические превращения второго этапа сопровождаются генерацией энергии в форме АТФ или генерированием восстановительных эквивалентов НАДФН, необходимых для реакций биосинтеза многих соединений. Незначительная часть АТФ при этом синтезируется путем субстратного фосфорилирования (гликолиз); основная часть — путем окислительного фосфорилирования.

Третий этап — это реакции цикла трикарбоновых кислот, процесса, наглядно демонстрирующего единство метаболических превращений. Это основной *амфиболический* путь, обеспечивающий, с одной стороны, полное окисление ацетил-КоА, образовавшегося при распаде веществ разных классов (аминокислоты, углеводы, липиды) до CO_2 и H_2O , и, с другой стороны, — предоставляющий исходные соединения для биосинтеза различных соединений. Цикл трикарбоновых кислот играет также центральную роль в энергетике

ческом обмене, восстановительные эквиваленты окислительных реакций цикла депонируются в форме НАДН и ФАДН₂, окисление которых в дыхательной цепи митохондрий сопровождается синтезом АТФ — универсальной энергетической «валюты» в организме.

27.3. Катаболизм и анаболизм: взаимосвязь и особенности

Связь между катаболизмом и анаболизмом проявляется на трех уровнях — источников углерода, энергетическом и восстановительных реакций анаболизма.

На уровне источников углерода. Промежуточные продукты центральных путей катаболизма становятся субстратами для анаболических реакций, в процессе которых образуются структурные блоки, необходимые для синтеза макромолекул.

На энергетическом уровне. В процессе катаболизма вырабатывается метаболическая энергия в форме АТФ; анаболические же процессы, как правило, являются эндергоническими и потребляют АТФ.

На уровне восстановительной способности. Катаболические процессы являются в основном окислительными и служат донорами высокоэнергетических электронов, для анаболизма же характерно обратное. Основным донором электронов в восстановительных реакциях биосинтеза является НАДФН, восстановление которого происходит в реакциях катаболизма, большей частью в пентозофосфатном пути окисления глюкозы. Напомним существенное различие в функциях НАДФН и НАДН. При катаболизме образуются восстановленные формы как НАДФ⁺, так и НАД⁺, а при анаболизме потребляется почти исключительно НАДФН, в то время как НАДН служит донором высокоэнергетических электронов в процессах митохондриального окисления, сопряженного с синтезом АТФ. Основное различие в реакциях путей катаболизма и анаболизма заключается в том, что они редко повторяют друг друга.

Это совершенно очевидно, когда продукт катаболизма не идентичен тому источнику углерода, который используется в процессе анаболизма. Так, при синтезе многих аминокислот, например при распаде ароматических аминокислот, образуются ацетил-КоА и фумаровая или янтарная кислоты, тогда как для синтеза тех же аминокислот исходными продуктами служат фосфоенолпирувиноградная кислота и альдотетрозфосфат.

Иной представляется картина для обмена жирных кислот. Здесь катаболизм завершается образованием ацетил-КоА, а биосинтез начинается с того же самого промежуточного продукта и идет по пути, который на первый взгляд представляется простым повторением катаболической последовательности реакций в обратном порядке. В главе 23 было обращено внимание на то, что это далеко не так. Во-первых, ацетил-КоА должен сначала превратиться в более реакционноспособный малонил-КоА, который не является промежуточным продуктом при катаболизме; во-вторых, весь набор ферментов, ответственных за превращение малонил-КоА в ацилпроизводные с более длинной цепью, отличается от набора ферментов, участвующих в катаболизме, и, наконец, в-третьих, эти ферменты локализованы совсем в другом компартменте клетки.

Даже при биосинтезе глюкозы, который протекает в основном по пути обращения целого ряда легко обратимых ферментативных реакций гликолиза,

синтез отличается от распада в двух наиболее критических точках всей последовательной цепи реакций, а именно в начале и конце. Так, например, в процессе катаболизма глюкозы превращается в глюкозо-6-фосфат посредством реакции трансфосфорилирования с участием АТФ; однако при анаболизме она образуется из фосфорного эфира путем простого гидролиза. Пируват образуется катаболически из фосфоенолпирувата путем трансфосфорилирования — переноса фосфатной группы на АДФ; в анаболических же процессах он используется у большинства организмов благодаря двум связанным реакциям: сначала пируват карбоксилируется до оксалоацетата и только потом превращается в фосфоенолпируват.

Следует отметить, что разделение путей биосинтеза и распада имеет важное значение для эффективной регуляции метаболизма.

27.4. Основные аспекты регуляции метаболизма

Поток веществ, совокупность реакций, протекающих по различным путям обмена веществ, являются в живом организме строго скоординированными и приспособлены к его потребности. Эти потребности в значительной мере определяются составом среды, в которой находится данный организм; кроме того, у высших организмов они зависят также от сигналов, которые данная клеточная популяция (или ткань) получает от всех остальных клеточных популяций (или тканей) либо непосредственно, либо косвенным путем — через лимфу и кровь, нервную систему и др.

В предыдущих главах описаны как основные молекулярные механизмы регуляции биокатализа (гл. 6), так и частные случаи регуляции обмена отдельных классов веществ (гл. 20, 23—26). В настоящей главе будут представлены лишь часто повторяющиеся мотивы в механизмах регуляции метаболизма.

Регуляция может осуществляться на многих уровнях, но главную роль играют регуляторные механизмы двух типов. Один из них основан на том, что состав окружающей среды влияет на скорость и интенсивность синтеза различных ферментов. Этот механизм, относительно медленно действующий, регулирующий обмен путем *индукции* и *репрессии*, описан в гл. 29. Следует обратить внимание, что скорости синтеза и распада регуляторных ферментов чаще всего регулируются гормонами.

Другой, более быстрый путь регуляции заключается в воздействии на *скорость* и *интенсивность* одной или нескольких чувствительных ферментативных реакций. Иными словами, это механизм, действующий *на уровне обмена веществ* в собственном смысле этого слова. Обычно особенно чувствительны к этому общему регуляторному механизму начальные и завершающие реакции специфических метаболических цепей, т. е. регуляторные ферменты, входящие в состав определенного мультиферментного комплекса. При этом потенциальные регуляторные ферменты — это ферменты, катализирующие, как правило, необратимые реакции. Часто бывает также, что эта регуляция, которая может быть как положительной (*активация*), так и отрицательной (*ингибирование*), осуществляется одним из конечных продуктов данной цепи реакций. По этой причине ингибиторный тип регуляции был назван *ингибированием по типу обратной связи* или *ретроингибированием*. Такое ингибирование первых этапов катаболизма (или противоположный процесс — активация) основано

на *аллостерических эффектах*. Примером аллостерического ингибирования являются ферменты, катализирующие ключевые этапы, например **изоцитрат-дегидрогеназа** в цикле ТКК, **фосфофруктокиназа** в гликолизе, **фосфорибизилипрофосфатсинтаза** в синтезе пуриновых нуклеотидов и многие другие.

Активность регуляторных ферментов контролируется не только аллостерически, но и с помощью обратимой химической ковалентной модификации, чаще всего путем фосфорилирования — дефосфорилирования ключевого фермента. Например, как отмечалось ранее (гл. 18 и 20), фосфорилирование активирует гликогенфосфорилазу и ингибирует гликогенсинтазу — фермент, катализирующий реакцию, обратную действию первого фермента, т. е. процессы, противоположно направленные, скоординированы таким образом, что, когда один из этих путей проявляет высокую активность, другой бездействует. Ковалентная модификация регуляторных ферментов — это заключительная стадия каскада реакций, передающих и усиливающих регуляторное действие некоторых гормонов (например, адреналина, глюкагона) непосредственно на обмен веществ в клетке.

Важную роль в регуляции внутриклеточного обмена играет компартментализация, т. е. разграничение метаболизма в разных пространственно разграниченных мембраной участках клетки (компартментах). Избирательная проницаемость мембран определяет судьбу ряда метаболитов. Скорость трансмембранного переноса веществ, их взаимодействие с мембраной служат сигналом для изменения состояния клетки, направленности в ней метаболических путей (табл. 27.1).

Таблица 27.1. **Компартментализация основных метаболических процессов в эукариотической клетке**

| Компартмент | Метаболический путь |
|--|---|
| Цитозоль | Гликолиз. Пентозофосфатный путь. Синтез жирных кислот. Синтез триацилглицеролов. Синтез нуклеотидтрифосфатов |
| Матрикс митохондрий | Окислительное декарбоксилирование пирувата. Цикл трикарбоновых кислот. β -Окисление жирных кислот. Синтез кетоновых тел. Окислительное фосфорилирование |
| Участвуют оба компартмента — цитозоль и митохондриальный матрикс | Глюконеогенез. Синтез мочевины. Синтез гема |

27.5. Взаимопревращение веществ в процессе метаболизма

Упрощенные схемы взаимосвязи основных путей обмена (см. рис. 27.2 и 27.3), перечисленные выше примеры, естественно, не исчерпывают все многообразие взаимопревращений веществ и энергии в живых организмах.

Как было отмечено ранее, скорость распада одних веществ и синтез других регулируются разными путями, главными из которых являются аллостери-

ческие взаимодействия, ковалентная модификация, изменения в количестве ферментов, компартментализация и взаимодействие между метаболически специализированными органами.

Границы взаимозаменяемости позволяют понять возможные нарушения обмена при патологии или голодании, механизмы компенсации обмена, т. е. пути образования одних веществ за счет эндогенных резервов других.

Так, совершенно очевидно, что организм длительное время может обходиться без липидов, поскольку при метаболизме глюкозы и аминокислот образуются глицерол-3-фосфат, ацетил-КоА, происходит генерация восстановительных эквивалентов на НАДФН, т. е. создаются все условия для синтеза липидов. Следует отметить, что синтез глюкозы из ацетил-КоА происходит в организме человека и млекопитающих не может и только глицерол и гликогенные аминокислоты являются предшественниками для запуска процесса глюконеогенеза.

Важно подчеркнуть, что, например, при голодании адаптация метаболических превращений направлена на сведение к минимуму расщепления белка и аминокислот. При этом в печени из ацетил-КоА активируется синтез кетонных тел (β -оксибутирата и ацетона), которые служат источником энергии для многих тканей, в том числе и мозга. Это приводит к уменьшению скорости распада белков и снижению потребности в глюкозе.

Таким образом, взаимопревращение метаболитов, образующихся при катаболизме веществ разных классов, тесно связано с энергетическим обменом. Известно, что одним из энергоемких процессов в организме является биосинтез белка, и становится понятна в этом отношении интеграция этого процесса с катаболическими реакциями превращения глюкозы и триацилглицерола — основными источниками синтеза АТФ в процессе окислительного фосфорилирования. В свою очередь, все реакции углеводного и липидного обмена катализируются ферментами, являющимися белками. Следует отметить, что единство метаболических процессов находится под воздействием условий внешней среды и способность живых организмов сохранять постоянство внутренней среды — *биохимический гомеостаз* — при помощи механизмов саморегуляции является одним из важнейших свойств всех живых систем.

Глава 28

МАТРИЧНЫЙ СИНТЕЗ ДНК И РНК

28.1. Общая характеристика

Матрицей для образования нуклеиновых кислот является фрагмент цепи ДНК, а для белка — цепь мРНК. Синтез ДНК происходит одновременно на обеих цепях ДНК-матрицы, а синтез РНК — на одной из ее цепей. В обоих случаях необходимо расплетение двухспиральной ДНК и формирование условий протекания матричного синтеза. Кроме матрицы, необходимы субстраты, являющиеся строительным материалом при образовании биополимеров, а также ферменты, катализирующие соответствующие биосинтетические процессы.

Субстратами для синтеза ДНК являются дезоксирибонуклеозидтрифосфаты, а для синтеза РНК — рибонуклеозидтрифосфаты. Аминокислоты, соединенные с тРНК, служат субстратами для синтеза белка.

Ферменты, катализирующие матричный синтез нуклеиновых кислот, называются ДНК- или РНК-полимеразами. В некоторых случаях цепь мРНК может служить матрицей не только для синтеза белка, но и для синтеза ДНК. Этот процесс катализируется ферментом **обратной транскриптазой**. Каждый из трех синтезов биополимеров включает в себя три этапа: *инициацию* — начало образования полимера из двух мономеров, *элонгацию* — наращивание полимерной цепи и *терминацию* — прекращение матричного синтеза. Механизмы синтеза ДНК одинаковы для прокариот и для эукариот. В их основе заложены принципы комплементарности азотистых оснований ($A=T$ и $G\equiv C$), обеспечивающие строгое соответствие нуклеотидной последовательности родительской и дочерней цепей ДНК.

28.2. Синтез ДНК (репликация)

Полимеризация дочерней ДНК на матрице ДНК приводит к ее удвоению или *репликации*. Для реализации механизма репликации необходима матрица — расплетенная цепь ДНК, субстраты, участвующие в полимеризации ДНК, ферменты, катализирующие этот процесс, ионы Mg^{2+} , а также белковые факторы, обеспечивающие деспирализацию двухнитевой ДНК. У прокариот ДНК имеет форму кольца, причем в определенном *ori*-сайте (*origin* — начало репликации) цепи расходятся и образуются две репликативные вилки, движущиеся в противоположных направлениях. У эукариот имеется большое число *ori*-сайтов, и репликация проходит одновременно на многих участках ДНК. В точках начала репликации отмечено большое количество $A=T$ пар оснований, соединенных всего лишь двумя водородными связями, что способствует более легкому разрыву и расхождению цепей.

28.2.1. Инициация репликации

Репликация всегда предшествует делению клетки и начинается с расплетения двойной спирали ДНК. Это осуществляется при помощи ферментов хеликаз, которые перемещаются вдоль цепей ДНК и раскручивают их. Процесс расплетения спиралей ДНК является энергозависимым и требует затраты АТФ. Интенсивное раскручивание ДНК может привести к образованию дополнительных витков. Это явление носит название *положительной сверхспирализации* или *сверхскрученности* и устраняется при помощи ферментов топоизомераз. В частности, **топоизомераза II** осуществляет релаксацию положительной сверхспирализации за счет образования отрицательных сверхвитков. Топоизомераза II также носит название **гираза**. После расплетения двух нитей ДНК необходимо их стабилизировать в этом состоянии. Оказалось, что существует специальный белок, специфично связывающийся с одной из нитей ДНК и препятствующий обратной рекомбинации в двойную спираль. Его называют белком SSB (*single strand binding*). Таким образом, расплетение ДНК и образование репликативных вилок является достаточным основанием (при наличии ферментов и субстратов репликации) для удвоения ДНК.

Белки, вовлеченные в процессы репликации, представлены в табл. 28.1.

Таблица 28.1. Типы белков, принимающих участие в репликации

| Белок | Основные функции |
|----------------|---|
| ДНК-полимеразы | Полимеризация дезоксирибонуклеотидов |
| Хеликазы | Раскручивание цепей ДНК |
| Топоизомеразы | Релаксация положительной сверхспирализации |
| Праймаза | Синтез РНК-праймера |
| Белок SSB | Препятствует обратной рекомбинации расплетенных цепей в двойную спираль |
| ДНК-лигазы | Соединяют фрагменты Оказаки на отстающей цепи |

Непосредственно синтез новой цепи ДНК осуществляется при помощи ДНК-полимераз. У *прокариот* найдено три типа этих ферментов, а именно: **ДНК-полимераза I**, **ДНК-полимераза II** и **ДНК-полимераза III**. ДНК-полимераза I — протомер с молекулярной массой около 100 kDa. Фермент полифункционален; он обладает полимеразной и нуклеазной активностью. Принимает участие в процессах репарации ДНК. Роль ДНК-полимеразы II пока не совсем ясна, известно, однако, что мутации генов, ее кодирующих, не сказываются на жизнеспособности клеток. Из этих ферментов ДНК-полимераза III оказалась наиболее функционально значимой; именно этот фермент катализирует наращивание полинуклеотидной цепи ДНК. Он является олигомером и состоит из семи неравнозначных субъединиц, одна из которых обладает наибольшей полимеразной активностью. Оказалось, однако, что ДНК-полимераза III не может самостоятельно присоединяться к цепи ДНК и инициировать образование новой цепи, поэтому синтез должен быть инициирован какой-то другой структурой. Такой структурой является фрагмент РНК, который синтезируется в сайте инициации и к которому присоединяется ДНК-полимераза. Этот фрагмент называется праймером, а РНК-полимераза, катализирующая его образование, — праймазой.

У *эукариот* найдено пять типов ДНК-полимераз: α , ϵ , β , γ и δ . Основным ферментом синтеза ДНК у эукариот является ДНК-полимераза δ . Функции ДНК-полимеразы β подобны таковым для ДНК-полимеразы I прокариот. Что касается ДНК-полимеразы γ , она катализирует процессы полимеризации нуклеотидов в митохондриях (табл. 28.2).

ДНК-полимеразы эукариот менее активны по сравнению с прокариотическими ферментами. ДНК-полимераза α наращивает в секунду около 100 нуклеотидов, что почти в 10 раз меньше, чем ДНК-полимераза III у прокариот.

Таблица 28.2. Сравнительная характеристика ДНК-полимераз у прокариот и эукариот

| <i>E. coli</i> | Животные клетки | Функции |
|----------------|-----------------|--|
| I | α | Идентификация и заполнение брешей на отстающей цепи ДНК. Деградация праймеров |
| II | ϵ | Контроль правильного чередования дезоксирибонуклеотидов в ново-синтезированной цепи ДНК. Репарация ДНК |
| | β | Репарация ДНК |
| | γ | Синтез митохондриальной ДНК |
| III | δ | Синтез цепей ДНК |

28.2.2. Элонгация репликации

От 3'-конца праймера начинается синтез новой цепи ДНК при помощи ДНК-полимеразы III. Синтез идет в направлении 5'→3' одновременно на обеих цепях матрицы. Учитывая тот факт, что цепи ее антипараллельны, новосинтезированные цепи также должны были бы расти в противоположных направлениях при помощи двух различных ферментов. На самом же деле, как показано выше, обнаружена одна ДНК-полимераза, катализирующая рост цепи в направлении 5'→3'. А. Корнберг в связи с этим выдвинул предположение о том, что на одной из цепей синтез должен быть прерывистым. Это в дальнейшем блестяще подтвердил в эксперименте японский исследователь Р. Оказаки. Было установлено, что на одной цепи направление синтеза совпадает с направлением движения репликативной вилки (рис. 28.1). Эта цепь называется *лидирующей*. Цепь, направление синтеза которой противоположно движению репликативной вилки, называют *отстающей*, и синтез этой цепи имеет прерывистый характер.

После образования праймера в направлении 5'→3' образуется фрагмент ДНК. На отстающей цепи таких фрагментов синтезируется большое количество, и они называются *фрагментами Оказаки*. Их величина у прокариот составляет около 1000 нуклеотидов, у эукариот — в три раза меньше.

После образования фрагментов ДНК рибонуклеозидные участки удаляются при помощи специфичной рибонуклеазы или РНК-азы Н. Кроме того, в деградации праймеров принимает участие ДНК-полимераза I, обладающая как полимеразной, так и нуклеазной активностью. Этот фермент имеет два функционально значимых центра. В то время как нуклеазный центр катализирует деградацию праймера, полимеразный центр заделывает образовавшиеся бреши, достраивая дезоксирибонуклеозид-фосфатные участки.

28.2.3. Терминация репликации

У прокариот имеются специальные терминаторы, прекращающие синтез цепи ДНК. Этими терминаторами являются определенные последовательнос-

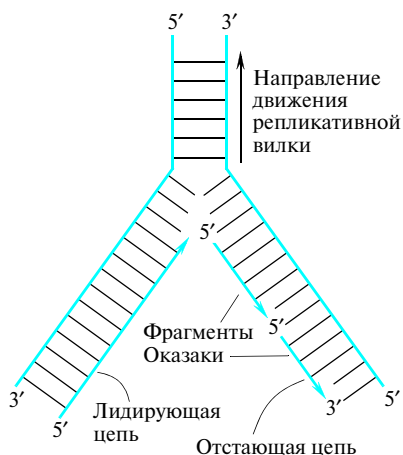


Рис. 28.1. Репликативная вилка

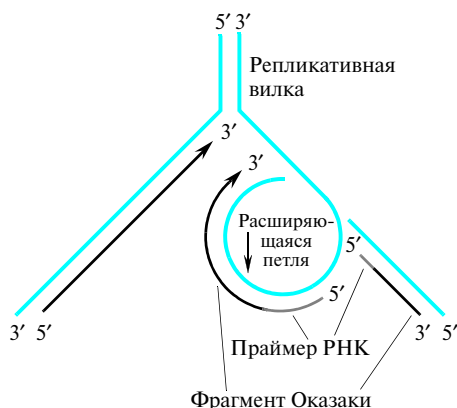


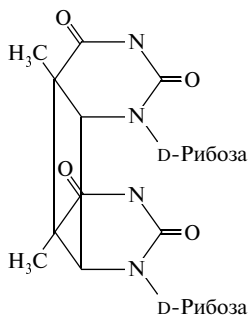
Рис. 28.2. Фрагменты Оказаки (по В. Эллиоту)

ти нуклеотидов, при достижении которых ДНК-полимеразой синтез новой цепи ДНК прекращается.

Механизм действия ДНК-полимераз эукариот подобен таковому у прокариот. Отличия в процессе репликации заключаются в следующем: хромосома эукариот имеет линейную структуру, на обеих цепях расположено множество репликонов и соответствующее количество терминаторов. Линейность ДНК эукариот является причиной проблем, которых не существует у прокариот, имеющих кольцевую ДНК. В отличие от лидирующей цепи, которая реплицируется полностью, праймер, находящийся у 3'-конца отстающей цепи, разрушается и не реплицируется при помощи ДНК-полимераз. Для предотвращения укорачивания цепи на концах хромосомы находятся *теломеры* — участки нереплицируемой ДНК. На этом участке ДНК может синтезироваться праймер, и полнота репликации сохранится. Теломера состоит из большого числа повторов, например у человека: ТТАГГГ. Матрицей для теломеры является РНК, а специальный фермент теломераза, представляющий собой обратную транскриптазу, присоединяет эти фрагменты к 3'-концу для сохранения исходных размеров хромосомы.

28.3. Репарация ДНК

Для удаления ошибок репликации, неизбежных в процессе матричного синтеза таких огромных биополимеров, какими являются ДНК, существует специальная система ферментов *репарации*. Например, сопутствующие репликации одноцепочечные разрывы восстанавливаются при помощи ДНК-полимеразы I и ДНК-лигазы. ДНК-полимераза I, будучи 3'-5'-экзонуклеазой, проверяет правильность присоединения нуклеотидов вновь образованной нити ДНК к нуклеотидам матрицы и гидролизует концевой нуклеотид, если его основание не комплементарно основанию матричной цепи. ДНК-полимераза III, также обладающая нуклеазной активностью, будет добавлять нуклеотиды только в том случае, если предыдущее основание дочерней цепи комплементарно связанно с соответствующим основанием матричной цепи. Таким образом, осуществляется репарация неправильного спаривания нуклеотидов и контролируется корректность синтеза ДНК. Наиболее полно изучены повреждения, возникающие в клетках под действием ультрафиолетового облучения. Оно вызывает, в частности, взаимодействие двух соседних пиримидиновых оснований, чаще всего тиминов. При этом образуется тиминовый димер, блокирующий действие ДНК-полимеразы III:



Тиминовые димеры вырезаются при помощи ферментов репарации. У *E. coli* специфичная нуклеаза, вырезающая тиминный димер, кодируется тремя генами, белковые продукты которых после ассоциации образуют активный комплекс, функционирующий при участии АТФ. Этот комплекс присоединяется к цепи ДНК и производит два разрыва: на расстоянии семи нуклеотидов от 5'-конца тиминового димера и четырех нуклеотидов от 3'-конца этого же димера. После вырезания поврежденного олигонуклеотида однонитевый участок неповрежденной цепи защищается при помощи SSB-белка от непрограммируемой деградации. Заполнение бреши происходит при помощи ДНК-полимеразы I, синтезирующей короткие олигонуклеотидные фрагменты ДНК. Эти фрагменты затем при помощи ДНК-лигазы ковалентно присоединяются к цепи ДНК. Таким образом, полностью устраняются повреждения, и восстанавливается нативная двухцепочечная спираль ДНК.

28.3.1. Репарация депуринизированной ДНК

В результате действия повышенных температур некоторые пуриновые нуклеотиды лишаются своих азотистых оснований и возможности участия в репликации. Процесс репарации осуществляется при помощи особого фермента — **апуриновой эндонуклеазы**, которая находит участок апуриновой ДНК и вырезает его. Последующие события, связанные с синтезом олигонуклеотида и его встраиванием в цепь ДНК, аналогичны таковым при репарации тиминных димеров.

28.3.2. Репарация химически модифицированных азотистых оснований

Чаще всего такого рода модификация связана с метилированием под действием алкилирующих агентов. Репарация осуществляется при помощи группы специальных ферментов — ДНК-гликозилаз, каждая из которых специфична к одному из модифицированных азотистых оснований. В результате происходит вырезание основания из нуклеотида, причем его углеводнофосфатный участок остается неизменным. Таким образом, образуются апуриновые или апиримидиновые участки, которые репарируются по механизму, описанному для депуринизированной ДНК. Застройка апуриновых или апиримидиновых брешей, образованных в результате действия ДНК-гликозилаз, может происходить за счет внедрения в поврежденный нуклеотид немодифицированного азотистого основания вместо удаленного. Ферменты, катализирующие этот процесс, называются *инсертазами*.

28.3.3. SOS-Репарации

Все описанные выше типы репарации катализируются конститутивными ферментами, присутствующими в клетках в постоянных количествах. Кроме того, существует репарация, осуществляемая индуцибельными ферментами, так называемая SOS-репарация. Этот механизм включается для спасения клетки в условиях, когда нарушения ДНК реально угрожают ее жизнеспособности. Во-первых, при этом снижается скорость репликации, что делает процесс репарации более эффективным; во-вторых, блокируется деление клеток;

и, в-третьих, индуцируется синтез ряда белков, участвующих в образовании олигонуклеотидов, в частности белков теплового шока. Действие SOS-репарации носит кратковременный характер, и примерно через 40—60 мин она переключается на конститутивную репарацию.

28.4. Мутации

Если ошибка синтеза не устраняется системами репарации, то неизбежна деформация дуплекса и искажение генетической программы. Такие сохраняющиеся при репликации изменения ДНК носят название мутации. Они могут быть *спонтанными* и *индуцированными*. Частота спонтанных мутаций невелика и составляет всего 10^{-5} — 10^{-8} на клетку. В основном имеют место мутации, обусловленные действием внешних факторов: физических (радиация), биологических (вирусы) и чужеродных химических веществ на генетический аппарат клеток. Наиболее многочисленными и опасными являются мутагены окружающей среды. Загрязнение воды и воздуха различными химическими отходами промышленных предприятий, химическими средствами защиты растений отрицательно сказывается на генетической программе всех живых организмов. В последние годы установлено, что ряд пищевых красителей, стабилизаторов и вкусовых добавок обладает выраженной мутагенной активностью, что привело к значительному ужесточению требований, связанных с применением химических веществ в пищевой промышленности. Многие лекарственные вещества также воздействуют на генетический аппарат клеток и должны подвергаться специальным генетическим испытаниям.

Различают *точечные* мутации, а также мутации, связанные с более крупными хромосомными перестройками. Точечные мутации разделяют на три типа.

- Мутации, приводящие к изменению смысла кодона (missense-мутации). Это может произойти при замене пар оснований, ответственных за включение определенной аминокислоты в синтез белка, например замена Г — Ц на А — Т. В результате происходит подстановка другой аминокислоты в полипептидную цепь. При этом новая аминокислота может исказить свойства белка и сделать его функционально незначимым.

- Мутации, делающие кодон бессмысленным (nonsense-мутации), т. е. не несущим информации (например, УАА или УАГ). В этом случае происходит обрыв полипептидной цепи и образование дефектного белка.

- Мутации, сдвигающие рамку считывания информации. Это может происходить при выпадении какого-либо нуклеотидного звена цепи ДНК (делеции) или вставки дополнительных нуклеотидов (инсерции). Сдвиг рамки считывания меняет всю программу синтеза полипептидной цепи и, как правило, приводит к образованию нефункциональных белков, которые быстро деградируют в клетках.

28.4.1. Селективный мутагенез

Помимо спонтанного, имеет место селективный мутагенез, который широко используется для получения продуцентов ценных целевых продуктов, например пищевых кислот, лекарственных веществ и т. д. Для получения высокоэффективных штаммов-продуцентов используют направленный мутагенез,

отбор продуктивных клеток, а также выращивание их на селективных средах. Например, получение ценного пищевого продукта — *лимонной кислоты* — в промышленных условиях связано с созданием высокоэффективных штаммов-продуцентов *Asp. Niger*. Для этого дикие штаммы подвергают действию мутагенов, а затем выращивают на среде с крахмалом.

Более надежным способом получения суперпродуцентов является генная инженерия (гл. 31).

28.5. Генетические рекомбинации

Гораздо большее значение, чем мутации, для изменчивости видов имеют генетические рекомбинации. Они связаны с ассоциацией родительских молекул ДНК и появлением гибридных, дочерних макромолекул.

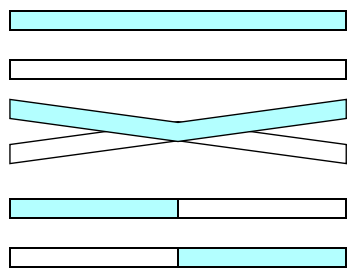


Рис. 28.3. Образование рекомбинантных геномов в результате кроссинговера

Следует отметить, что рекомбинации происходят не произвольно, а только в определенных точках хромосомы. Кроме того, для осуществления рекомбинации цепи ДНК должны иметь несколько гомологичных последовательностей нуклеотидов. Разделяют два типа генетических рекомбинаций:

- гомологичная, имеющая место при наличии большого количества протяженных гомологий двух молекул ДНК;
- негомологичная, для осуществления которой достаточно коротких гомологичных участков олигонуклеотидов.

Оба типа рекомбинаций осуществляются за счет разрыва участков цепей ДНК в определенных (горячих) точках с последующей перекрестной ассоциацией фрагментов. Такой механизм обмена генетической информации называется *перекрестом* или *кроссинговером* (рис. 28.3).

28.6. Транспозоны

Изучение структур геномов различных организмов поначалу создало представление о неизбежности локализации тех или иных генов в хромосомах. Это представление было пересмотрено после открытия Б. Мак Клинтон, которая в опытах с кукурузой показала, что гены могут перемещаться в пределах генома и влиять на механизмы экспрессии. В дальнейшем было установлено, что это явление характерно для многих эукариотических и прокариотических клеток. Транспозон *E. coli* представляет собой олигонуклеотид, включающий в себя ген фермента транспозазы, ответственной за перемещение транспозона, а также короткие концевые нуклеотидные последовательности. Транспозоны эукариотических клеток гораздо больше и включают в себя набор различных генов. Внутригеномное перемещение и встраивание транспозонов требует разрыва и последующего срачивания цепи ДНК. Репликация транспозона в одном сайте цепи, а затем перемещение и репликация в другом создают благоприятные возможности для дальнейших гомологичных рекомбинаций в клетке. Следует отметить, что транспозоны, встраиваясь в случайные сайты хромо-

сомы, подавляют функциональную активность генов, однако данные мутации в основном образуются и легко вырезаются из цепи ДНК.

Несмотря на локальное подавление генной активности, транспозиция в целом имеет большое позитивное значение в процессе эволюции. Перемещение транспозирующих фрагментов ДНК от одной плазмиды к другой дает возможность обмена генетической информацией, имеющей значение для процессов жизнедеятельности клеток. Например, введение в плазмиду-реципиент генов, ответственных за устойчивость к антибиотикам.

Транспозон не покидает своего места в плазмиде, а переносится его копия. Коинтегра́т в результате разрывов в цепи и объединения донорной и реципиентной плазмид представляет собой ассоциированную кольцевую молекулу ДНК, которая затем диссоциирует на продукты транспозиции (рис. 28.4).

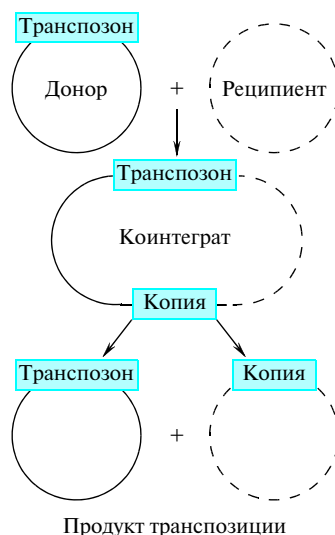


Рис. 28.4. Перенос транспозона из плазмиды донора в плазмиду реципиента

28.7. Синтез РНК (транскрипция)

Как уже было отмечено, ДНК не является матрицей для синтеза белка. Имеются специальные переносчики генетической информации от ДНК к белок-синтезирующему аппарату клеток. Этими переносчиками являются матричные РНК (гл. 14), которым гены передают свою информацию. мРНК образуется из макроэргов АТФ, ГТФ, ЦТФ и УТФ на матрице ДНК при помощи фермента РНК-полимеразы. В результате происходит синтез цепи РНК, нуклеотидная последовательность которой комплементарна последовательности одной из цепей ДНК. В результате транскрипции образуются три класса РНК. мРНК взаимодействует с рибосомами в качестве матрицы, на которой синтезируется полипептидная цепь. Транспортная, или тРНК, а также рибосомальная (рРНК) участвуют в функционировании белок-синтезирующего аппарата клеток. Репликация и транскрипция имеют общие черты, так как они осуществляются посредством матричного синтеза на одной из цепей ДНК по направлению $5' \rightarrow 3'$. Однако имеются и существенные различия. Новосинтезированная ДНК образуется на обеих цепях матрицы, полностью копируя ее полинуклеотиды. При синтезе РНК транскрибируется не вся матрица, а ее отдельные фрагменты, или *транскриптоны*, включающие в себя группу генов. Синтез РНК осуществляется при помощи фермента РНК-полимеразы. В клетках прокариот найден один тип этого фермента, состоящего из пяти субъединиц с молекулярной массой около 350 kDa. РНК-полимераза состоит из четырех полипептидных цепей ($\alpha\alpha\beta\beta'$), соединенных прочными связями и образующих стабильный кор-фермент, а также σ -субъединицы, соединенной с кор-ферментом слабыми связями.

РНК-полимераза прокариот является металлоэнзимом, так как содержит два атома цинка.

Таблица 28.3. Функции различных типов животных РНК-полимераз

| Тип РНК-полимеразы | Тип синтезируемой РНК |
|--------------------|-----------------------|
| I (A) | рРНК |
| II (B) | мРНК |
| III (C) | тРНК |

Найдено три класса (I, II и III) РНК-полимераз *эукариот*. Они по размерам гораздо больше, чем у прокариот (молекулярная масса лежит в интервалах 500—600 kDa). Как правило, эти ферменты содержат две большие субъединицы и ряд малых (до 14 субъединиц для РНК-полимеразы II) (табл. 28.3).

28.7.1. Инициация транскрипции

Инициация транскрипции является наиважнейшим фактором, определяющим начало синтеза РНК, его скорость и регуляцию.

Процесс транскрипции у прокариот начинается с присоединения σ -субъединицы к участку ДНК, называемому *промотором*. Этот участок не несет информации и служит для присоединения и ориентации **РНК-полимеразы** (рис. 28.5).

Присоединение фермента к промотору определяет рамку считывания информации с матрицы ДНК. На участке промотора имеется по меньшей мере два элемента (в области 10 и 35 нуклеотидов, если считать по направлению, противоположному движению фермента), участвующих во взаимодействии с σ -субъединицей РНК-полимеразы. Первый элемент (в области 10 нуклеотидов) называется **бокс Прибнова**, по фамилии открывшего его автора. Этот бокс имеет последовательность **ТАТААТ** на одной из цепей и комплементарную ей последовательность — на другой. В положении 35 найдена последовательность **ТТГАЦА**. Обе эти нуклеотидные последовательности взаимодействуют с σ -субъединицей РНК-полимеразы и закрепляют ее на цепи ДНК. Сродство некоторых участков промотора вне областей 10 и 35 к РНК-полимеразе усиливает скорость транскрипции. Эти участки называются дискриминаторами и являются сугубо индивидуальными для каждого промотора. Далее к σ -субъединице присоединяется корфермент и образуется закрытый транскрипционный комплекс. В результате раскручивания цепей ДНК разрываются водородные связи между парами нуклеотидов ДНК и образуется открытый транскрипционный комплекс. Инициация транскрипции у эукариот происходит по

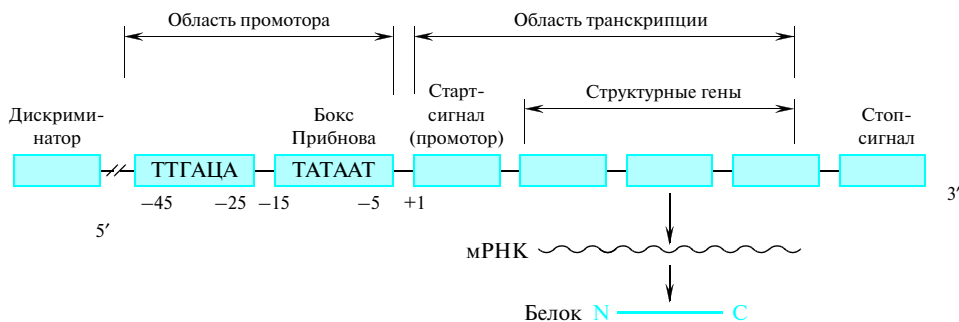


Рис. 28.5. Структура транскрибируемого участка ДНК прокариот

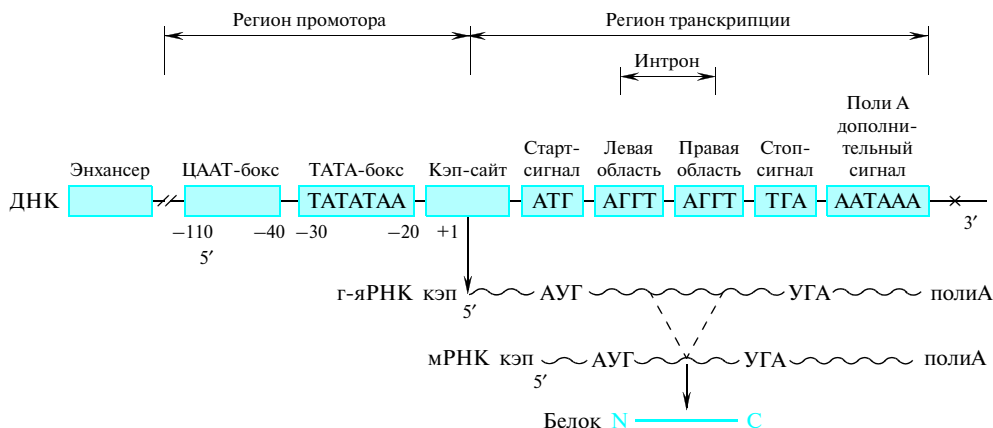


Рис. 28.6. Структура транскрибируемого участка ДНК эукариот

механизму, сходному для прокариот, однако последовательность нуклеотидов в регионе промотора несколько иная (рис. 28.6).

Последовательности **ТАТА** и **ЦААТ** в зоне промотора способствуют правильному расположению РНК-полимеразы на матрице ДНК. *Энхансеры*, локализованные на значительном удалении от зоны промотора, участвуют в регуляции процесса транскрипции. Сразу после начала транскрипции первый нуклеотид с 5'-конца подвергается модификации (метилированию гуанина), которая называется *кэпированием*. Поэтому первый нуклеотид, стартовая точка гена, называется **кэп-сайт**. Сигнал **ААТААА** (последняя последовательность, кодируемая РНК-полимеразой) способствует блокированию 3'-конца мРНК.

Кроме того, у эукариот образование инициаторного комплекса требует наличия специальных инициаторных белков, которые называются *общими факторами транскрипции*. Рассмотрим некоторые из них применительно к синтезу мРНК. К ним относится **ТАТА-связывающий белок**, или **ТСБ**, а также 8—10 белков, ассоциированных с ТСБ. Они носят название *ТСБ-ассоциированные факторы* или **ТАФ**. ТСБ и ТАФ образуют комплекс **ТФИД**, или *транскрипционный фактор Д* для РНК-полимеразы II.

Этот комплекс связывается с РНК-полимеразой и способствует более эффективному образованию инициаторного комплекса.

28.7.2. Элонгация транскрипции

После образования нескольких пар оснований происходит отделение σ -субъединицы от транскрипционного комплекса, а кор-фермент продолжает процесс наращивания цепи РНК на матрице, которой является одна цепь ДНК. Открытый комплекс включает в себя всего 15—20 пар нуклеотидов, так как по мере движения фермента в направлении $5' \rightarrow 3'$ водородные связи между нуклеотидами матрицы вновь восстанавливаются. У прокариот частично синтезированная мРНК уже взаимодействует с рибосомами и вовлекается в процесс синтеза белка. В клетках эукариот синтез РНК и белка разобщен, кроме того, новосинтезированные транскрипты подвергаются посттранскрипционным модификациям.

28.7.3. Терминация транскрипции

Терминация синтеза РНК у прокариот обусловлена наличием на матрице таких последовательностей, которые допускают возможность образования шпильки на транскрипте РНК. При этом связь транскрипта с матрицей значительно ослабляется, что в конечном счете приводит к отделению РНК (рис. 28.7).

У прокариот возможен механизм терминации с помощью специального белка (**ρ-белка**), обладающего хеликазной активностью. Этот белок присоединяется к транскрипту и движется вслед за РНК-полимеразой. По достижении сайта терминации и образования шпильки скорость движения фермента замедляется, ρ-белок догоняет РНК-полимеразу и расплетает дуплекс. В результате транскрипция прекращается, а новосинтезированная РНК отделяется от матрицы. У прокариот первичный транскрипт не претерпевает никаких изменений и зачастую транскрипция сопряжена с трансляцией.

Механизмы терминации транскрипции у *эукариот* до конца не изучены. По-видимому, вблизи 3'ОН-конца гена с РНК-полимеразой взаимодействует белковый стоп-сигнал, который замедляет (но не прекращает) транскрипцию. Далее фермент катализирует синтез последовательности ААУААА и следующие за ней 15 нуклеотидов, после чего завершает свою работу. В процессе отделения транскрипта от матрицы экзонуклеаза отщепляет терминальные 15 нуклеотидов, а фермент полиА — полимераза достраивает к последовательности ААУААА порядка 150—200 полиадениловых нуклеотидов (полиА).

Посттранскрипционный процессинг РНК. После завершения синтеза транскрипты отделяются от матрицы и подвергаются дальнейшим превращениям или посттранскрипционному процессингу. Транскрипты тРНК и рРНК имеют большие размеры по сравнению с соответствующими зрелыми нуклеиновыми кислотами, и на первой стадии процессинга происходит фрагментация транскрипта. Затем наблюдается модификация фрагментов, в частности их *метилирование*, а также защита 5'- и 3'-концов от действия экзонуклеаз. Более сложен механизм процессинга предшественника матричной РНК эукариот или гетерогенно-ядерной РНК (г-яРНК). После отделения от матрицы г-яРНК происходит модификация ее 3'-конца.

Сначала от 3'-конца отщепляется около 15 нуклеотидов, затем синтезируются полиадениловые нуклеотиды (полиА) при помощи фермента **полиадени-**

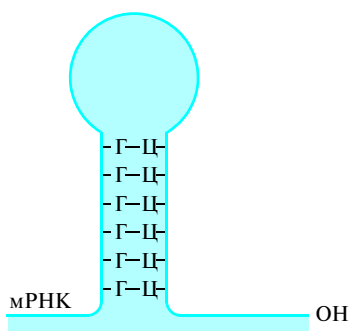


Рис. 28.7. Шпилька РНК в сайте терминации

лат-полимеразы. Как уже было отмечено, в начале транскрипции на 5'-конце РНК-полимераза II катализирует образование кэпа за счет присоединения остатка 7-метилгуанозина. Эти модификации защищают концы мРНК от действия экзонуклеаз, кроме того, кэп способствует транспорту мРНК в цитоплазму, а также принимает участие в связывании ее с рибосомой. Что касается полиА, то, кроме защиты 3'-конца, эта последовательность стабилизирует новосинтезированный транскрипт.

Сплайсинг РНК. В г-яРНК имеется большое количество вставок, которые не имеют

смыслового значения. Это так называемые *интроны*, которые вырезаются из цепи мРНК в процессе ее созревания. Транслируемые участки называются *экзонами* и составляют цепь зрелой мРНК. Механизм вырезания интронов и сшивания экзонов называется *сплайсинг*. Механизм точного вырезания интронов и сшивания экзонов достаточно сложен. Его интерпретация стала возможной после того, как было доказано наличие консенсусных последовательностей на границе соединения интронов с экзонами. Основным инструментом сплайсинга являются *малые ядерные РНК*, обладающие ферментативной активностью. Они называются *рибозимы*. Характерной особенностью рибозимов является наличие липких концов, комплементарных концам интронов.

Малые ядерные РНК в комплексе со специальными белками образуют **сплайсосому**, которая осуществляет вырезание интронов и сшивание экзонов. Сплайсосома представляет собой сложный комплекс, состоящий из пяти типов м-яРНК и 50 типов белков. Этот комплекс комплементарно соединяется с консенсусной последовательностью на границе экзон—интрон. Предположим, что необходимо вырезать интрон, расположенный между двумя экзонами. На первом этапе в результате нуклеофильной атаки разрывается связь у 5'-конца интрона, и образуется петля между гуанином на 5'-конце интрона и аденином вблизи 3'-конца интрона. Затем вырезается 3'-конец интрона, петля освобождается, а экзоны А и Б сшиваются друг с другом под действием РНК-лигаз, входящих в сплайсосому (рис. 28.8).

Следует отметить два важных открытия, связанных с данной проблемой.

- Во-первых, в некоторых случаях рибозимы вырезают интроны самостоятельно, без помощи белков сплайсосомы. Следовательно, они обладают каталитической активностью и представляют собой уникальное явление, уточняя и расширяя представление о том, что биологический катализ осуществляется только белками-ферментами.
- Во-вторых, если в первичном транскрипте закодирована информация о нескольких мРНК, то возможно несколько вариантов сплайсинга и образо-

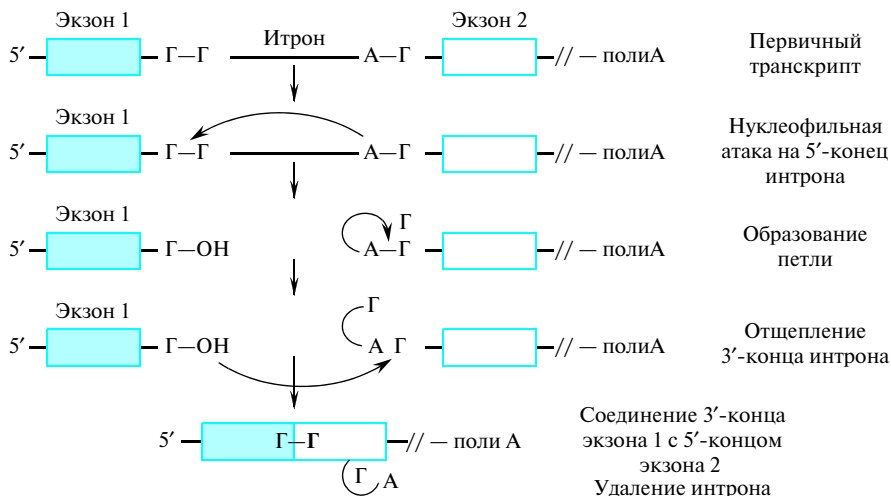


Рис. 28.8. Сплайсинг мРНК (по K. Murray)

вание различных зрелых мРНК. Такой сплайсинг, называемый альтернативным, имеет большое значение в регуляции транскрипции.

После завершения процессинга зрелые мРНК перемещаются в цитоплазму при помощи специальных белков-информоферов.

Глава 29

СИНТЕЗ БЕЛКА (ТРАНСЛЯЦИЯ)

29.1. Генетический код

Прежде чем перейти к механизмам биосинтеза белковых макромолекул, уместно поставить вопрос: что же такое генетический код?

Информация, заложенная в ДНК и РНК, реализуется в процессе синтеза белка. Механизмы передачи информации от ДНК на РНК понятны и очевидны, так как цепь нуклеотидов характерна для обеих структур, а матричный синтез предусматривает полную идентичность их последовательностей. Но каким же образом передается информация от РНК, содержащей всего четыре нуклеотида, на белок, содержащий 20 различных аминокислот? Если бы каждый нуклеотид передавал информацию на синтез одной аминокислоты, то всего кодировалось бы 4 аминокислоты. Не может код состоять из двух нуклеотидов, так как в этом случае можно было бы охватить не более 16 аминокислот ($4^2 = 16$). Работами М. Ниренберга и соавторов было установлено, что для кодирования одной аминокислоты требуется не менее трех последовательно расположенных нуклеотидов, называемых *триплетами* или *кодонами*. При этом между отдельными кодонами нет промежутков, и информация записана *слитно, без знаков препинания*. Число сочетаний 4^3 дает основание полагать, что 20 аминокислот кодируются 64 кодонами. Экспериментально установлено, что таких кодонов меньше, всего 61. Оставшиеся три кодона не несут в себе информации, однако два из них используются в качестве сигналов терминации. Выявлена также интересная особенность взаимодействия кодона с антикодоном. Оказалось, что первое и второе азотистые основания кодона образуют более прочные связи с комплементарными основаниями антикодона. Что же касается третьего основания, то эта связь менее прочная, более того, основание кодона может спариваться с другим, не комплементарным основанием антикодона. Этот феномен называют *механизмом неоднозначного соответствия или качания*. В соответствии с этим урацил антикодона может взаимодействовать не только с аденином, но и с гуанином кодона. Гуанин антикодона способен связываться не только с цитозином, но и с урацилом кодона. Это указывает на возможность нескольких кодонов кодировать одну и ту же аминокислоту. И действительно, было установлено, что ряд аминокислот кодируется двумя и более антикодонами (табл. 29.1). Из таблицы видно, что только две аминокислоты — метионин и триптофан — кодируются при помощи одного кодона. Число кодонов для остальных аминокислот варьирует от двух (для аргинина, цистеина и др.) до шести (для лейцина и серина). Тот факт, что одной и той же аминокислоте соответствует несколько кодонов, называется *вырожденностью*

Т а б л и ц а 29.1. **Вырожденность кода аминокислот**

| Аминокислота | Число кодонов | Аминокислота | Число кодонов |
|---|---------------|---------------------------------|---------------|
| Мет Трп | 1 | Иле | 3 |
| Асн Асп Цис Глн Глу Гис Лиз Тир Фен | 2 | Ала Гли Про Тре Вал | 4 |
| | | Арг Сер Лей | 6 |

генетического кода. Биологический смысл этого явления связан, по-видимому, с возможностью более быстрого отделения тРНК от мРНК, что очень важно для процесса белкового синтеза.

Характерной особенностью генетического кода является также его *универсальность*. Оказалось, что все живые организмы от простейших микроорганизмов до человека имеют единый генетический код.

На основании вышеизложенного можно суммировать основные свойства генетического кода:

- *триплетность* — одну аминокислоту кодируют три нуклеотида (триплет, или кодон);
- *специфичность* — триплет кодирует только одну аминокислоту;
- *вырожденность* — одну и ту же аминокислоту могут кодировать несколько триплетов;
- *универсальность* — у всех живых организмов генетический код одинаков;
- *непрерывность* — у всех организмов код линейный, однонаправленный и непрерывный.

29.2. Трансляция

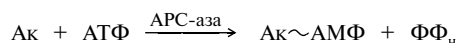
Трансляция осуществляется в клетках при помощи сложной белок-синтезирующей системы. Отдельные компоненты этой системы ассоциируют в единую структуру по мере ее функционирования и разобщаются по окончании синтеза. В состав белок-синтезирующей системы входят следующие структуры:

- рибосомы — нуклеопротеины, содержащие примерно 60% рибосомальной РНК и 40% различных белков;
- матричная РНК;
- транспортная РНК;
- белковые факторы и ферменты инициации, элонгации и терминации трансляции;
- набор аминокислот;
- набор аминоацил-тРНК-синтетаз, образующих аминоацил-тРНК;
- макроэрги АТФ и ГТФ;
- ионы Mg^{2+} , Ca^{2+} , K^{+} , NH_4^{+} .

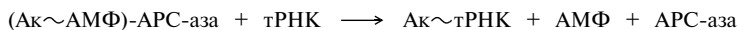
Субстратами матричного синтеза белка являются аминокислоты, соединенные с тРНК, причем последние способствуют переводу информации с последовательности нуклеотидов на последовательность аминокислот. Транспортные РНК представляют собой одноцепочечные молекулы сравнительно небольшой молекулярной массы (22—26 kDa) и состоящие из 80—100 нуклеотидов. Каждой аминокислоте соответствует от одной до шести транспортных РНК, с которыми она может образовывать комплекс (гл. 14).

29.2.1. Активация и рекогниция аминокислот

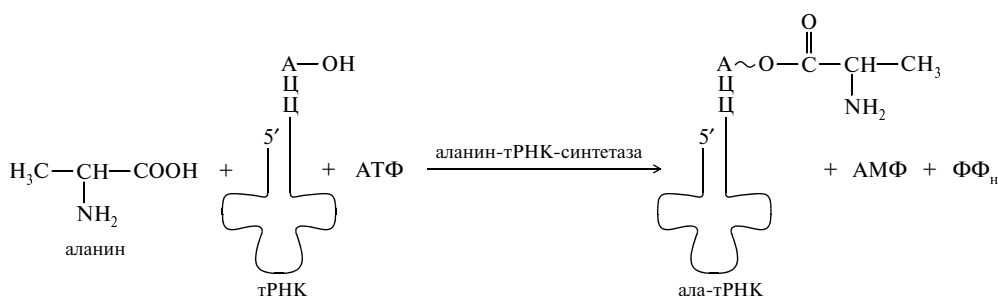
Большая часть пула аминокислот в цитоплазме клеток находится не в свободном состоянии, а в виде аминоацил-тРНК. Это предохраняет аминокислоты от метаболических превращений и способствует сохранению набора аминокислот для синтеза белка. Образованию комплекса аминокислота-тРНК предшествует активация аминокислоты и нахождение соответствующей тРНК (рекогниция). Это происходит под действием фермента **аминоацил-тРНК-синтетазы**, или **АРС-азы**. Эти ферменты имеют два активных центра, один из которых соответствует определенной тРНК, а другой строго специфичен соответствующей аминокислоте. Таким образом, в клетке должно быть не менее 20 АРС-аз, хотя фактически их несколько больше. Образование аминоацил-тРНК происходит в два этапа, первым из которых является взаимодействие аминокислоты (Ак) с макроэргом АТФ:



Аминоациладенилат (Ак~АМФ) остается в комплексе с АРС-азой до присоединения ко второму активному центру фермента тРНК. При взаимодействии комплекса (Ак~АМФ)-АРС-аза с тРНК образуется аминоацил-тРНК (Ак-тРНК); при этом выделяется свободный фермент и АМФ:



Рассмотрим это на конкретном примере активации аланина:



29.2.2. Инициация трансляции

Трансляция осуществляется на *рибосомах* — своеобразных молекулярных машинах, функционирующих в цитоплазме и ориентированных на биосинтез всех видов белковых макромолекул. Рибосомы удерживают в функциональном состоянии многокомпонентную белок-синтезирующую систему, а также

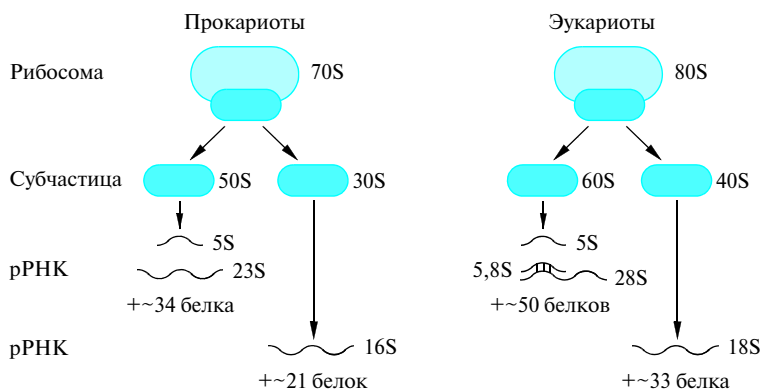


Рис. 29.1. Рибосомы про- и эукариот

обеспечивают точность считывания и реализации генетической информации. Они обладают каталитическими свойствами, образуя пептидную связь, а также выполняют функцию механического переноса пептидил-тРНК. Кроме основных функций — синтеза белка, — рибосомы регулируют собственный биогенез и ряд других метаболических процессов, например аминокислотирование тРНК. Рибосомы прокариот состоят из двух субчастиц, отличающихся по размеру. Малая субчастица имеет коэффициент седиментации 30S (1 молекула рНК и 21 тип белков), а большая — 50S и состоит из двух молекул рНК и 34 различных белков. В функциональном состоянии субчастицы ассоциируют, образуя полную 70S рибосому. У эукариот размеры частиц рибосом составляют: малая — 40S (около 33 различных белков), большая — 60S (порядка 50 белков), а полная рибосома — 80S (рис. 29.1).

Инициация трансляции у прокариот.

При образовании полной рибосомы формируются два центра трансляции: *донорный* (пептидный, *Р-центр*) и *акцепторный* (аминоацильный, *А-центр*) (рис. 29.2).

Инициация начинается с образования малых иницирующих комплексов, которые затем ассоциируют в большой иницирующий комплекс. В этом процессе участвуют рибосомы, мРНК, аминокислот-тРНК, белковые факторы инициации: (IF_1 , IF_2 и IF_3), а также макроэрг ГТФ. В клетках эукариот первой иницирующей

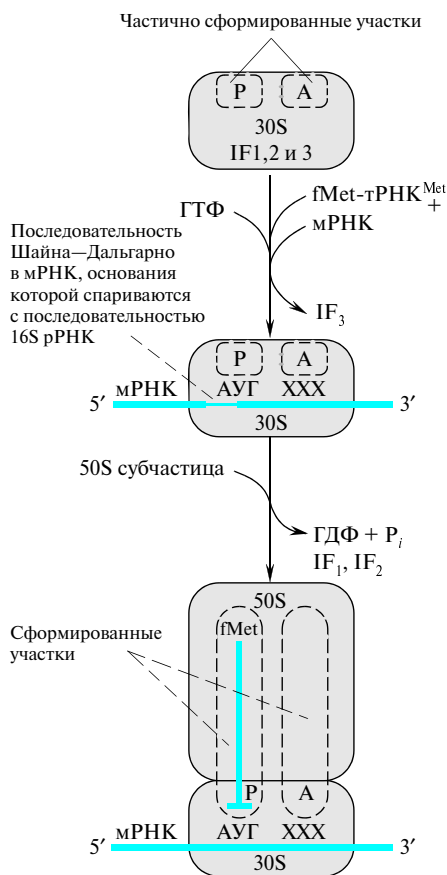


Рис. 29.2. Полная рибосома и компоненты инициации трансляции

щей аминокислотой, соединенной с тРНК, является *метионин*, а у прокариот — *формилметионин*. тРНК, которая соединяется с формилметионином, обозначают $\text{тРНК}^{\text{fMet}}$, а комплекс с аминокислотой: $\text{fMet-тРНК}^{\text{fMet}}$. В мРНК обнаружены специальные иницирующие кодоны.

У прокариот такими кодонами являются АУГ, ГУГ и, значительно реже, УУГ. Эти кодоны в процессе инициации трансляции взаимодействуют с одним и тем же антикодоном 3'-УАЦ.

Инициация трансляции представляет собой импульс, сообщаемый молекулярной машине, ориентированной на биосинтез белка.

При этом аминокислоты соединяются друг с другом именно в той последовательности, которая была запрограммирована в мРНК. У прокариот очередность событий образования иницирующих комплексов следующая:

- 30S рибосома соединяется с IF_3 ;
- к комплексу $30\text{S}-\text{IF}_3$ присоединяется иницирующий фактор IF_1 , и образуется малый иницирующий комплекс;
- одновременно при ассоциации $\text{fMet-тРНК}^{\text{fMet}}$ с ГТФ и с IF_2 образуется второй малый иницирующий комплекс;
- $30\text{S}-\text{IF}_1-\text{IF}_2$ связывается с 5'-концом мРНК и узнает иницирующий кодон. При этом образуется комплекс $30\text{S}-\text{IF}_1-\text{IF}_2-\text{мРНК}$, а иницирующий кодон находит сайт, который затем преобразуется в Р-центр полной рибосомы.

Для процесса трансляции весьма важно правильное положение иницирующего кодона мРНК в этом сайте, так как от этого зависит его попадание в пептидный (Р) центр полной рибосомы. Оказалось, что у 5'-конца мРНК имеется специальная последовательность нуклеотидов, комплементарная участку 16S, входящему в малую рибосомальную субчастицу. Взаимодействие этих комплементарных участков тРНК и мРНК ориентирует положение кодона в пептидном сайте (рис. 29.3);

- два малых иницирующих комплекса ассоциируют в следующую структуру: $30\text{S}-\text{IF}_1-\text{IF}_2-\text{IF}_3-\text{мРНК}-\text{fMet-тРНК}^{\text{fMet}}-\text{ГТФ}$, образуя большой иницирующий комплекс. Последний взаимодействует с 50S рибосомальной субчастицей, при этом формируется активная белок-синтезирующая система,

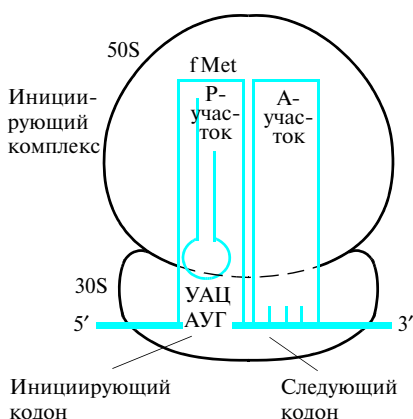


Рис. 29.3. Ориентация кодона мРНК в сайте Р-центра

включающая в себя полную рибосому, мРНК и тРНК. Факторы инициации отделяются от комплекса и поступают в цитоплазму в функционально активном состоянии. Энергию, необходимую для процессов комплексообразования, предоставляет ГТФ; после гидролиза макроэргической связи ГДФ отделяется от комплекса и поступает в цитоплазму. При ассоциации малой и большой рибосомальных субчастиц происходит образование *пептидного* и *аминоацильного* центров трансляции, причем в пептидном Р-центре находится иницирующий кодон мРНК, комплементарно соединенный с $\text{fMet-тРНК}^{\text{fMet}}$. В аминоацильном А-центре расположен только кодон мРНК.

29.2.3. Элонгация трансляции

Элонгация представляет собой образование и удлинение полипептидной цепи, формирующейся на рибосоме. Этот процесс проходит при участии ГТФ и трех факторов элонгации. Эти факторы у прокариот имеют обозначения: EF-T_u, EF-T_s и EF-G, или просто: T_u, T_s и G. Фактор элонгации T_u образует комплекс с ГТФ, который связывается со всеми аминоацил-тРНК в цитоплазме. Тройной комплекс, содержащий аминоацил-тРНК, с антикодоном, комплементарным кодону в А-центре, также (T_u—ГТФ) перемещается в А-центр полной рибосомы, где происходит соединение кодона мРНК с антикодоном тРНК. T_u обладает ГТФ-азной активностью и гидролизует ГТФ. После этого T_u, ГДФ и P_i удаляются из рибосомы и исходный комплекс регенерирует при помощи T_s и ГТФ. Что касается комплекса тРНК—мРНК в А-центре, то точность кодон-антикодонового взаимодействия проверяется за счет соответствия (или несоответствия) дополнительных контактов в определенных сайтах молекул тРНК и мРНК.

Таким образом, в пептидилном центре локализуется формилметионин-тРНК, а в аминоацильном — тРНК, соединенная со следующей после метионина аминокислотой. Следующим этапом элонгации является гидролиз сложноэфирной связи, перенос формилметионина из Р-центра в А-центр и образование пептидной связи. Этот процесс осуществляется при помощи фермента **транспептидазы**, входящей в состав 50S рибосомальной субъединицы. Таким образом, в А-центре образуется дипептид, соединенный с тРНК, а в пептидилном — свободная тРНК^{Met}. Затем рибосома перемещается на один кодон мРНК в направлении 5'→3', при этом комплекс тРНК-дипептид перемещается в Р-центр, а в освободившийся А-центр попадает третий кодон мРНК. Находившаяся до этого в Р-центре тРНК^{Met} отделяется от рибосомы и уходит в цитоплазму. Перемещение рибосомы по цепи мРНК происходит с помощью третьего фактора элонгации EF-G и требует затраты энергии ГТФ. Таким образом, завершается цикл элонгации, и белок-синтезирующая система готова к образованию следующей пептидной связи.

29.2.4. Терминация трансляции

Терминация представляет собой завершение синтеза полипептидной цепи и освобождение ее от рибосомы. Сигналами, определяющими окончание синтеза, являются стоп-кодоны на цепи мРНК. Таких стоп-кодонов у прокариот три: UAA, UAG, UGA. У этих кодонов нет комплементарных антикодонов тРНК, поэтому при достижении их рибосомой синтез прекращается. В А-центр вместо aa-тРНК входят белковые факторы терминации RF₁ и RF₂, а также фактор RRF (Ribosome release factor).

Под действием релизинг-фактора, соединенного с ГТФ и **пептидилтрансферазой**, в Р-центре гидролизуется связь тРНК-полипептид, причем последний освобождается из рибосомы. Кроме отделения полипептидной цепи, происходит освобождение мРНК от рибосомы, которая вновь готова к трансляции.

У *эукариот* синтез белка протекает в основном так же, как и у прокариот, хотя и имеются некоторые различия. Например, у эукариот рибосомы имеют больший размер, у них больший ассортимент белков и белковых факторов

(около 10). На цепи мРНК прокариот может синтезироваться несколько полипептидных цепей, тогда как у эукариот — только одна полипептидная цепь, так как транскриптон эукариот синтезирует всего одну мРНК.

Различия в механизмах трансляции в основном касаются процессов *инициации* трансляции.

Инициация трансляции эукариот. Различают четыре этапа инициации.

- Диссоциация рибосомы на 40S- и 60S-субъединицы. Присоединение к 40S-субъединице иницирующих факторов IF-3 и IF-1A, препятствующих реассоциации 40S- и 60S-субъединиц в полную рибосому.

- Образование тройного комплекса, состоящего из Met-тРНК, ГТФ и IF-2. Затем этот комплекс взаимодействует с 40S-субъединицей рибосомы, в результате образуется преиницирующий комплекс. Образование преиницирующего комплекса протекает в несколько стадий. Сначала происходит связывание ГТФ с IF-2. Этот двойной комплекс соединяется с Met-тРНК и с иницирующим кодоном мРНК АУГ. Образованный четырехкомпонентный комплекс соединяется с 40S-субъединицей рибосомы, в результате получается 43S преиницирующий комплекс, который стабилизируется при помощи IF-3 и IF-1A. Одной из важнейших структур, регулирующих синтез белка на стадии инициации, является белковый фактор IF-2. Он состоит из трех субъединиц (α , β и γ), причем регуляторной является α -субъединица, которая фосфорилируется по серину 51.

- Связывание мРНК с 43S преиницирующим комплексом и образование 48S иницирующего комплекса.

- Комбинирование 48S иницирующего комплекса с 60S-субъединицей рибосомы и образование 80S иницирующего комплекса. В процессе образования полной рибосомы при помощи IF-5 происходит гидролиз ГТФ, связанного с IF-2. Эта реакция освобождает все факторы инициации, связанные с 48S иницирующим комплексом, и осуществляет быструю ассоциацию 40S- и 60S-субъединиц в 80S полную рибосому с Met-тРНК, расположенной в Р-сайте.

Синтез белка — процесс, протекающий со значительной затратой энергии. Легко подсчитать число макроэргов, которые расходуются на образование одной полипептидной связи. При активации аминокислот АТФ гидролизуются до АМФ, что эквивалентно затрате двух макроэргов, а инициация трансляции требует один макроэрг ГТФ. В процессе элонгации затрачивается два макроэрга ГТФ: один на доставку аминоацил-тРНК в А-центр рибосомы, а второй — на процесс транслокации. И наконец, на терминацию требуется один макроэрг ГТФ.

29.3. Процессинг и транспорт полипептидных цепей

Что же происходит с полипептидной цепью после освобождения ее из рибосомы? Еще на рибосоме начинается процесс частичного формирования вторичной структуры белка. После образования 25—30-членного полипептида N-конец выходит из рибосомы и процесс скручивания белка продолжается вне ее. Это придает структуре жесткость, необходимую для пересечения мембраны эндоплазматического ретикулума (рис. 24.4).

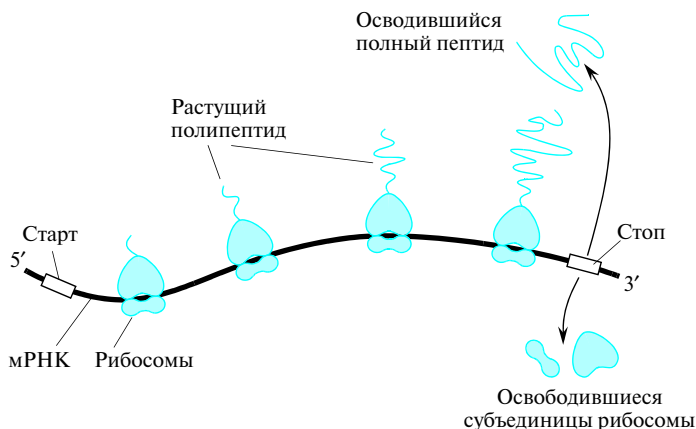


Рис. 29.4. Освобождение белка из рибосомы

Процесс закручивания полипептидной цепи происходит при помощи специальных белков — шапионов (гл. 3). При синтезе мембранных и секреторных белков, начиная с *N*-конца полипептидной цепи, от 10 до 30 аминокислотных остатков образуют сигнальную последовательность, состоящую из гидрофобных аминокислот. В клетках существуют свободные и мембранно-связанные рибосомы, причем связывание их с мембраной ЭР определяется в основном сигнальной последовательностью растущего полипептида. В мембранах ЭР найдены два гликопротеина, получившие название *рибофорины*, которые специфически соединяются с сигнальной последовательностью полипептида. Это присоединение имеет более сложный характер. Оказалось, что в цитоплазме присутствуют специальные сигналузующие структуры (СУС), представляющие собой 11S рибонуклеопротеины. Они взаимодействуют с сигнальной последовательностью растущего полипептида, при этом элонгация временно прекращается. Синтезирующийся полипептид с СУС присоединяется к рибофоринам в мембране ЭР; при этом образуется мембранный канал, который иногда называют *транслоконом*. Элонгация возобновляется, но теперь она сопряжена с перемещением пептида через мембрану ЭР. После завершения синтеза полипептидной цепи под действием протеазы, которая носит название **сигналаза**, сигнальная последовательность отщепляется, а новосинтезированный белок подвергается посттрансляционным модификациям или процессингу. Для большинства секреторных и мембранных белков процессинг сопряжен с транспортом через определенные компартменты. Так, гликозилирование и ограниченный протеолиз начинаются уже в ЭР и продолжаются в аппарате Гольджи. Этот компартмент состоит из 12—15 «тарелок», сложенных в стопку. Сторона, ориентированная на ЭР, называется *цис*-стороной, а в направлении цитоплазматической мембраны — *транс*-стороной. Новосинтезированные белки поступают на *цис*-сторону аппарата Гольджи и перемещаются на его *транс*-сторону, пересекая все тарелки, причем по мере движения происходит их химическая модификация. Эта модификация имеет огромное значение, так как она, в частности, определяет следование новосинтезированного белка к месту функционирования. Так, фосфорилированные в определенном

положении белки следуют в лизосомы, гликозилированные белки, в зависимости от сайта гликозилирования и размеров углеводной цепи, могут встраиваться в мембраны или экспортироваться в другие ткани и органы. Кроме того, химическая модификация определяет свойства зрелых белков. Аппарат Гольджи является своеобразным сортировочным депо, отделяющим нормальные белки от дефектных. Последние перемещаются в лизосомы, ассоциированные с аппаратом Гольджи, где гидролизуются до аминокислот. Нормальные белки доходят до *транс*-стороны и попадают в секреторные гранулы, которые отделяются от аппарата Гольджи и диффундируют к цитоплазматической мембране. Затем методом экзоцитоза белки попадают во внеклеточное пространство.

Внутриклеточные белки синтезируются на свободных рибосомах. Они не имеют сигнальных последовательностей, однако в большинстве своем синтезируются в виде пробелков. Некоторые из них после соответствующего процессинга функционируют в цитоплазме, другие импортируют во внутриклеточные органеллы. Кроме адресной модификации, существуют многообразные химические модификации и локальный протеолиз белков, необходимые для их полноценного функционирования. Такими модификациями могут быть фосфорилирование по гидроксильным группам аминокислот, метилирование, гидроксилирование, присоединение карбоксильных, сульфо- и ацетильных групп и др.

29.3.1. Распад белков в клетках и тканях

После определенного времени функционирования (для разных белков оно составляет от нескольких минут до нескольких недель и даже месяцев) белки подвергаются протеолитической деградации. Механизмы деградации различны, они зависят от типа белков, их расположения в том или ином компартменте и от протеолитического потенциала клетки или ткани. Например, в клетках свободные белки деградируют в два этапа. Функционирование белков связано, как правило, с изменением их структуры и релаксацией к исходному состоянию. По мере биологического действия накапливаются некоторые изменения структуры, которые релаксируются не полностью, в результате происходит старение белков. Изменение структуры является сигналом для атаки цитоплазматических, сериновых протеиназ, которые разрывают полипептидные связи или вырезают некоторые аминокислотные последовательности. Частично деградированный белок поступает в лизосомы, где происходит его полная деградация. Иногда сигналом для протеолитической атаки служит присоединение к старому белку низкомолекулярных полипептидов, например убиквитина (гл. 24; 24,5).

29.4. Регуляция синтеза белка

Синтез белка — сложный, многостадийный процесс, зависящий от функционального состояния ДНК, РНК и непосредственно белок-синтезирующей системы. Поэтому механизмы регуляции скорости образования белка реализуются как в ядре, так и в цитоплазме. Из рассмотренного понятно, что в обра-

зовании полипептидной цепи участвуют все три типа РНК. Таким образом, транскрипция является одним из факторов, определяющих скорость белкового синтеза. Экспрессия генов увеличивает скорость транскрипции, репрессия — снижает. Первоначально рассмотрим, как это реализуется на примере прокариот.

Регуляция синтеза белка у прокариот. В 1961 г. французские исследователи Ф. Жакоб и Ж. Моно впервые провели фундаментальные исследования индукции генов, кодирующих β -галактозидазу и связанные с ней ферменты в клетках кишечной палочки *E. coli*. Эти исследования помогли им сформулировать гипотезу об опероне и регуляции синтеза белка в клетках прокариот.

Опероном называется совокупность генов, способных включаться и выключаться в зависимости от метаболических потребностей клетки.

Авторами впервые были оценены регуляторные механизмы на примере лактозного или Лас-оперона, строение которого представлено на рис. 29.5.

На участке ДНК, соответствующем оперону, находятся три структурных гена (z , y и α). Эти гены кодируют β -галактозидазу, гидролизующую лактозу до глюкозы и галактозы, **галактозидпермеазу**, переносящую лактозу через клеточную мембрану, а также **галактозидтрансацетилазу**, переносящую ацетильный остаток с ацетил-КоА на галактозу. Кроме структурных генов, оперон содержит регуляторные последовательности: *ген-оператор*, примыкающий к 3'-последовательности структурного гена, и *ген-регулятор*, кодирующий белок-репрессор. К гену-оператору примыкает *промотор* — начальный сайт инициации транскрипции. Белок-репрессор, взаимодействуя с геном-оператором, частично блокирует область промотора. Это препятствует присоединению РНК-поли-

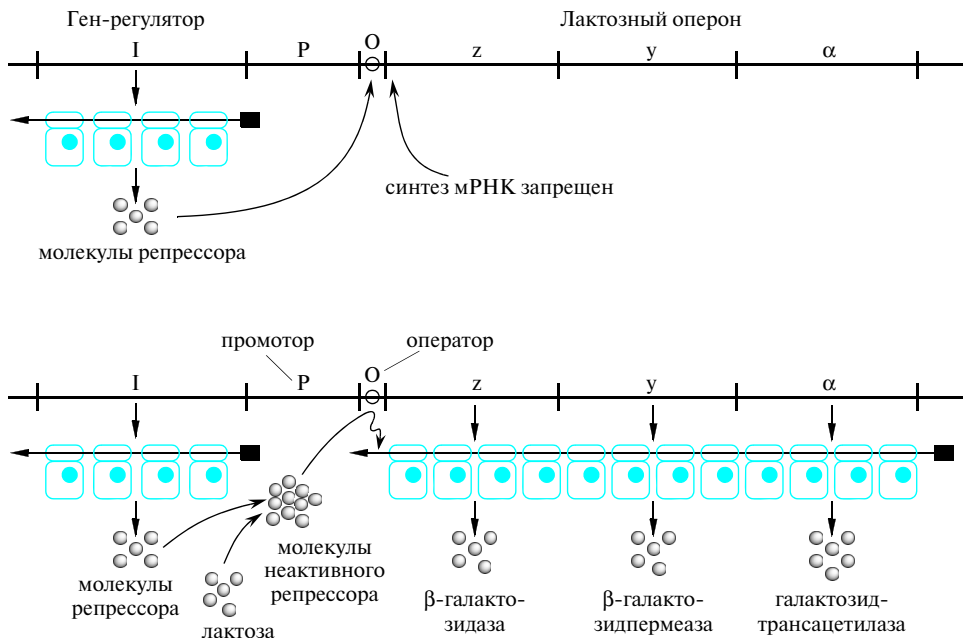


Рис. 29.5. Строение Лас-оперона

меразы к промотору, и транскрипция отменяется. При росте *E. coli* на среде с глюкозой лактозный оперон выключен. Его функционирование и регуляция имеют место при выращивании клеток на лактозной среде. Даже в отсутствие галактозидилпермеазы определенное число молекул лактозы поступает в клетку и вступает во взаимодействие с белком-репрессором, находящимся не только в свободном состоянии, но и ассоциированным с геном-оператором. В результате происходит деблокирование промотора и транскрипция становится возможной. Образование β -галактозидазы приводит к гидролизу лактозы и появлению в клетке глюкозы, источника энергии. В результате интенсификации транскрипции и синтеза β -галактозидазы уменьшается количество индуктора (лактозы) и функционирование Лас-оперона репрессируется. Таким образом реализуется регуляция по принципу обратной связи. Центральную роль здесь играет белок-репрессор. Он состоит из четырех субъединиц и имеет два центра связывания: с индуктором-лактозой и геном-оператором. Поочередно (но не одновременно) связываясь с индуктором или с геном-оператором, он включает индукцию или репрессию Лас-оперона.

Имеется еще один механизм регуляции функционирования оперона. Если бактерии культивировать на среде с глюкозой, то лактозный оперон не функционирует. Это обусловлено тем, что какой-то продукт расщепления глюкозы (катаболит) репрессирует данный процесс. Каков же механизм этой репрессии? Оказалось, что РНК-полимераза присоединяется к промотору при помощи специального белка CAP (*catabolite gene activation protein*), комплекс которого с цАМФ активирует катаболитные гены. Катаболит глюкозы ингибирует фермент аденилатциклазу, катализирующую образование цАМФ, комплекс не образуется, и индукции лактозного оперона не происходит. Таким образом, скорость транскрипции определяется образованием комплексов CAP—цАМФ и их связыванием с промотором.

В случае лактозного оперона лактоза — субстрат для β -галактозидазы — индуцирует синтез фермента за счет инактивации белка-репрессора и восстановления функционирования оперона. Иное явление наблюдается в процессе регуляции синтеза ферментов, осуществляющих образование аминокислоты триптофана в той же клетке *E. coli*.

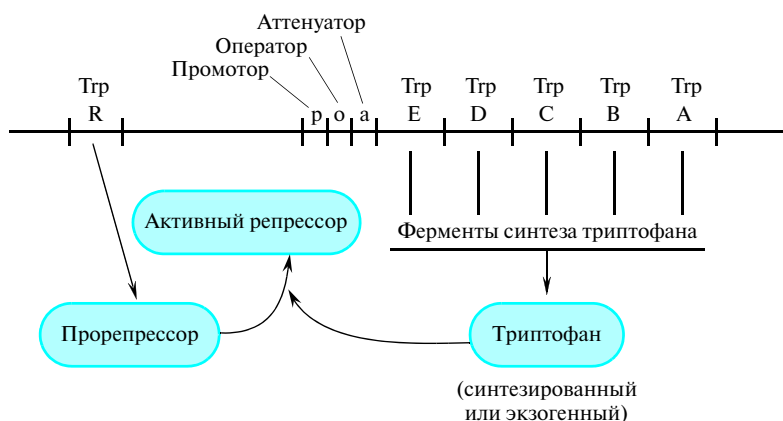


Рис. 29.6. Строение триптофанового оперона

Механизм регуляции транскрипции заключается в следующем. Белок-репрессор синтезируется в неактивном состоянии в виде прорепрессора. Конечный продукт деятельности ферментов — триптофан — является активатором белка-репрессора, который после активации взаимодействует с геном-оператором и останавливает транскрипцию (рис. 29.6).

Имеется еще один механизм регуляции, связанный со снижением скорости транскрипции, так называемая *аттенуация*. В клетках *E. coli*, как и в других бактериях, между первым структурным геном и геном-оператором расположена лидерная последовательность порядка 140—150 нуклеотидов, так называемый аттенуатор. Даже небольшой избыток конечного продукта того же триптофана приводит к тому, что РНК-полимераза, достигнув аттенуатора, перестает транскрибировать оперон. Уменьшение конечного продукта вновь включает транскрипцию.

Что касается трансляции, то у прокариот она играет значительно меньшую роль в регуляторных процессах, чем транскрипция.

Регуляция синтеза белка у эукариот. Это более сложный процесс, так как транскрипция и трансляция происходят в разных компартментах и обеспечиваются большим количеством соответствующих структур.

На уровне транскрипции регуляторные механизмы у прокариот и эукариот имеют ряд общих черт. Рассмотрим некоторые отличительные особенности. Для клеток эукариот характерна амплификация генов и их перестройка. Оба механизма обеспечивают резкое увеличение копий тех или иных белков, необходимых для реализации клеточного метаболизма.

Известно, что в клетках эукариот ДНК, соединенная с белками (гистонами), упакована в нуклеосомы (гл. 14). В этом состоянии транскрипция невозможна, и для экспрессии генов необходимо деблокирование транскриптона. Следовательно, образование и разрушение нуклеосом является важным фактором регуляции эукариотических генов. Каким же образом происходит деблокирование транскриптона?

Фосфорилирование гистонов. В результате действия белковых гормонов происходит опосредованное фосфорилирование ядерных белков — гистонов и разрушение нуклеосом. Матрица при этом становится доступной для основных факторов инициации транскрипции, и начинается синтез РНК. При прекращении действия гормонов нуклеосомы восстанавливаются.

Ацетилирование и деацетилирование гистонов. Это важный фактор регуляции генной активности. Оказалось, что фермент гистон-ацетилаза ассоциирована с фактором ТАФ (гл. 28). Ацетилирование проходит по терминальному остатку лизина в полипептидной цепи гистона. В результате ацетилирования положительный заряд белка уменьшается и сродство гистона к отрицательно заряженной ДНК снижается. Это может привести к разрушению нуклеосом и деблокированию транскриптона. Деацетилирование гистонов приводит к противоположному эффекту. Специфические ацетилаза и деацетилаза ассоциированы с белками инициации транскрипции.

Регуляторными элементами являются белки инициаторного комплекса, описанные в гл. 28. В дополнение можно отметить особые нуклеотидные последовательности, способствующие интенсификации транскрипции, так называемые *энхансеры*. Характерная особенность этих структур заключается в том, что

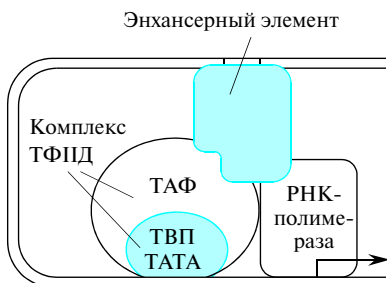


Рис. 29.7. Взаимодействие энхансерного элемента с белками инициаторного комплекса

они влияют на скорость транскрипции независимо от локализации в опероне. Белки, взаимодействующие с энхансерами, называются энхансерными элементами, расположенными на расстоянии 1000—2000 пар оснований от региона промотора. Эти белковые факторы способны воздействовать на инициацию транскрипции благодаря образованию ДНК-петли, что приводит к пространственному сближению энхансерных элементов и, например, белков ТАТА (рис. 29.7).

Весьма существенным фактором регуляции транскрипции является процессинг РНК. Образование зрелых мРНК зависит от

скоростей экзирования, образования полиА, а также скорости *сплайсинга*. Для полицистронных мРНК определенное регуляторное значение имеет альтернативный сплайсинг (гл. 30).

Кроме белков инициаторного комплекса, на скорость транскрипции оказывают существенное влияние *ДНК-связывающие белки*. Из нескольких семейств наиболее известны белки типа: *цинковые пальцы*, *спираль—виток—спираль* и *гомеодоменные белки*. Специфическое связывание этих белков с ДНК происходит в результате взаимодействия боковых радикалов аминокислотных остатков белка с основаниями ДНК.

Цинковые пальцы представляют собой серию повторяющихся доменов (от двух до девяти), имеющих форму пальца. В центре координации каждого домена находится цинк. В одних случаях цинк соединен с четырьмя остатками цистеина, в других — с двумя цистеинами и двумя гистидинами.

На конечный результат — синтез белка — влияет также скорость транспорта РНК в цитоплазму. В цитоплазме мРНК, взаимодействуя с определенными белками, образует информому — своеобразное депо, из которого мРНК освобождается по мере надобности для синтеза белка. Скорость освобождения мРНК также является фактором регуляции белкового синтеза.

Скорость синтеза белка напрямую зависит от количества мРНК, которое определяется временем ее «полужизни» или *стабильностью in vivo*. Таким образом, факторы, влияющие на стабильность мРНК, являются регуляторами экспрессии генов и, как следствие, белкового синтеза. Одной из структур, определяющих стабильность мРНК, является полиА-последовательность на 3'ОН-конце. Факторы, регулирующие экспрессию генов и синтез белка, суммированы в табл. 29.2.

Таблица 29.2. Факторы, влияющие на регуляцию транскрипции эукариот

| Число | Факторы | Число | Факторы |
|-------|-------------------------------|-------|-----------------------------|
| 1 | Амплификация генов | 5 | Сплайсинг мРНК |
| 2 | Перегруппировка генов | 6 | Стабильность мРНК |
| 3 | Белки инициаторного комплекса | 7 | Транспорт мРНК в цитоплазму |
| 4 | ДНК-связывающие белки | | |

Лимитирующей стадией процесса *трансляции* является ее инициация. Наиболее подробно описан процесс изменения скорости инициации трансляции в результате фосфорилирования фактора инициации IF_2 . Реакция катализируется ферментом IF_2 -киназой, причем присоединение фосфатной группы инактивирует фактор инициации. Этот феномен был изучен на примере синтеза гемоглобина в ретикулоцитах. Сначала было установлено, что глобин синтезируется только в присутствии гема. Затем была выстроена вся система регуляции синтеза глобина. Оказалось, что активация IF_2 -киназы происходит за счет ее фосфорилирования цАМФ-зависимой протеинкиназой. Взаимодействие этой протеинкиназы с цАМФ и ее активацию блокирует гем, выполняя тем самым негативный контроль синтеза гемоглобина.

Регуляция синтеза белка осуществляется также на стадии процессинга белка. Модификации новосинтезированных полипептидов осуществляются при помощи соответствующих ферментов, активность которых, в свою очередь, находится под генетическим контролем. К этим модификациям относятся метилирование, фосфорилирование, гликозилирование, а также ограниченный протеолиз.

29.5. Действие токсических и лекарственных веществ на биосинтез белка

Синтез белка наиболее сложный процесс из всех, протекающих в клетках. Его прерывание или извращение возможно на всех трех уровнях: репликации, транскрипции или трансляции. Химические вещества, называемые мутагенами, воздействуют на процессы репликации и на структуру транскриптона и извращают информацию о синтезе полипептидов. Такие мутагены окружающей среды, как бензоперен и линдан, подавляют синтез ДНК и таким образом прерывают белок-синтетические процессы. Отмечено влияние токсикантов на процессы транскрипции. В этом отношении показательно влияние химических веществ, имитирующих действие эстрогенов, так называемых ксеноэстрогенов. К ним относятся, например, генистан или госсипол, способные взаимодействовать с эстрогеновыми рецепторами и изменять скорость транскрипции.

К лекарственным веществам, эффективно влияющим на синтез белка, относятся антибиотики. Как правило, они ингибируют процессы транскрипции и трансляции. Так, противоопухолевые антибиотики — **актиномицин D**, **рубомицин C**, **оливомицин**, **митомицин C** — блокируют транскриптон или ингибируют РНК-полимеразу. (Кстати, многие противоопухолевые препараты иной природы также подавляют синтез белка, например **фторурацил**.) Большинство антибиотиков противобактериального действия ингибируют процессы трансляции.

Такие антибиотики, как **норвалин** и **индолмицин**, препятствуют образованию аминоацил-тРНК; **стрептомицин**, **неомицин**, **конвалин**, **ауринтрикарбоновая кислота** ингибируют инициацию трансляции; **тетрациклин** и **стрептограмин** ингибируют элонгацию, препятствуя связыванию аминоацил-тРНК с А-центром рибосомы. Пептидилтрансферазная реакция блокируется **пуромицином** и **хлорамфениколом**, а транслокация — **эритромицином** и **виомицином**.

Антибиотики, ингибирующие синтез белка во всех клетках, весьма токсичны, и многие из них не нашли применения в медицинской практике. Стратегия разработки новых антибиотиков должна основываться на их селективном воздействии на бактериальные клетки или же на адресную доставку в определенную ткань или орган.

Глава 30

БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ИММУНИТЕТА

30.1. Общая характеристика

Организм человека и животных содержит много защитных систем и механизмов против чужеродных веществ и прежде всего инфекционных агентов. Микробы в массе своей не могут проникнуть в организм благодаря защитному действию кожи, высокой кислотности желудочного сока и др. Те чужеродные клетки, которые смогли преодолеть внешние барьеры, подвергаются атаке лизирующими факторами, а также фагоцитирующими клетками — нейтрофилами и макрофагами. Среди ряда систем, защищающих организм от неблагоприятных внешних воздействий, особое значение имеет иммунная система. Эта система защищает организм не от всех чужеродных веществ, а только от чужеродных клеток, крупных макромолекул, белков, гликолипидов и др. Иммунитет представляет собой защиту организма от структур, несущих признаки чужеродной генетической информации. Что касается небольших молекул, например лекарственных веществ или токсикантов, то иммунная система на них не реагирует и они обезвреживаются методом биотрансформации (гл. 32).

Вещества, взаимодействующие с рецепторами лимфоцитов, но не вызывающие иммунный ответ, называются *гаптенами*. Комплекс гаптенa с макромолекулами, например полисахаридами, приобретает свойства полноценных антигенов.

30.2. Центральные и периферические лимфоидные органы

Иммунная защита осуществляется двумя видами клеток: Т- и В-лимфоцитами, которые образуются из стволовых клеток костного мозга. К *центрaльным* органам иммунной защиты относится тимус, или вилочковая железа, а также сумка Фабрициуса (Bursa Fabricii). Последняя находится только у птиц, но так как впервые на примере этого органа была показана дифференцировка лимфоцитов, они получили название *В-лимфоциты*. У млекопитающих роль сумки Фабрициуса играет костный мозг, в котором образуются стволовые клетки, предшественники лимфоцитов. К *периферическим* лимфоидным железам относятся селезенка, лимфатические узлы, а также ассоциированная с другими органами лимфатическая ткань. В периферические органы поступают Т- и В-лимфоциты из центральных лимфоидных органов.

В-клетки продуцируют растворимые в жидких средах антитела, которые формируют гуморальный иммунитет. *Т-клетки* разделяют на хелперы — помощники Т- и В-клеток, киллеры, распознающие и убивающие чужеродные и аномальные клетки и являющиеся основой клеточного иммунитета, а также супрессоры, подавляющие пролиферацию иммунокомпетентных клеток, и, таким образом, регулирующие интенсивность иммунного ответа. Все типы Т-клеток созревают в тимусе.

Иммунная система локализована в кровеносных сосудах, лимфе, селезенке, а также в лимфоидных тканях.

30.3. Т-лимфоциты.

Принципы клеточного иммунитета

Т-лимфоциты образуются в костном мозге, однако их дифференцировка и созревание происходят в тимусе. Протимоциты сначала поступают в корковый слой клеток тимуса, а затем перемещаются в мозговой слой, где и происходит разделение их на *цитотоксические* (киллерные, Тц) клетки, *Т-хелперы* (Тх) и *Т-супрессоры* (Тс) с последующим созреванием (рис. 30.1).

Т-лимфоциты защищают организм от клеточных инфекций, в частности от внутриклеточных паразитов (микробных клеток, живущих внутри клеток-хозяев). Т-лимфоциты могут узнавать инфицированную клетку, если соответствующий антиген расположен на ее поверхности. Контакт с антигеном является ключевым моментом активации Т-клеток и их клонального отбора. Взаимодействие с антигеном возможно только в комплексе с поверхностными маркерами, которыми являются группы белков гистосовместимости МНС (от англ. *Major histocompatibility complex*). Идентифицированы гены, кодирующие три класса белков МНС, при этом во взаимодействии с антигеном принимают участие белки только классов 1 и 2.

Следует отметить наличие антигенов (своеобразных маркеров), характерных для самих Т-клеток. Антигены Т-лимфоцитов идентифицируются при помощи моноклональных антител. В настоящее время установлено несколько десятков такого рода антигенов. Рассмотрим два из них: CD4, характерный для хелперных клеток, и CD8, локализованный в цитотоксических клетках-киллерах. Вместе с тем около 5% зрелых Т-клеток несут как CD4, так и CD8 антигены.

CD4 представляет собой гликопротеин с молекулярной массой 55 kDa. Его внеклеточный полипептидный участок кодируется генами, относящимися к суперсемейству иммуноглобулинов.

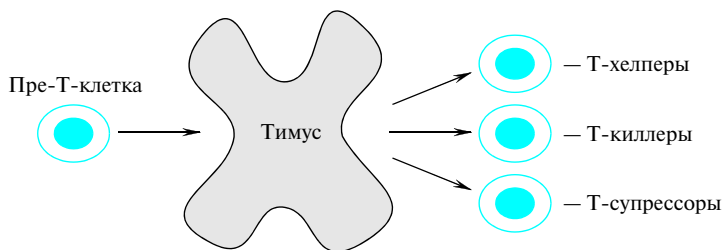


Рис. 30.1. Созревание Т-клеток

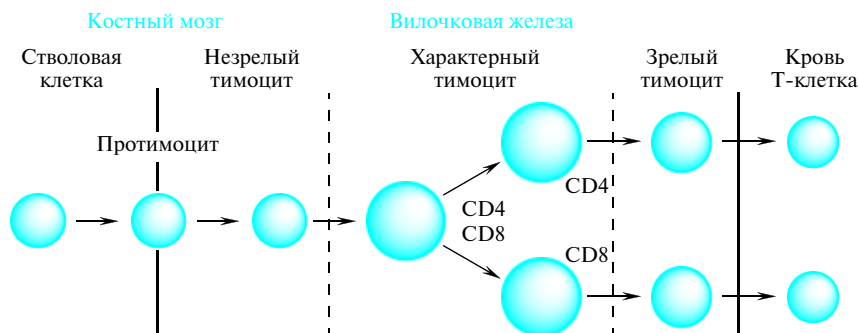


Рис. 30.2. Образование Т-лимфоцитов с различными антигенами

Маркер CD8 состоит из двух полипептидных цепей, соединенных дисульфидными связями. Гены, кодирующие его внеклеточные домены, гомологичны таковым для синтеза переменных цепей иммуноглобулинов (рис. 30.2).

Рецепторы Т-клеток. На поверхности Т-лимфоцита экспрессирован рецептор, распознающий антиген чужеродной клетки. Он представляет собой гликозилированный гетеродимер, состоящий из двух неравнозначных цепей (α и β). Каждая цепь содержит два домена, один из которых имеет константную, а другой — переменную структуру. По своему строению рецепторы Т-клеток имеют много общего с иммуноглобулинами. В связи с антигеном участвуют обе α - и β -цепи рецептора. Кроме того, у всех активированных Т-клеток рецептор нековалентно связан с белком ТЗ, состоящим из трех полипептидных цепей (γ , δ и ϵ). Этот белок участвует в передаче сигнала от антиген-рецепторного комплекса внутрь клетки (рис. 30.3).

Механизм действия Т-клеток. Антиген, поступивший в организм, захватывается антигенпрезентирующими клетками (АПК). Они представляют собой гетерогенную популяцию лейкоцитов и играют существенную роль в активации Т-хелперных клеток. АПК локализованы в лимфатических узлах, коже, селезенке, тимусе, а также в эпителии слизистых.

В АПК экспрессированы белки МНС, необходимые для представления антигена Т-хелперным клеткам. Существуют различные типы АПК. К ним, в частности, относятся дендритные клетки, локализованные в эпидермисе клетки Лангерганса, макрофаги, а также В-клетки.

Антиген, поглощенный АПК, деградирует на отдельные антигенные полипептиды, которые ассоциируются с белками МНС и перемещаются на поверхность клетки.

Центральная роль Т-хелперов в клеточном иммунитете. Т-хелперные клетки активируют различные механизмы кле-

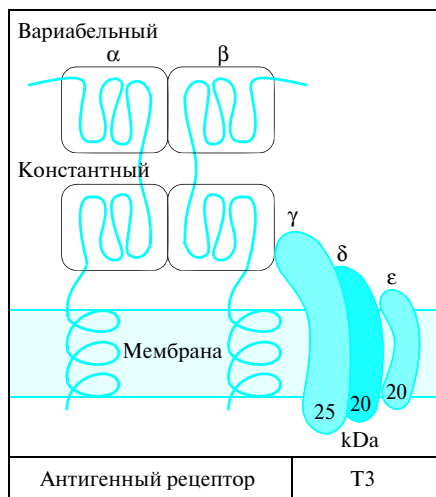


Рис. 30.3. Т-клеточный рецептор, взаимодействующий с комплексом МНС-антиген

точного иммунитета, наиболее эффективные по отношению к данному антигену. Кроме того, они стимулируют синтез антител в В-клетках, активируют или подавляют функции других иммунокомпетентных клеток, например цитотоксических Т-клеток, гранулоцитов, нормальных (естественных) киллерных клеток. Эффекты действия Т-хелперов обусловлены действием их собственных цитокинов.

Активация Т-хелперных клеток. АПК представляют Т-хелперам фрагменты антигена (эпитопы), способные взаимодействовать с рецепторами Т-клеток.

Когда хелперные Т-клетки узнают «свой» **антиген**, они активируются и начинают продуцировать *цитокины* (специальные молекулы, секретируемые лимфоцитами и осуществляющие межклеточные взаимодействия при иммунном ответе). Если антиген был ассоциирован с МНС класса 1, то активированные Тх-клетки секретируют цитокин, который называют *интерлейкин-2*, способствующий активации и клонированию цитотоксических (киллерных) Т-клеток, имеющих сродство к данному антигену. Цитотоксические Т-клетки взаимодействуют только с клетками, у которых чужеродный антиген ассоциирован с МНС класса 1. Т-лимфоцит взаимодействует с константным участком МНС-1 и, таким образом, связывается с клеткой-мишенью.

Имеется несколько вариантов выбора иммунного ответа. Кроме активации цитотоксических Т-клеток популяции CD8, возможна активация макрофагов или стимуляция синтеза антител, причем оба процесса регулируются Т-хелперами и МНС класса 1 или 2 (рис. 30.4).

Антигенпрезентирующие клетки передают фрагмент антигена Тх-клеткам. Последние прямо или посредством специальных секретируемых белков-цитокинов воздействуют на другие типы Т-клеток, а также способствуют В-клеткам в выработке антител. Активированные цитокинами Тх-клетки макрофаги, в свою очередь, способны продуцировать цитокины, имеющие существенное значение в формировании эффективного иммунного ответа.

Действие Тц-клеток на клетки-мишени. Главная функция Тц-клеток связана с уничтожением клеток, зараженных вирусами. Подавляющее большинство клеток способно экспрессировать белки МНС класса 1, которые при вирусной инфекции могут представлять экзогенный антиген цитотоксическим Т-клеткам субпопуляции CD8. Кроме того, собственные белки клеток хозяина также частично деградируют в эндо-

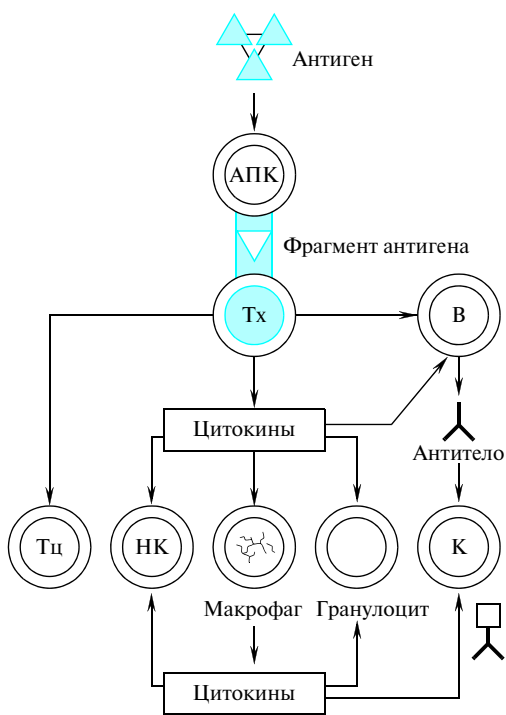


Рис. 30.4. Роль Т-хелперов в механизмах клеточного иммунитета

плазматическом ретикулуме, ассоциируются с МНС класса 1 и транспортируются на поверхность клетки для опознания их Тц-клетками CD8. При помощи специфического рецептора Тц-клетки распознают экзогенный антиген и присоединяются к клетке-мишени. Иногда для стабилизации связи между Тц-клеткой и ее мишенью возникают дополнительные связи, образующиеся по нерепепторным механизмам.

Некоторые вирусы, например вирусы герпеса, в целях защиты от Тц-клеток подавляют экспрессию белков МНС класса 1 на поверхности инфицированных клеток. В этом случае иммунная защита осуществляется посредством нормальных (естественных) киллерных клеток (НК), которые способны распознать вирус. НК представляют собой большие гранулярные лимфоциты, составляющие у человека около 5% всех лимфоцитов периферической крови. Таким образом, НК и Тц являются взаимодополняющими структурами иммунной защиты против вирусной инфекции.

Для уничтожения инфицированных клеток Тц и НК имеют несколько механизмов воздействия. Одним из таких механизмов является воздействие на мембрану клетки-мишени гранул Тц или НК, содержащих белок **перфорин** и **гранзимы** — ферменты, ассоциированные с гранулами. Перфорин — мономерный белок, при воздействии на мембраны вызывает образование пор. В присутствии Ca^{2+} мономеры перфорина связываются с мембраной клетки-мишени, полимеризуются и образуют трансмембранный канал. Это может привести к осмотическому шоку, неконтролируемому удалению внутриклеточных структур и, как следствие, гибели клетки. Гранзимы представляют собой набор цистеиновых протеиназ, расщепляющих полипептидные цепи по остатку аспарагиновой кислоты и вызывающих активацию ядерных протеиназ-каспаз. Те, в свою очередь, в результате ограниченного протеолиза активируют ядерную ДНК-азу и индуцируют запрограммированную гибель клеток — апоптоз.

Т-супрессорные (Тс)-клетки. Некоторые Т-клетки способны подавлять те или иные механизмы иммунного ответа, поэтому их называют супрессорными клетками. Они образуют гетерогенную популяцию со смешанными функциями. Одна из субпопуляций Тс синтезирует и секретирует цитокин, способный ингибировать фактор роста. Клетки этой субпопуляции являются истинными супрессорами. Другие Тс-клетки совместно с Т-хелперами контролируют активность В-клеток и Тц-клеток — главных эффекторных клеток иммунной защиты, т. е. выполняют чисто регуляторную функцию без подавления клеточного роста.

Цитокины — белковые регуляторы иммунного ответа. Межклеточная сигнализация в иммунном ответе осуществляется либо за счет прямого контакта клеток, либо с помощью цитокинов — белков межклеточной связи.

Цитокины — небольшие белки или полипептиды. Они могут действовать как на клетку, которая их продуцирует, так и на другие вблизи расположенные клетки. К цитокинам относятся *интерлейкины*, *интерфероны*, *факторы некроза опухолей*, *факторы роста*, *хемотоксические факторы* и др. Рассмотрим более подробно интерлейкины, которые синтезируются, в частности, в иммунокомпетентных клетках и осуществляют регуляцию иммунного ответа. В настоящее время открыто 18 интерлейкинов, которые обозначаются по номерам: ИЛ-1,

Таблица 30.1. Свойства некоторых интерлейкинов

| Интерлейкин | Мол. масса, kDa | Клетка-продуцент | Клетка-мишень | Действие |
|-------------|-----------------|---------------------------------|-------------------------------------|--|
| ИЛ-1 | 15 | АПК | Т-хелперы | Активация |
| ИЛ-2 | 15 | Некоторые Т-хелперы | Все активированные Т-клетки | Стимуляция пролиферации |
| ИЛ-3 | 25 | Некоторые Т-хелперы | Кроветворные клетки | Стимуляция пролиферации |
| ИЛ-4 | 20 | Некоторые Т-хелперы | В-клетки, Т-клетки | Стимуляция пролиферации, активация клеток. Увеличение числа МНС-2 на В-клетках |
| ИЛ-5 | 50 | Некоторые Т-хелперы | В-клетки | Стимуляция пролиферации и созревания |
| ИЛ-6 | 25 | Некоторые Т-хелперы и макрофаги | Активированные В-клетки и макрофаги | Стимуляция созревания В-клеток в Ig-секретирующие клетки |

ИЛ-2 и т. д. В табл. 30.1 представлены данные о свойствах некоторых интерлейкинов.

Интерлейкины действуют на клетки, связываясь с соответствующими рецепторами на цитоплазматической мембране, при этом индуцируется каскад реакций, приводящих к индукции или репрессии соответствующих генов.

30.4. В-лимфоциты.

Принципы гуморального иммунитета

В-клетки образуются и развиваются в костном мозге. Этот процесс не зависит от антигена, однако дифференцировка лимфоцитов во вторичных лимфоидных органах тесно связана с наличием антигена, под влиянием которого В-клетки синтезируют антитела, блокирующие данный антиген. Из стволовых клеток костного мозга образуются предшественники В-клеток, так называемые пре-В-клетки. Их мембраны не имеют еще рецепторов для антигенов, но в цитоплазме уже имеются тяжелые цепи будущих иммуноглобулинов М-класса. Затем пре-В-клетки уменьшаются в размерах и в них начинается синтез легких цепей Ig.

На мембранах зрелой В-клетки (рис. 30.5) начинают образовываться рецепторы для антигена, причем этот процесс временный; он заканчивается образованием *вирильной* В-клетки, имеющей на мембранах полный набор структур, необходимых для взаимодействия с антигеном и хелперной Т-клеткой.

Созревание В-клеток связано с перегруппировкой и экспрессией генов, индуцирующих легкие и тяжелые цепи иммуноглобулинов. В стволовой клетке — предшественнице В-клетки — еще отсутствует перегруппировка кодирующих иммуноглобулины генов; они находятся в зародышевой конфигурации. Далее перегруппировка сегментов генов D к J_н сегментам генов наблюдается в ранней про-В-клетке, а затем в поздней про-В-клетке сегмент генов V_н

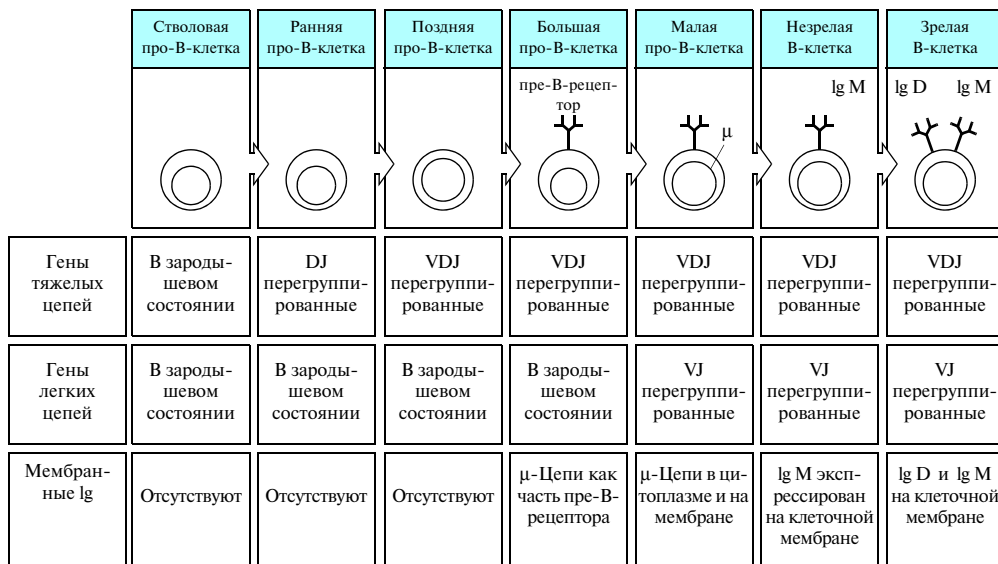


Рис. 30.5. Образование зрелых В-клеток

присоединяется к перегруппировке DJ_H . Успешная перегруппировка генов VDJ_H ведет к экспрессии тяжелых цепей Ig, являющихся частью мембранного рецептора (пре-В-рецептора) на поверхности большой пре-В-клетки по величине, подобной стволовой клетке. Она затем превращается в малую пре-В-клетку, внутри которой синтезируются μ -тяжелые цепи и начинается перегруппировка генов, кодирующих легкие цепи иммуноглобулина М. Для малых пре-В-клеток характерен низкий уровень экспрессии мембранных пре-В-рецепторов, не несущих функциональной нагрузки. В результате перегруппировки генов, кодирующих легкие цепи, малые пре-В-клетки превращаются в незрелые В-клетки, в которых экспрессированы легкие и тяжелые цепи иммуноглобулина М, представленного на поверхности мембраны лимфоцита. И наконец, образование зрелой В-клетки сопровождается образованием и перемещением на поверхность мембраны второго иммуноглобулина — Ig D.

Как видно из рис. 30.5, даже незрелые В-клетки способны образовывать антитела, поэтому организм должен обезопасить себя от возможных аутоиммунных реакций, при которых антитела связывают эндогенные макромолекулы. Механизм удаления таких аномальных В-клеток заключается в следующем. В процессе первичного созревания клетка синтезирует антитела, которые фиксируются на поверхности ее мембраны. Если какое-либо эндогенное вещество прореагирует с ними, то клетка погибает или удаляется из пула В-лимфоцитов. Таким образом, в кровоток выделяются В-клетки, которые взаимодействуют только с чужеродными веществами или антигенами. Если такая клетка встретит антиген, она активируется, но еще не превращается в дифференцированную плазматическую клетку. Существует несколько вариантов активации В-клеток.

- Тимус-независимые антигены, например бактериальные липополисахариды, активируют В-клетки самостоятельно, независимо от антигенной спе-

цифичности поверхностных рецепторов клетки. Тимус-независимые антигены вызывают синтез IgM и не стимулируют образование клеток памяти.

• Тимус-зависимые антигены требуют присутствия Т-хелперов. В результате взаимодействия В-клетки с антигеном образуется комплекс антиген—рецептор. Далее происходит интернализация этого комплекса в цитоплазму клетки, где антиген гидролизуются на отдельные фрагменты. Эти фрагменты взаимодействуют с белками МНС класса II, которые синтезирует В-клетка (рис. 30.6). Фрагмент антигена соединяется с МНС-II и перемещается на клеточную мембрану, где он узнается хелперными клетками, предварительно контактирующими с данным антигеном. Клетки синтезируют и переводят на цитоплазматическую мембрану рецептор, комплементарный структуре комплекса МНС-антиген. Происходит взаимодействие В- и Т-хелперной клеток, причем последняя начинает продуцировать интерлейкин-2, белковый фактор, стимулирующий размножение В-клеток. В результате образуются зрелые клоны плазматических клеток, способных синтезировать и секретировать антитела к данному антигену (рис. 30.7).



Рис. 30.6. Активация виргильной В-клетки антигеном

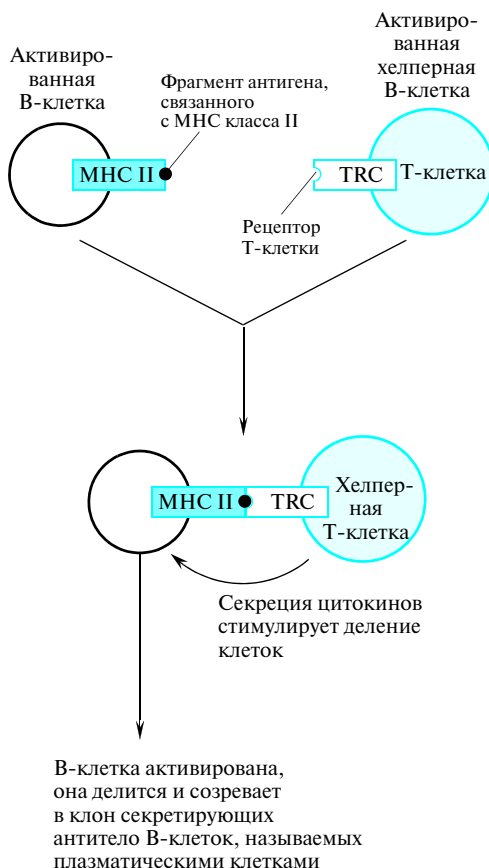


Рис. 30.7. Образование плазматической клетки

Клетки иммунологической памяти. Для иммунной системы характерно наличие памяти. Если какой-либо антиген ввести в организм, то через определенное время возникнет иммунный ответ (клеточный или гуморальный). Это так называемый *первичный иммунный ответ*. Если через несколько месяцев или лет в организм ввести этот же антиген, то формируется *вторичный иммунный ответ*, причем реакция будет более сильной и продолжительной. Это обусловлено наличием в организме долго живущих клеток иммунологической памяти по отношению к данному антигену. В иммунизированном организме имеются Т- и В-клетки памяти, которые сами не дают ответа, но легко превращаются в активные клетки под действием соответствующего антигена.

На рис. 30.6 и 30.7 показано превращение виргильной В-клетки в активную плазматическую клетку. Одновременно из виргильной образуются клетки памяти. В-клетки иммунологической памяти отличаются от первичных активных В-клеток тем, что они начинают продуцировать IgG раньше и обладают более высокоаффинными рецепторами к антигенам благодаря селекции в течение первичного иммунного ответа. Это обусловлено повышенным гипермутированием вариабельных участков иммуноглобулинов в В-клетках иммунологической памяти.

Т-клетки иммунологической памяти способны реагировать на более низкие дозы антигена, что повышает эффективность иммунного ответа.

30.5. Структура и функции антител

Антитела являются иммуноглобулинами, состоящими из тяжелых и легких полипептидных цепей. Обычно иммуноглобулин обозначают как Ig, а затем буквой указывают его принадлежность к определенному классу. IgG, на примере которого рассмотрим структуру антител, имеет Y-образную форму. Он состоит из двух легких и двух тяжелых полипептидных цепей, соединенных дисульфидными связями (рис. 30.8).

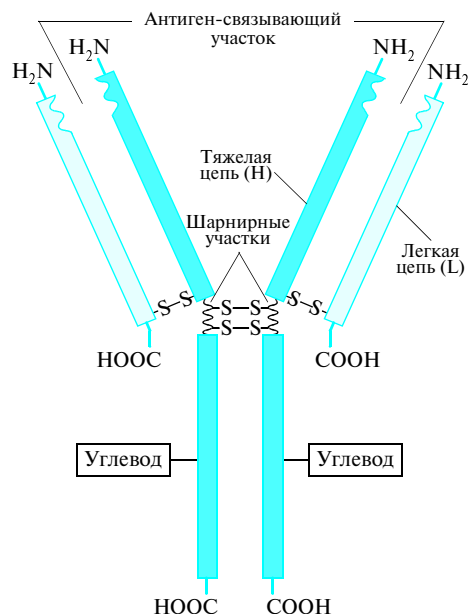


Рис. 30.8. Структура молекулы иммуноглобулина G

Тяжелые (H) цепи состоят из 440, а легкие (L) — из 220 аминокислотных остатков. Каждая цепь имеет *константные* и *вариабельные* области. Вариабельные области локализованы на N-концах обеих цепей, и именно они образуют участок связывания антигена. Разные варианты аминокислотных последовательностей в участке связывания антигена обуславливают структурное разнообразие сайтов взаимодействия с антигенами. Не все вариабельные области легких и тяжелых цепей контактируют с молекулой антигена, а лишь

небольшие участки, состоящие из 20—30 аминокислотных остатков, так называемые *гипервариабельные* участки. Каждая цепь состоит из повторяющихся последовательностей аминокислот, т. е. доменов. Легкая цепь состоит из одного переменного (V_L) и одного константного (C_L) доменов. И легкие, и тяжелые цепи содержат по одному переменному домену. Что касается константных областей, то в легких цепях локализован один домен, а в тяжелых — три или четыре домена. В основании развилки находится шарнирный участок, способствующий ограниченному пространственному перемещению полипептидных цепей. При обработке папаином молекула Ig гидролизует в области шарнирного участка, образуя три фрагмента: два антиген-связывающих F_{AB} (рис. 30.9) и один, способный к кристаллизации, — F_C . Легкие и тяжелые цепи связаны между собой дисульфидными связями.

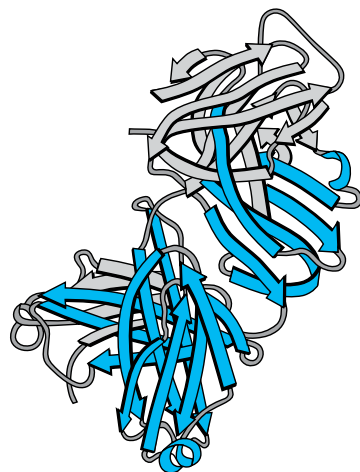


Рис. 30.9. Кристаллическая структура F_{AB} -фрагментов иммуноглобулина G (по PDB-2001) Chiara, J. B., Strura, E., Wilson, J.; Science, 264, p. 82, 1994

30.5.1. Классы иммуноглобулинов

Существует *пять классов* Ig, отличающихся друг от друга константными участками тяжелых цепей.

- Первым Ig, синтезируемым в ответ на наличие антигена, является IgM. Он представляет собой олигомер, состоящий из пяти субъединиц, каждая из которых содержит четыре полипептидные цепи с десятью антиген-связывающими участками и молекулярной массой 900 kDa. Входит в первую линию защиты при бактериальных или вирусных заражениях.

- IgA — также играет существенную роль в формировании первой линии иммунной защиты. Обеспечивает защиту слизистых оболочек от бактериальных и вирусных инфекций. Содержит две четырехцепочечные субъединицы с молекулярной массой 160 kDa.

- IgG — локализован во внутриклеточных жидкостях организма. В больших количествах синтезируется при вторичном иммунном ответе. Активирует комплекс, способствует массовому фагоцитозу антигенов. Состоит из одной субъединицы с молекулярной массой 150 kDa.

- IgD — связан с поверхностью цитоплазматической мембраны лимфоцита. Состоит из одной четырехцепочечной субъединицы с молекулярной массой 185 kDa.

- IgE — участвует в комплексной защите от бактериальных инфекций. Связан с появлением симптомов аллергии. Состоит из одной четырехцепочечной субъединицы с молекулярной массой 200 kDa.

30.5.2. Функции антител

Молекулы антител имеют два центра связывания с антигенными детерминантами (эпитопами) (рис. 30.8). Если эпитопов в молекуле антигена больше, то Ig образуют сеть антител на поверхности антигена. Комплекс антиген—ан-

титело активирует систему комплемента (комплекс порядка 20 белков, за счет каскада протеолитических реакций осуществляющих лизис мембран бактериальных клеток). Кроме того, комплексы антиген—антитело могут поглощаться макрофагами, убивающими микробные клетки. Макрофаги имеют рецепторы к F_c -участкам антител, что обеспечивает комплементарное взаимодействие этих клеток с комплексами антиген-антитело.

30.6. Биосинтез антител

Огромное разнообразие антител неадекватно числу генов, локализованных в лимфоцитах. Например, в клетках человека содержится не более 10^5 генов, а число вырабатываемых антител на 1—2 порядка больше. Иммуноглобулины являются белками, следовательно, они кодируются соответствующими генами. Таким образом, разгадку феномена этого несоответствия следует искать в особенностях функционирования генома лимфоцитов. Оказалось, что синтез антител кодируется тремя различными семействами несцепленных генов, расположенных в различных хромосомах. Рассмотрим, как формируется функционально активный участок ДНК, ответственный за образование *легкой цепи* Ig. Обнаружено около 300 генов, кодирующих вариательные участки L-цепи (V_L), один ген, кодирующий синтез константного участка (C_L), и от одного до четырех генов, ответственных за синтез аминокислотных последовательностей, соединяющих константные и вариательные участки легкой цепи (J_L).

На рис. 30.10 представлена схема формирования функционально активных генов, кодирующих легкую цепь Ig.

До начала перегруппировки на матрице ДНК находится до 300 генов, способных кодировать вариательные участки антител, а также до четырех генов соединения (J).

Перегруппировка генов в данном случае представляет собой спонтанный процесс, в результате чего каждый из 300 вариательных генов случайно находит ген J и соединяется с ним. Это соединение сопровождается вырезанием интронов на цепи ДНК. Взаимодействие 300 V_L -генов с четырьмя J-генами да-

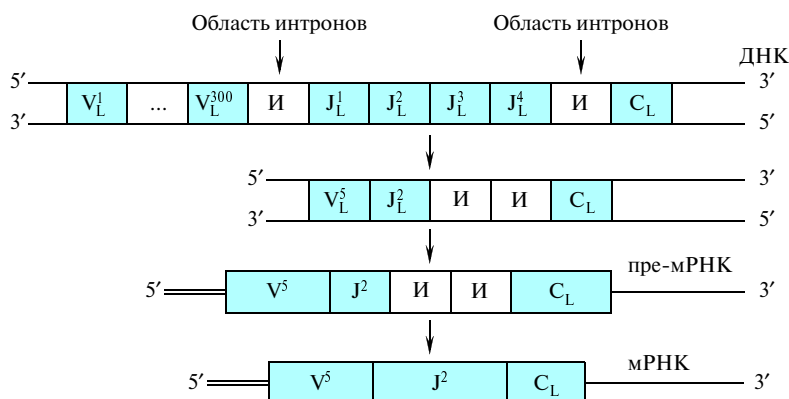


Рис. 30.10. Образование функционально активных генов и мРНК, кодирующих легкие цепи Ig

ет 1200 различных комбинаций образования активных генов. Это число значительно увеличивается за счет сдвигов рамки вырезания генов, а также в результате точечных мутаций в области варибельных генов. Данные механизмы характерны и для варибельных участков тяжелых цепей. Образовавшиеся комбинации антиген-связывающих центров Ig имеют различное сродство к антигену. Далее происходит отбор, причем в качестве селекционера выступает антиген. В результате образуются плазматические клетки, синтезирующие иммуноглобулины с максимальным сродством к данному антигену.

Перегруппировка генов, кодирующих тяжелые цепи Ig. Следует отметить, что тяжелые цепи иммуноглобулинов также состоят из варибельных и константных областей. Варибельная область кодируется тремя различными типами генов: V_H -варибельный фрагмент (150 генов), D_H -гиперварибельный (50 генов) и J_H -соединяющий фрагмент (4 гена). D_H -фрагмент характерен для варибельной области только тяжелых цепей (*diversity* — разнообразие). Как известно, антитела разделяются на пять классов, причем принадлежность к тому или иному классу определяется константной областью тяжелой цепи. М-классу соответствует μ -цепь; D-классу — δ -цепь; G-классу — γ -цепь; E-классу — ϵ -цепь и A-классу — α -цепь иммуноглобулина. В-клетки способны менять константные фрагменты тяжелых цепей без изменений их варибельных участков. Это приводит к переключению классов — феномену, имеющему большое биологическое значение. Формирование функционально активного участка ДНК, кодирующего тяжелые цепи Ig, представлено на рис. 30.11.

Так же как и для легких цепей, каждый из варибельных генов случайно находит гены D и J и соединяется с ними.

В результате транскрипции прежде всего образуются пре-мРНК, содержащие как C_μ -, так и C_δ -последовательности, что соответствует М- и D-классам иммуноглобулинов, локализованных на поверхности мембраны лимфоцита и имеющих идентичные антиген-связывающие участки. Вначале В-клетки синтезируют антитела М-класса, затем начинается синтез Ig D-класса или же одновременный синтез иммуноглобулинов М- и D-классов. Прекращение синтеза класса М и начало синтеза класса D или же любого другого класса иммуноглобулинов называется *переключением классов*. Переключение может происходить либо в результате рекомбинации генов, либо вследствие дифференциального сплайсинга мРНК. Рекомбинация переключения классов связана с необратимым изменением матрицы и осуществляется на стадии транскрипции.

Рекомбинация переключения. В настоящее время большинство молекулярных механизмов переключения классов иммуноглобулинов полностью

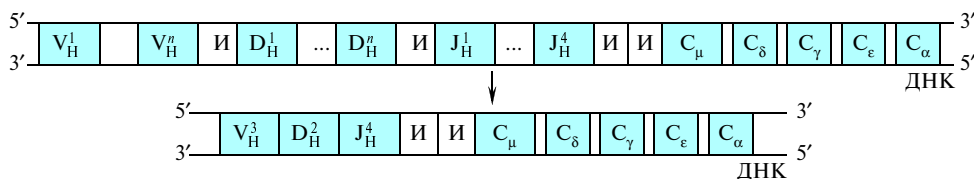
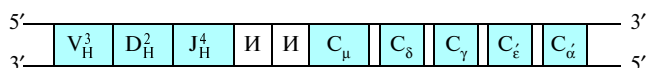


Рис. 30.11. Формирование функционально активных генов, кодирующих образование тяжелой цепи Ig

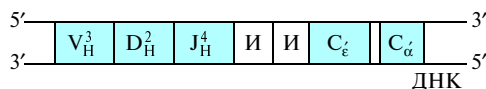
идентифицировано. Сигналы на переключение классов поступают от Т-клеток, субпопуляции CD4, а также от цитокинов. Например, интерлейкин ИЛ-4 индуцирует переключение на синтез IgG или IgE. В процессе переключения классов иммуноглобулинов происходит цитокин-зависимая транскрипция в требуемой константной области, образовавшейся в результате рекомбинации переключения.

Например, если экспрессируется класс А, то вырезаются все фрагменты ДНК, соответствующие классам М, D, G, Е, и образуется активный фрагмент ДНК, включающий в себя вариабельные гены, а также ген, кодирующий константную α -цепь. Если же клетка должна экспрессировать антитело, допустим, класса Е, то под влиянием Т-клеток и цитокинов происходит *переключение классов*. Перед каждым геном тяжелых цепей (кроме D-класса) имеется сайт переключения. При наличии сигнала от Т-клеток или цитокинов эти участки рекомбинируют друг с другом, а промежуточные гены (соответствующие цепям C_μ , C_δ и C_γ) вырезаются. Удаление промежуточных генов происходит следующим образом. При получении сигнала на переключение соответствующие участки рекомбинируют, при этом образуется петля цепи ДНК, которая вырезается эндонуклеазами. Сайты рекомбинации расположены в зонах интронов и в результате сплайсинга также удаляются.

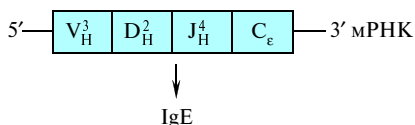
Схема переключения классов выглядит следующим образом:



Сначала с 5'-стороны удаляются последовательности ДНК, в которых локализованы цепи C_μ , C_δ и C_γ и образуется функционально активный фрагмент:



В результате синтеза пре-мРНК транскрибируется только C_ϵ -цепь и после сплайсинга образуется зрелая мРНК:



И наконец, в результате трансляции образуется IgE.

Переключение классов на уровне посттранскрипционного процессинга происходит в результате дифференциального сплайсинга, не затрагивающего исходную матрицу ДНК.

Переключение классов в результате дифференциального (альтернативного) сплайсинга. Этот механизм имеет существенное значение, когда виргильная клетка начинает вырабатывать одновременно мембранно-связанные иммуноглобулины М и D. Переключение классов происходит на уровне процессинга РНК, в результате дифференциального сплайсинга. Большие транскрипты, содержащие как C_μ -, так и C_δ -последовательности, подвергаются

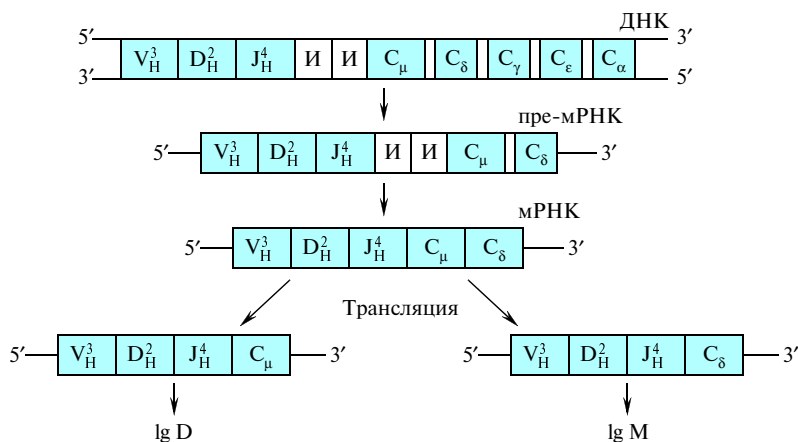


Рис. 30.12. Два варианта сплайсинга, приводящие к образованию различных классов антител

ся сплайсингу двумя способами, в результате образуются молекулы мРНК, имеющие одинаковую V_H -последовательность, соединенную либо с C_μ -, либо с C_δ -цепями. Очередность событий представлена на рис. 30.12.

30.7. Процессинг и транспорт антител

Как мы знаем, антитела содержат легкие и тяжелые полипептидные цепи, а IgM и IgA, кроме того, состоят из пяти и двух субъединиц соответственно. Антитела, будучи секреторными или мембранными белками, синтезируются на мембранно-связанных рибосомах. Их созревание и транспорт проходит по механизмам, описанным в гл. 29. В цистернах эндоплазматического ретикулула происходит формирование третичной структуры антител и частичное их гликозилирование. Далее в аппарате Гольджи завершается их окончательное

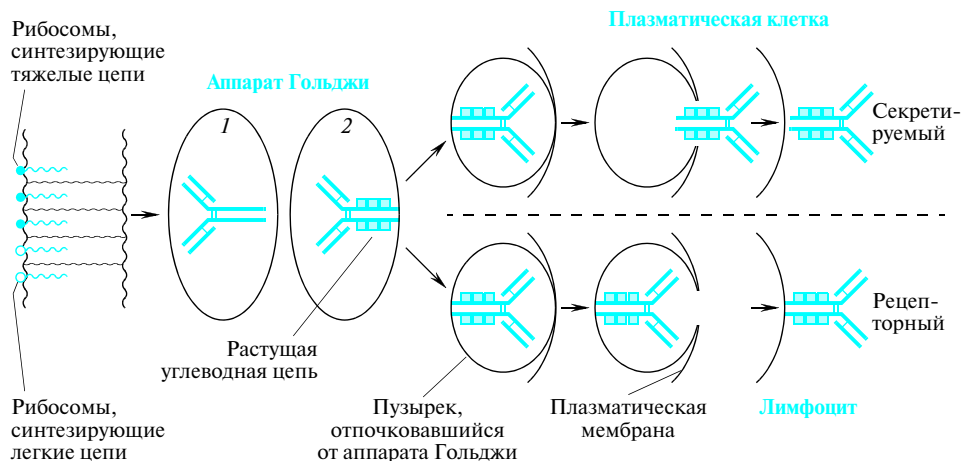


Рис. 30.13. Синтез и транспорт Ig M в мембраны и во внеклеточное пространство:
1 — цис-; 2 — транс-стороны аппарата Гольджи

гликозилирование, в результате которого определяется дальнейший путь Ig в мембрану или во внеклеточное пространство (рис. 30.13).

30.8. Неспецифические защитные реакции организма

При защите организма от вирусных, бактериальных инфекций и других чужеродных для организма агентов, кроме иммунной системы, функционируют неспецифические защитные реакции и механизмы. Рассмотрим некоторые из них.

30.8.1. Фагоцитарная система

У млекопитающих, включая человека, фагоцитоз является механизмом защиты от различных инфекций и заключается в захвате и переваривании чужеродных клеток при помощи *полиморфноядерных нейтрофилов* (ПМН) и *макрофагов*. ПМН обеспечивают защиту от автономно существующих в организме бактерий, например гноеродных. Что касается макрофагов, то они принимают участие почти на всех этапах иммунного ответа. Являясь антигенпрезентирующими клетками, они активируют Т-клетки, передавая им фрагменты соответствующего антигена. В свою очередь, активированные Т-клетками они принимают активное участие в уничтожении тех бактерий и вирусов, которые существуют внутри клеток хозяина. Одним из механизмов разрушения чужеродных клеток является использование кислородных радикалов. В макрофагах активируется *глюкозо-фосфатный шунт*, увеличивается выход НАДФН на фоне повышенного потребления кислорода. Образовавшиеся при этом синглетный кислород и супероксид являются мощными антибактерицидными агентами. Эффект усиливается за счет сочетанного действия активного кислорода, миелопероксидазы и атомов галогенов. Кислороднезависимая цитотоксичность связана с действием кислых гидролаз и лизоцима макрофагов, а также специальных катионных белков, способных разрушать бактериальную мембрану. Для реализации фагоцитоза необходимо сближение фагоцита и микроорганизма, адгезия микроорганизма на поверхности фагоцита и активация последнего. Следует учитывать высокую изменчивость бактерий и возможность выхода из-под контроля защитных сил организма. Для облегчения фагоцитоза в организме функционирует специализированная система протеолитических ферментов.

30.8.2. Система комплемента

Система комплемента представляет собой комплекс функционально связанных белков-ферментов, которые лизируют чужеродные клетки. Кроме того, система комплемента участвует в солюбилизации иммунных комплексов, активации фагоцитов, процессах свертывания крови. Комплемент принимает участие в *противовирусном* и *противобактериальном* иммунитете. Ферменты комплемента находятся в неактивном состоянии и активируются под действием различных внешних факторов. Имеется два основных пути активации системы комплемента: *классический* и *альтернативный*. Наличие антител против какого-либо антигена является основанием для активации комплемента и

осуществляется по классическому пути. Альтернативный путь не связан с иммунными реакциями. Он реализуется до синтеза соответствующих антител и является неспецифическим механизмом защиты организма от бактерий или вирусов.

Активация системы комплемента проходит в три этапа.

Первый из них связан с инициацией процесса, причем если он протекает по классическому пути, то инициатором являются иммунные комплексы. К F_c -фрагментам иммуноглобулинов присоединяется субкомпонент $C1q$, что индуцирует гидролиз соответствующих пептидных связей и активацию всего комплекса. Инициация альтернативного пути активации комплемента связана с гидролизом связей в компоненте $C3$ между глицином 988 и цистеином 990.

Второй этап активации представляет собой каскад реакций локального протеолиза, в результате чего образуются активные протеиназы. На этом этапе происходит взаимодействие классического и альтернативного путей активации комплемента. В результате имеет место усиление действия классического пути активации.

Третий этап характеризуется образованием мембраноатакующего комплекса комплемента. Фрагменты, полученные в результате протеолиза компонентов комплемента, погружаются в липидный бислой клеточной мембраны и вызывают лизис бактериальной клетки.

Система комплемента облегчает адгезию микроорганизмов на поверхности фагоцита, кроме того, фрагменты системы комплемента $C3a$ и $C5a$ активируют поглощение кислорода фагоцитами и образование активных форм кислорода.

Белки острой фазы. Неспецифическую резистентность организма обеспечивают также белковые структуры, которые получили название белки острой фазы.

К ним относятся **интерферон, фибронектин, лизоцим, С-реактивный белок, α_2 -макроглобулин**. Они участвуют в различных механизмах, направленных на уничтожение чужеродных клеток. Например, С-реактивный белок связывается с бактериальной мембраной в сайте фосфохолина, что вызывает активацию системы комплемента.

30.9. Иммунодефициты

Термином *иммунодефицит* обозначают частичное подавление иммунного ответа, связанное с дефектами одного или нескольких механизмов, его составляющих. Различают *первичные* иммунодефициты, обусловленные генетическими нарушениями, и *вторичные*, связанные с воздействием на организм инфекционных или других факторов. Первичные иммунодефициты разделяют на гуморальные, клеточные и комбинированные.

Гуморальные иммунодефициты чаще всего обусловлены недостатком антител, связанным с нарушениями их синтеза, сборки или переключениями классов. Например, селективный дефицит IgA связан именно с нарушением механизма переключения синтеза тяжелых цепей, а дефицит IgM обусловлен частичным подавлением синтеза μ -цепей иммуноглобулинов.

Клеточные иммунодефициты связаны в основном с нарушениями образования активных клеток иммунной защиты. Так, снижение числа В-клеток является результатом подавления механизмов их созревания, т.е. перехода пре-В- в В-клетки.

Развитие *комбинированных* иммунодефицитов имеет место при сочетанном нарушении клеточного и гуморального иммунитета, чаще всего в результате патологии центральных лимфоидных органов.

В этих случаях возможен каскад дефектов на уровне периферических лимфоидных органов. Например, генетический дефект на уровне лимфоидной стволовой клетки может привести к ингибированию В- или Т-дифференцировки, дефектам синтеза легких или тяжелых цепей иммуноглобулинов, появлению дефектных рецепторов иммунокомпетентных клеток.

Вторичные иммунодефициты чаще всего выражены при паразитарных и вирусных инфекциях. Наиболее сильное воздействие на иммунную систему оказывают различные вирусы. Механизмы этого воздействия разнообразны и зависят от многих причин, таких, как деструкция мембран лимфоцитов вирусами, поражение макрофагов, нарушение процессов дифференцировки лимфоцитов и др.

30.9.1. Синдром приобретенного иммунодефицита (СПИД)

СПИД впервые описан в 1981 г. в США, однако отдельные наблюдения, связанные с этим заболеванием, были отмечены намного раньше. Возбудитель принадлежит к ретровирусам и обозначается как HIV (*Human immunodeficiency virus*). После проникновения в клетку РНК-вирус при помощи ревертазы образует кДНК, которая встраивается в геном хозяина. Затем начинается репликация вируса. Прежде всего вирус поражает Т-хелперы, причем CD4-маркер играет роль рецептора. Кроме того, вирус поражает клетки ЦНС, вызывая энцефалопатию.

Таким образом, наиболее уязвимыми являются Тх-клетки, отмечено поражение в первую очередь CD4-клеток. Содержание CD8-клеток несколько увеличивается в процессе заболевания и снижается только в терминальной стадии патологического процесса. Соотношение CD4/CD8 является важным диагностическим показателем, используемым в клинической практике.

Число В-клеток при ВИЧ-инфицировании, как правило, остается в пределах нормы. То же самое отмечено и для макрофагов, однако имеет место нарушение механизмов хемотаксиса. Достоверное снижение синтеза интерлейкина-2 коррелирует с уменьшением числа CD4-клеток.

30.10. Лекарственные вещества — иммунодепрессанты

Ряд лекарственных веществ, применяемых для иммунокоррекции, подавляет иммунные реакции в организме.

Стероиды. Весьма эффективными эндогенными ингибиторами иммунного ответа являются глюкокортикоиды. Они оказывают сильное влияние на функции иммунокомпетентных клеток. Лечение стероидными препаратами приводит к возникновению нейтрофилии, причем одновременно с нейтрофилией отмечено быстрое падение числа циркулирующих в крови эозинофилов и базофилов.

Применение стероидов является причиной снижения числа лимфоцитов, особенно Тх-клеток популяции CD4. Стероиды ингибируют пролиферацию Т-клеток и подавляют синтез ИЛ-2. Чувствительность В-клеток к воздействию стероидов менее выражена, однако длительное применение этих гормонов приводит к достоверному снижению числа иммуноглобулинов всех изотипов. Стероидные гормоны подавляют синтез цитокинов, связываясь с гормоночувствительными участками в области промотора соответствующих генов, а также в результате ингибирования факторов активации транскрипции мРНК цитокинов.

Циклофосфамид. Этот препарат относится к группе иммуномодуляторов алкилирующего действия, причем эффект реализуется за счет метаболитов, образующихся в результате биотрансформации исходного циклофосфамида. Имея два активных участка, метаболиты связывают цепи ДНК, препятствуя их расхождению в процессе репликации. Действие этого препарата на иммунную систему связано со снижением числа лимфоцитов и подавлением их функций. Эффект характерен как для Т-, так и для В-лимфоцитов, следовательно, циклофосфамид может подавлять как клеточный, так и гуморальный иммунитет. Поэтому данный препарат можно с успехом применять для лечения различных аутоиммунных заболеваний.

Азатиоприн. В организме азатиоприн метаболизирует до 6-меркаптопурина и далее до тиноинозиновой кислоты, которая ингибирует обмен пуринов, включаясь в молекулу ДНК как ложное основание. Таким образом, азатиоприн является выраженным ингибитором синтеза ДНК.

Азатиоприн при пероральном введении вызывает умеренное снижение Т- и В-клеток, оказывая действие на Тц- и НК-клетки.

Микрофенолат. Этот препарат воздействует на конечную стадию синтеза пуринов, в частности в лимфоцитах, пролиферирующих в ответ на антигенную стимуляцию.

Микрофенолат ингибирует пролиферацию Т- и В-клеток, что снижает интенсивность общего иммунного ответа.

Метотрексат. Он является структурным аналогом фолиевой кислоты и блокирует процессы синтеза ДНК, протекающие с ее участием. Метотрексат подавляет синтез иммуноглобулинов и не оказывает никакого влияния на клеточный иммунитет.

Циклоспорин. Этот антибиотик представляет собой полипептид, состоящий из 11 аминокислотных остатков. Он способен проникать в антигенчувствительные Т-клетки и избирательно блокировать транскрипцию мРНК лимфоцитов. Кроме того, циклоспорин связывается с цитоплазматическими белками иммуофилинами, играющими основную роль в передаче сигнала с клеточной поверхности в ядро.

Действуя преимущественно на Т-клетки, циклоспорин специфически ингибирует пролиферативную активность В-лимфоцитов. Таким образом, иммунодепрессивное действие циклоспорина распространяется на основные клетки иммунной системы. В настоящее время циклоспорин является одним из основных препаратов, применяемых для предотвращения отторжения тканей или органов при их пересадке реципиентам.

31.1. Общая характеристика

Биологическая инженерия представляет собой совокупность приемов, направленных на модификацию клеточного синтеза с целью получения в необходимых количествах тех или иных целевых продуктов. Животные и растительные клетки, переведенные в культуру, используются для многих фундаментальных исследований в качестве модельных систем. Кроме того, имеется самостоятельное инженерное направление исследований, получившее название *клеточная инженерия*.

31.2. Основы клеточной инженерии

31.2.1. Животные клетки

Одним из перспективных методов получения целевых продуктов из животных клеток является их гибридизация. Примером может служить образование гибридом путем слияния нормальных и трансформированных злокачественных клеток. Г. Мильстейн и соавторы разработали метод получения моноклональных антител (мкАТ) в результате слияния клеток селезенки и миеломы. Образовавшиеся гибридомы от селезенки унаследовали способность к синтезу и секреции антител, а от миеломы — неограниченный рост и деление.

Получение мкАТ. Моноклональные антитела получают простым и весьма остроумным способом, обеспечивающим использование исключительно гибридных клеток. Мышей иммунизируют тем антигеном, получение антител к которому является конечной целью работы. Выделенные В-лимфоциты в присутствии полиэтиленгликоля ассоциируют с клетками миеломы, в результате чего происходит их слияние. Обязательным условием эксперимента является работа с такими миеломными клетками, у которых репрессирован ген, кодирующий синтез гипоксантин-гуанин-дифосфорибозилтрансферазы (ГГФРТ). Отбору гибридом способствует использование селективной среды, содержащей гипоксантин, аминоптерин и тимидин. Миеломные клетки на этой среде погибают из-за отсутствия в них ГГФРТ. Нормальные клетки имеют этот фермент, но также погибают, так как они не способны размножаться в культуре. В результате выживают только гибридные клетки. Из образовавшихся клонов выделяют мкАТ к заданному антигену (рис. 31.1).

Применение моноклональных антител. В последние два десятилетия применение МКАТ увеличивается все в возрастающих масштабах.

❗ Они с успехом применяются в научных исследованиях и лабораторной практике для анализа самых разнообразных структур.

Например, весьма перспективным является анализ клеточных рецепторов с помощью моноклональных антител. Таким образом, удалось установить молекулярные механизмы действия ряда гормонов и нейропептидов. Особый интерес представляют для фармакологов мкАТ в качестве инструмента *идентификации действия лекарственных веществ по рецепторным механизмам*. Это но-

вое направление в настоящее время бурно развивается. На клеточной поверхности находится большое количество белков-детерминантов, отвечающих за дифференцировку клеток. Их идентифицируют с помощью моноклональных антител. Указанным методом проведены фундаментальные исследования дифференцировки клеток человека, в частности фибробластов, тестикулярной и нервной тканей.

В биотехнологии моноклональные антитела используются в качестве лигандов для аффинной хроматографии. Присоединение интерфероновых мкАТ к сепфарозе позволило разработать метод получения интерферона человека, очищенного в 5000 раз. При помощи мкАТ можно получать гомогенные препараты гормонов, белков, токсинов и других веществ.

В медицине моноклональные антитела применяют прежде всего для диагностики различных заболеваний. Такие бактериальные заболевания, как кокковые, паразитарные инфекции, малярия, а также грибки хламидии, при помощи мкАТ диагностируются гораздо точнее, чем другими, традиционными методами. В вирусологии использование мкАТ дало возможность разработать условия антигенного анализа вирусов гораздо более информативного, чем при использовании поликлональных антител. Этот метод позволил получить уникальную информацию об антигенных детерминантах ДНК- и РНК-содержащих вирусов и их изменчивости. В частности, были идентифицированы антигенные детерминанты вирусов гриппа, полиомиелита, гепатита А и др.

Особенно эффективно применение мкАТ в онкологии. Для диагностики опухолевых заболеваний необходимо получение гибридных клонов, взаимодействующих только с раковыми клетками. Была разработана такая гибридная техника, в результате чего оказалась возможной диагностика рака толстой кишки, щитовидной железы, нейроblastом, лейкозов и других опухолей. Радиоиммунная диагностика на основе моноклональных антител дала возможность выявить опухоль передней доли гипофиза на ранних стадиях развития патологического процесса. В некоторых случаях с помощью мкАТ удастся идентифицировать природу раковых антигенов. Так, антиген, локализованный на поверхности меланомных клеток человека, представляет собой гликопротеин с разветвленной

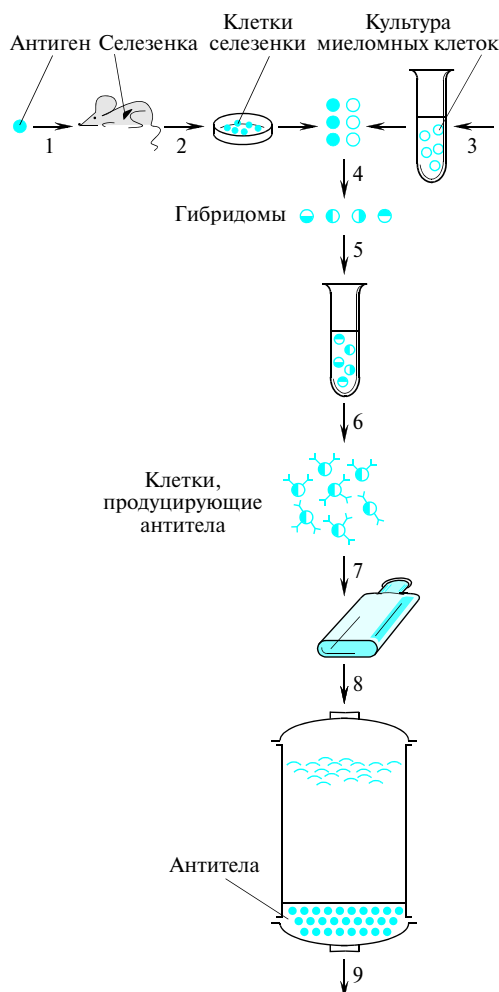


Рис. 31.1. Схема получения мкАТ

гликозидной структурой. При помощи мкАТ возможно не только диагностировать опухолевые процессы, но и изучать молекулярные механизмы малигнизации клеток. Ряд белков, кодируемых онкогенами, был выявлен при помощи моноклональных антител. Например, онкоген саркомы Рауса кодирует белок, обладающий киназной активностью. Он способен фосфорилировать белки по тирозину, подобно фактору роста эпидермиса, и индуцировать неконтролируемое деление клеток.

Моноклональные антитела применяют в качестве *индивидуальных* или *комплексных терапевтических средств*. Радиоактивные мкАТ, селективно взаимодействуя с рецепторами раковых клеток, тормозят или полностью подавляют их рост. Весьма перспективным представляется соединение мкАТ с противоопухолевыми цитостатиками и адресная доставка их в опухолевые клетки. Некоторые природные токсины при соответствующей модификации могут быть превращены в специфические иммунотоксины, избирательно взаимодействующие с опухолевыми клетками. Например, **рицин** — токсин из семян клещевины. Он состоит из двух полипептидных цепей, одна из которых (А-цепь) обладает токсическим действием, а вторая — В-цепь, — имеющая повышенное сродство к галактозе, связывается с клеточной поверхностью. Механизм действия токсина заключается в следующем. Он взаимодействует с клеткой и присоединяется к ней при помощи В-цепи. В результате диссоциации А-цепь освобождается и, проникая в клетку, блокирует синтез белка. Заменяя В-цепь на соответствующее мкАТ, можно создать *иммунотоксин*, направленно воздействующий на опухолевые клетки.

Применение мкАТ в терапии наталкивается на некоторые трудности, например на наличие в крови адресных антигенов, дефицит моноклональных антител человеческого происхождения и т. д. Тем не менее преимущества применения моноклональных антител очевидны, что обусловило производство их в промышленном масштабе. Ряд фармацевтических фирм США, Европы и Японии производят диагностические наборы, мкАТ для терапии ряда заболеваний и лабораторной техники, а также для научных исследований.

31.2.2. Растительные клетки

Культура растительных клеток является искусственно созданной биологической системой, функционирующей *in vitro* и сохраняющей многие черты, присущие интактному растению. Имеется два варианта функционирования таких систем: в виде каллуса, образовавшегося в процессе поверхностного культивирования, а также в виде суспензии клеток в результате глубинного культивирования. *Каллус* — весьма гетерогенное образование (рис. 31.2). Он представляет собой совокупность недифференцированных клеток, способных синтезировать некоторые метаболиты, присущие целому растению.

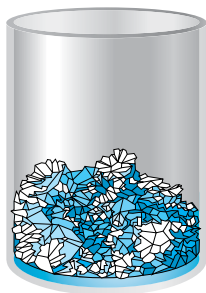


Рис. 31.2. Каллус культуры ткани женьшеня

Суспензия клеток более гомогенна, чем каллус, и проявляет способность к более быстрому росту и адаптации. Перевод клеток в культуру является сильным стрессовым фактором, изменяющим многие стороны клеточного метаболизма. Прежде всего это касается функциони-

рования генома. Гены выживания индуцируются, а гены, ответственные за дифференцировку, репрессируются.

Несмотря на некоторое снижение биосинтетической способности, культивируемые клетки растений синтезируют гораздо большее количество метаболитов по сравнению с микробными клетками.

Клетки растений, переведенные в культуру, являются прекрасной моделью для генетических и биохимических исследований, дающей возможность в ряде случаев получить уникальную информацию. Например, оценка синтеза и стабильности индивидуальных белков невозможна на целом растении, но легко осуществима на культуре клеток.

Что касается практической значимости этой модели, то можно выделить три основных направления.

- В результате слияния протопластов получение растений-регенерантов. При помощи ферментативного гидролиза разрушаются клеточные стенки и образуются «раздетые» клетки, или протопласты. Они способны к слиянию, и этот процесс называется парасексуальной гибридизацией растительных клеток. Индуктором слияния является полиэтиленгликоль, а образованные гибриды обрабатываются сильным щелочным раствором или диметилсульфоксидом. Техника слияния напоминает образование гибридов животными клетками, однако имеется существенное отличие. Слияние животных клеток позволяет получить только лишь новую клетку, а слияние протопластов является основой получения нового гибридного растения. Парасексуальная гибридизация посредством слияния протопластов дает возможность скрещивать филогенетически отдаленные виды растений, которые невозможно скрестить обычным половым путем, а также комбинировать родительские гены растений в различных вариантах (рис. 31.3).

Слияние двух типов протопластов происходит при их смешивании в присутствии полиэтиленгликоля. Смесь наносят на стекло и через 15 мин отбирают продукты слияния. Затем их культивируют на питательной среде, в результате чего происходит регенерация клеточной стенки и образуется гибридная клетка, а затем соматический гибрид.

- Получение первичных и вторичных метаболитов из культур растительных клеток. Из первичных метаболитов наибольшее практическое значение имеют ферменты *растительного происхождения*. Они менее токсичны по сравнению с микробными аналогами и, сле-

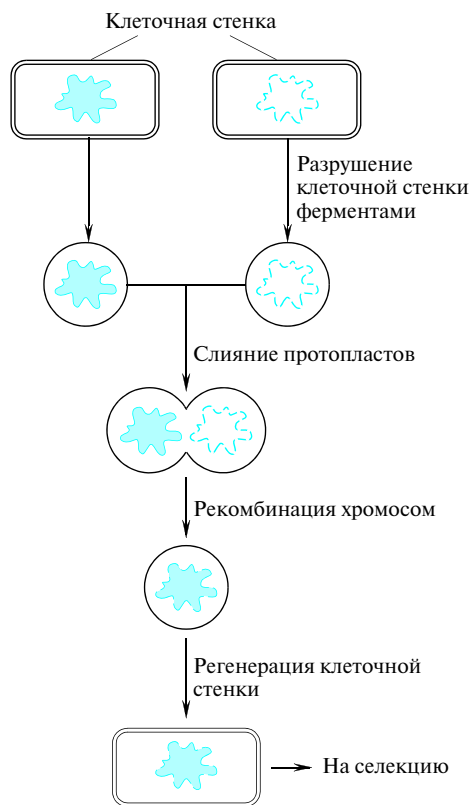


Рис. 31.3. Слияние протопластов растений

довательно, не требуют высокой степени очистки при их применении в промышленности и медицине.

Растительные клетки способны синтезировать несравненно большее количество метаболитов по сравнению с микробными клетками. Продукты вторичного обмена клеточных культур растений в ряде случаев не имеют аналогов и не могут быть получены методом органического синтеза. Таким образом, клеточный синтез растительных клеток играет уникальную роль при получении ряда веществ для нужд промышленности и медицины. Первичные культуры клеток во многих случаях содержат небольшие количества вторичных метаболитов, имеющих прикладное значение. Поэтому необходимо оптимизировать условия культивирования, целенаправленно интенсифицировать синтез целевого продукта. Это осуществляется:

- селекцией высокопродуктивных клеток и созданием клонов, синтезирующих тот или иной метаболит в количествах, сопоставимых или превышающих таковые в интактном растении;
- шоковым воздействием на геном клеток в сочетании с введением в среду фитопатогенов;
- посредством направленного мутагенеза;
- при помощи генной инженерии.

Многие продукты вторичного обмена культур клеток были получены в промышленных или лабораторных условиях. Например, *сердечные гликозиды* — из культуры ткани наперстянки, *стероиды* — из диаскорей дельтовидной, *алкалоиды* — из культуры ткани мака, а также из раувольфии змеиной и т. д., всего более ста веществ, имеющих существенное значение для промышленности и медицины. Основными проблемами, осложняющими получение целевых

продуктов из культуры растительных клеток, являются создание генетически стабильных штаммов и выделение метаболитов из млечников или вакуолей, где они обычно накапливаются.

• При помощи методов генной инженерии создание клеток или растений-регенераторов с новыми свойствами.

В последние годы достигнуты большие успехи, связанные с генетической трансформацией клеток, в том числе и растительного происхождения. Схема трансформации включает в себя получение протопласта, введение в него необходимой генетической информации, формирование полноценной растительной клетки, клонирование и регенерацию. (Подробно техника генно-инженерных экспериментов будет описана в следующем разделе.) В данной схеме «трансформированный протопласт — суспензионная культура — каллусная культура — целое растение» (рис. 31.4) — наиболее тех-

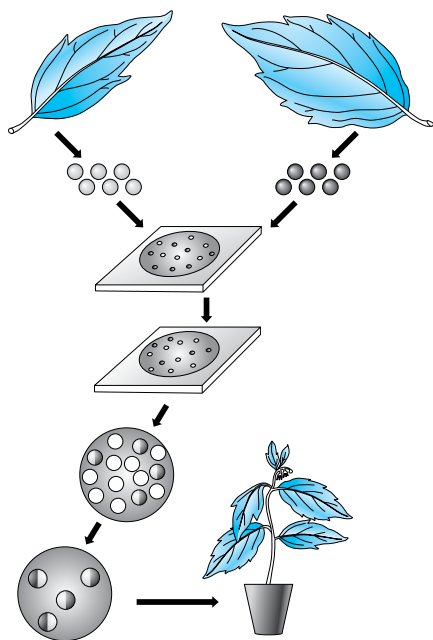


Рис. 31.4. Получение соматических гибридов растений (по Н. А. Картель)

нически трудными для исполнения являются первый и последний этапы. Последняя операция представляется наиболее ценной и перспективной, так как дает возможность получить растения, в том числе и сельскохозяйственные, с новыми, заданными свойствами.

31.3. Молекулярные аспекты биоинженерии.

Генная инженерия

31.3.1. Общая характеристика

В геноме каждой живой клетки заложена генетическая программа, определяющая и контролирующая основные реакции клеточного метаболизма.

История развития генной инженерии насчитывает не более тридцати лет. Ее становление связано с конструированием векторных молекул, получением рекомбинантных ДНК, а также включением в векторы генов животных и человека. Невозможно связать генную инженерию с одним каким-либо открытием, так как она представляет собой совокупность приемов и методов, направленных на создание искусственно модифицированных генетических программ. В предыдущей главе рассмотрены процессы генетической рекомбинации, происходящие при синтезе антител в природных условиях. Возможно эти процессы и явились толчком для проведения опытов, связанных с получением рекомбинантных генов искусственным путем.

Методы. Для проведения генно-инженерных процедур необходимо использование ряда узкоспециализированных методов. К ним относятся секвенирование ДНК; получение фрагментов ДНК; выделение отдельных генов, необходимых для построения генетической программы; выбор и конструирование ген-несущего вектора; встраивание вектора в ДНК клетки-хозяина.

Ферменты. В указанных выше методах применяются следующие ферменты: **эндонуклеазы** или **рестриктазы**; обратная транскриптаза или ревертаза; **ДНК-лигазы**; **экзонуклеазы**; щелочная фосфатаза; полинуклеотидкиназа; концевая дезаксинуклеотидилтрансфераза; ДНК-полимераза.

Получение генов. Их возможно получать методом химического синтеза, выделением из геномов живых организмов, а также при помощи *обратной транскриптазы*, которая на соответствующей мРНК кодирует комплементарную ДНК (кДНК). Первый и второй методы имеют ограниченное применение. Химический синтез — достаточно длительная и дорогостоящая процедура. Выделение однородных фрагментов ДНК осуществляется при помощи **ферментов-рестриктаз**, которые узнают и расщепляют ДНК в строго фиксированных точках. Эти ферменты функционально связаны с модифицирующими **метилазами** следующим образом: метилазы осуществляют метилирование в сайтах ДНК, которые атакуются рестриктазами. Метилирование защищает собственную ДНК клетки от неспецифической фрагментации, в то время как чужеродная ДНК немедленно разрушается. В месте разрыва полинуклеотидных цепей образуются, в частности, липкие концы, способные образовывать между собой комплементарные пары оснований. Открытие В. Арбером рестрикции и использование ее для получения генов было отмечено Нобелевской премией. В настоящее время идентифицировано более 500 рестриктаз, причем их название складывается из первой буквы рода микроорганизма и двух пер-

вых букв вида, из которого выделена рестриктаза. Например, фермент, выделенный из кишечной палочки *E. coli*, называют **Есо**. При использовании фрагментов ДНК в качестве носителей генов следует учитывать то, что ДНК имеет мозаичную структуру, состоящую из интронов и экзонов, а клетка-реципиент, или компетентная клетка, как правило, лишена механизма сплайсинга. Наибольшее распространение получил *ферментативный метод получения генов*. Из клеток выделяют суммарную фракцию матричных РНК, затем посредством иммунопреципитации осаждают мРНК, кодируемую геном, который является конечной целью выделения. Моновалентные антитела берутся из наборов или получают в лабораторных условиях с помощью кодируемого целевым геном белка-антигена. Затем при помощи фермента обратной транскриптазы (**ревертазы**) в присутствии ионов Mg^{2+} на матрице мРНК синтезируется комплементарная кДНК. Однако для функционирования ревертазы необходима затравка. Для этого к мРНК добавляют полиТ, которая с 3'-концевой полиА мРНК образует двухцепочечный участок, называемый шпилькой. Этот участок и является затравкой для действия ревертазы. Синтез второй цепи ДНК проводят при помощи обратной транскриптазы и фрагмента ДНК-полимеразы 1 (фрагмента Кленова), выделенной из *E. coli*. Затем шпилька вырезается посредством нуклеазы S_1 и выделяется искусственно созданная двухцепочечная ДНК, кодирующая заданный белок. Для включения в плазмиду фрагмент ДНК снабжают липкими концами. К 3'-концам обеих цепей при помощи терминальной трансферазы присоединяют последовательности полиА размером 50—70 остатков аденина. После этого кДНК готова к включению в компетентную клетку. Если эта рекомбинантная ДНК попадет в клетки самостоятельно, она будет немедленно разрушена эндогенными рестриктазами, поэтому для ее доставки в клетки используют *плазмиды, фаги или вирусы*. Данные структуры называются векторами, и именно они переносят в клетку соответствующую генетическую информацию. Эти процедуры имеют первостепенное значение для генной инженерии, поэтому рассмотрим их более подробно.

Плазмиды. Они представляют собой кольцевые ДНК, локализованные в бактериальных клетках. И хотя они занимают всего лишь несколько процентов генетического материала, их биологическая значимость достаточно велика. Они содержат информацию о резистентности к различным токсическим веществам, например к антибиотикам, а также участвуют в усвоении клеткой некоторых питательных веществ. В бактериальных клетках количество плазмид варьирует в пределах от единиц до сотни, причем их репликация автономна и не связана с репликацией хромосомы. Плазмиды являются гораздо более мобильным хранилищем генетического материала, чем хромосома, и при конъюгации клеток обмен генами происходит только за счет этих структур.

Нативная плазида может быть использована в качестве вектора только после соответствующей модификации. Сначала ее переводят в линейную форму при помощи *рестриктазы* с образованием тупых концов. Для объединения с кДНК к 3'-концам линейной плазмиды присоединяют концы, комплементарные концам кДНК, т. е. полиТ, или же создают специальные олигонуклеотиды — *линкеры* и *адаптеры*, способствующие образованию липких концов. Линкер присоединяют к ДНК, а затем при помощи соответствующей рестриктазы получают фрагмент ДНК с липкими концами. Для объединения фраг-

ментов с разными липкими концами применяют последовательность нуклеотидов, называемую адаптером. В качестве векторов используют также ряд фагов, причем наиболее удобным является фаг λ . Из вирусных частиц в качестве векторов чаще всего используют обезьяний вирус SV-40.

После получения вектора, соединенного с кДНК, можно приступить к трансформации компетентных, т. е. способных к трансформации, клеток. При взаимодействии векторов, нагруженных кДНК, с компетентными клетками в некоторые из них проникает чужеродная ДНК, что ведет к образованию *трансформированных клеток*. Эти клетки отбирают и клонируют с целью получения копий целевого гена. Идентификация клеток, несущих целевой ген, часто определяет успех проведения генно-инженерных разработок и проводится в два этапа.

- Отбор клеток, несущих вектор, сконструированный для данной генно-инженерной процедуры. Для облегчения отбора в вектор предварительно вводятся генетические маркеры, например гены устойчивости к антибиотикам. При высеве на среде с соответствующим антибиотиком данная бактериальная популяция будет нечувствительна к нему.

- Отбор клеток, несущих помимо вектора целевой ген. Для этой цели используют два варианта идентификации:

- непосредственный анализ ДНК-вектора в зоне искомого гена. Для этого (после получения одноцепочечного фрагмента) может быть использована полимеразная цепная реакция или гибридизация с мРНК, а также иные методы;

- отбор клеток, основанный на функциях внедренного в геном целевого гена. Например, по кодируемому данным геном белку.

Имеются два типа векторов: обычные и специализированные. *Обычные* векторы клонирования дают возможность из огромного количества генов выбрать искомый и создать «библиотеку» генов, а *специализированные* связаны с экспрессией генов. Обычные векторы применяют в основном для выделения и изучения генов, входящих в состав генома различных клеток. Что касается специализированных векторов, то они представляют особый интерес для биотехнологии, так как экспрессия соответствующих генов дает основание для сверх синтеза целевых продуктов. Для этого ген, кодирующий необходимый белок, вводится в хромосому компетентных клеток и ассоциируется с промотором.

31.3.2. Трансформация микробных клеток

На основе генно-инженерных методов можно конструировать микробные клетки, способные синтезировать структуры растительного и животного происхождения, имеющие важное значение для медицины и промышленности.

Инсулин играет основную роль в лечении диабета — болезни, по распространенности занимающей третье место после сердечно-сосудистых заболеваний и рака. Получение этого гормона генно-инженерным способом представлялось весьма перспективным и было выполнено в начале 80-х гг. XX столетия. В качестве компетентной клетки использовали *E. coli*, гены обеих цепей молекулы человеческого инсулина были получены методом химического синтеза. Эти гены присоединяли к 3'-концу гена, кодирующего белок β -галактозидазу, и вводили в векторную плазмиду. Трансформированные клетки *E. coli*

синтезировали химерные белки, состоящие из А- или В-цепи инсулина, присоединенной через метионин к β -галактозидазе. При помощи бромциана, специфически расщепляющего белки по остатку метионина, выделяли индивидуальную цепь инсулина. Далее цепи соединяли в единую активную молекулу инсулина. Образование дисульфидных цепей *in vitro* явилось лимитирующей стадией всего процесса, причем выход был незначительным. В связи с этим был разработан метод получения проинсулина человека с последующим созреванием его *in vitro*. Были синтезированы несколько десятков олигонуклеотидов, соединенных затем при помощи ДНК-лигазы. Полученные двухцепочечные фрагменты ДНК, соответствующие гену, кодирующему человеческий инсулин, были встроены в плазмиду, а затем перенесены в *E. coli* (рис. 31.5).

Полученные рекомбинантные клетки синтезировали проинсулин, который затем *in vitro* превращали в зрелый инсулин. В настоящее время генно-инженерный инсулин широко применяется в медицинской практике.

Соматотропин — гормон роста — играет существенную роль в постнатальном развитии организма, контролируя многие стороны углеводного, липидного и минерального обменов. Дефицит гормона приводит к карликовости, лечение которой проводится посредством соматотропинотерапии. В отличие от инсулина соматотропин обладает видовой специфичностью, и до недавнего времени его выделяли из гипофиза трупов. Выраженная гетерогенность этого гормона негативно сказывалась на его фармакологическом эффекте. Получение генно-инженерного соматотропина явилось решением проблемы обеспечения медицины этим препаратом.

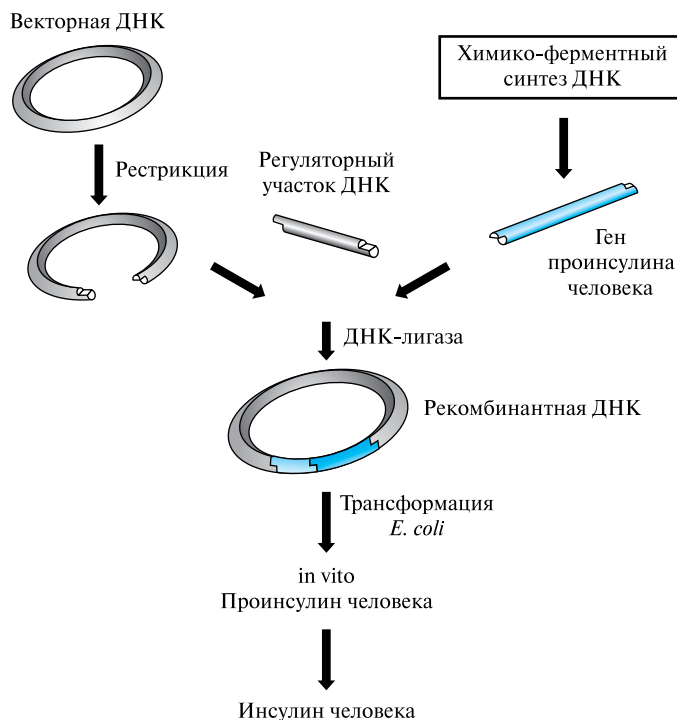


Рис. 31.5. Получение инсулина человека генно-инженерным методом (по В. А. Ефимову)

Процедура получения генно-инженерного гормона проводилась с учетом того, что просоматотропин не подвергается процессингу в бактериальной клетке. Был использован комбинированный метод получения гена соматотропина. Фрагмент ДНК, кодирующий первые 23 аминокислотных остатка с N-конца, был получен методом химико-ферментативного синтеза, а олигонуклеотид, кодирующий остальные аминокислотные остатки гормона, представлял собой кДНК, полученную посредством обратной транскриптазы на матрице мРНК. Затем оба фрагмента объединяли в одной плазмиде и переносили в *E. coli*. Образованный гормон обладал биологической активностью, сопоставимой с гипофизарным соматотропином.

Интерфероны — низкомолекулярные белки, обладающие выраженной противовирусной активностью. Кроме того, интерфероны проявляют фармакологический эффект при таких заболеваниях, как гепатит В, рассеянный склероз, некоторые локализации опухолей. Различают три класса интерферонов по месту их синтеза в клетках человека и животных: α -интерферон из лейкоцитов, β -интерферон из фибробластов и γ -интерферон из тимуса. α -Интерферон является простым белком, β - и γ -белки — гликозилированы. Интерферон является одним из самых эффективных средств лечения вирусных инфекций, но он видоспецифичен и может быть получен только из клеток человека. Технология выделения и очистки интерферонов малоэффективна прежде всего из-за крайне малого выхода конечного продукта. Поэтому получение *генно-инженерного* продукта является перспективной альтернативой традиционным методам выделения интерферона.

Впервые ген интерферона был введен в бактериальную клетку *E. coli* около 20 лет назад, и в последующие годы техника генно-инженерных процедур постоянно совершенствовалась. Лейкоцитарный интерферон был получен на основе трансформированных клеток *E. coli* следующим образом. Ген интерферона получали химико-ферментативным методом. Одной из трудностей, которую пришлось преодолеть, было то, что интерферон синтезируется в виде предшественника с дополнительной (сигнальной) последовательностью аминокислотных остатков. Бактериальные клетки не имеют протеиназ, превращающих предшественники в зрелые белки, поэтому надо было синтезировать ген, кодирующий только зрелый интерферон. Такой ген в конце концов был получен и введен в клетку *E. coli*. Рекомбинантный штамм синтезировал в больших количествах интерферон, обладающий выраженной биологической активностью. Значительным событием явилась удачная попытка введения гена интерферона в дрожжевые клетки. Ген, кодирующий интерферон, был получен с помощью мРНК и обратной транскриптазы. кДНК α -интерферона соединили с олигонуклеотидом, кодирующим алкогольдегидрогеназу дрожжей и встроили в плазмиду. Плазмиду, нагруженную чужеродными генами, ввели в дрожжевую клетку *Saccharomyces cerevisiae*. Замена промотора гена человеческого интерферона на ген дрожжевой алкогольдегидрогеназы обеспечила эффективную экспрессию гена интерферона. Замена бактериальной клетки в качестве реципиента на дрожжевую сыграла огромную роль для всей генно-инженерной техники вообще и для получения интерферонов в частности. Дело в том, что β - и γ -интерфероны представляют собой гликозилированные белки, а процесс гликозилирования невозможен в *E. coli*, но вполне осуществим в дрожжевой клетке.

Генно-инженерные вакцины. Вакцинация человека и животных основана на выработке антител в ответ на введение антигена — ослабленного или инактивированного вируса. Применение живых вакцин чревато заражением, а инаktivация вирусов может резко снизить их иммуногенность. Антигенные свойства вирусных частиц определяются в основном их белковыми компонентами, поэтому выделение индивидуального вирусного белка дает возможность получения вакцины, лишенной указанных выше недостатков.

Вирусные белки могут быть получены генно-инженерным методом, однако нужно учитывать следующие моменты. Как правило, вирусные белки состоят из нескольких полипептидных цепей, в ряде случаев химически модифицированных. Не только в бактериальной, но и в дрожжевой клетке нет структур, осуществляющих созревание таких белков. Следовательно, микробные клетки могут продуцировать только отдельные полипептидные цепи. Это резко снижает или сводит на нет их иммуногенность, которая определяется конформационными антигенными детерминантами, формирующимися в процессе образования третичной или четвертичной структуры белка. Ограниченное применение вирусных белков-антигенов относится к белкам HBS-вируса гепатита В человека и белка VP₁-вируса ящура. HBS-антиген, синтезируемый дрожжевыми клетками, давал иммунный ответ, хотя и меньший по сравнению с инактивированным вирусом, однако достаточно высокий. Образовавшийся белок не секретируется из клеток, а в процессе их разрушения и выделения антигена выход его значительно снижался, что ставило под сомнение всю технологическую схему.

Ген, кодирующий белок вируса ящура VP₁, был введен в *E. coli*. Система синтеза этого белка функционировала, однако его иммуногенность была на два порядка ниже по сравнению с инактивированным вирусом.

Проблема решается в двух направлениях.

- Для синтеза вирусных белков используют клетки высших эукариот, имеющих полноценный аппарат созревания сложных белков.
- Идентифицируют конформационные антигенные детерминанты вирусных белков с целью создания иммуногенных полипептидных фрагментов и затем синтетических вакцин. Как показали исследования ряда авторов, синтетические пептиды могут реагировать с антителами против целой вирусной частицы. Целенаправленный синтез таких пептидов, содержащих аминокислотные последовательности, характерные для фрагментов тех или иных вирусных белков, является перспективным направлением для создания эффективных синтетических вакцин.

31.3.3. Трансформация растительных клеток

Генетическая трансформация растительных клеток наблюдается в природных условиях. Образование растительных опухолей, например корончатых галлов, индуцируется бактериями *Agrobacterium tumefaciens* в результате внедрения в клетку T_i-плазмиды — кольцевой ДНК с молекулярной массой порядка 1000 kDa. В плазмиде T_i идентифицирован сайт тДНК, конкретно ответственный за трансформацию растительной клетки. тДНК внедряется в ее хромосому и изменяет многие стороны клеточного метаболизма. Раковые клетки приобретают способность к неконтролируемому росту даже на минимальной

питательной среде, лишенной фитогормонов, которые они, в отличие от интактных клеток, синтезируют в достаточном количестве. Другим примером генетической трансформации в природных условиях является заболевание растений, связанное с разрастанием корней. Причиной этого является внедрение в растительную клетку R_i -плазмиды из бактерий *Agrobacterium rhizogenes*. В этой плазмиде также имеется фрагмент ДНК, способный встраиваться в хромосому растительной клетки, подобно транспозону. Приведенные примеры инициировали многих ученых формировать сообщества всевозможных микробных и растительных клеток с целью получения новых полезных свойств у последних. Спонтанное воздействие на геном растительных клеток не увенчалось серьезными успехами (за исключением некоторых вариантов ассоциации растений с цианобактериями). Гораздо перспективнее представляется генно-инженерная трансформация клеток растений. Для этого необходимо получить жизнеспособный протопласт, из которого затем возможно было бы образование сначала трансформированной клетки, а затем и растения-регенеранта. Для решения этой задачи следует:

- выбрать растение, протопласты клеток которого способны к регенерации. В настоящее время таких растений не так много, однако их количество из года в год увеличивается;
- сконструировать вектор для внесения чужеродного генетического материала в растительную клетку. Эта задача облегчается наличием природных T_i - и R_i -плазмид, которые спонтанно внедряются в растительную клетку. Кроме того, можно использовать растительные вирусы, а также химерные структуры, состоящие из бактериальных плазмид, соединенных с ДНК митохондрий или хлоропластов растения;
- защитить вектор от разрушающего действия эндонуклеаз растительной клетки.

Введение вектора в растительную клетку возможно при помощи липосом, причем для введения в протопласт растения наиболее эффективны липосомы, состоящие из фосфотидилсерина и холестерина.

Наиболее простым способом отбора трансформированных клеток является введение в плазмиду вместо онкогенов тДНК генов устойчивости к антибиотикам. Однако попытки введения в вектор генов устойчивости к антибиотикам оказались безуспешными, так как они не экспрессировались в растительных клетках.

Проблема была решена, когда удалось найти промотор гена нопагин-синтазы и ввести его в T_i -плазмиду. Регуляторные системы гена — нопагин синтазы — способствовали экспрессии генов устойчивости к антибиотикам, и отбор трансформированных клеток оказался возможным на селективных средах, содержащих антибиотики.

Был рассмотрен метод трансформации растительных клеток при помощи микроорганизмов рода *Agrobacterium*. Существует еще ряд методов, например: свободное поглощение чужеродного генетического материала в процессе кокультивирования с растительными клетками, инъекция ДНК в растительные клетки и целые растения и др. В результате разработанных методов генетическая инженерия получила возможность надежной трансформации ряда растений, в том числе и сельскохозяйственных культур. Так, имеются хорошие

перспективы получения азотфиксирующих растений (гл. 24). Гены, устойчивые к гербицидам, выделенные из бактерий и дрожжей, переносятся в растительные клетки. Это открывает возможность использования гербицидов для уничтожения сорняков без ущерба для сельскохозяйственных культур. При помощи генной инженерии получены растения с заранее запрограммированными свойствами. Впервые трансгенные растения были получены в 1981 г. в ФРГ. Г. Шелл и соавторы в протопласт табака ввели T_4 -плазмиду с геном октопинсинтетазы. Из протопластов затем было получено растение-регенерант, синтезирующее несвойственную для него аминокислоту октопин. Далее в результате совершенствования техники генной инженерии был получен ряд трансгенных растений — сельскохозяйственных культур, таких, как соя, картофель, табак, ячмень и др.

31.3.4. Генетическая трансформация животных клеток

Внедрение вирусов в животные клетки является ярким примером генетической трансформации последних в природных условиях. Что касается искусственного введения чужеродных генов в клетки животных, то впервые это было выполнено в 1976 г. в США, когда Р. Ениш встроил в геном мыши чужеродные гены, передававшиеся по наследству. Схема проведения генно-инженерных процедур подобна таковым для микробных и растительных клеток, однако в связи со сложностью структур животных клеток имеются некоторые особенности. Для клонирования генов животных используют векторы на основе вирусной ДНК, чаще всего вируса SV-40. Часть генома этого вируса удаляется, а вместо него встраиваются гены, которые необходимо ввести в животную клетку. Отбор трансформированных клеток проводят с помощью точечного мутагенеза и селективных сред. Например, используют животные клетки с мутацией по **тимидинкиназе (ТК)**, **аденозинфосфорибозилтрансферазе (АФРТ)** и **гипоксантингуанинфосфорибозилтрансферазе (ГГФРТ)**. Если клетки с мута-

циями по данным ферментам поместить на среду, содержащую гипоксантин, аминоптерин и тимидин (ГАТ-среду), то они на ней расти не будут, в отличие от клеток, содержащих вектор с этими генами.

Трансформацию животных клеток можно проводить не только за счет введения в них векторов, несущих чужеродный генетический материал, но и в результате микроинъекций целевых генов непосредственно в ядро животной клетки. Этот метод получил широкое распространение в последние годы. При помощи микрокапиллярной пипетки под микроскопом в ядро клетки вводится 10^{-10} — 10^{-12} л раствора трансформирующей ДНК (несколько тысяч копий генов).

Трансгенные животные. Методы генетической трансформации животных клеток позволяют получить животных с видоизме-

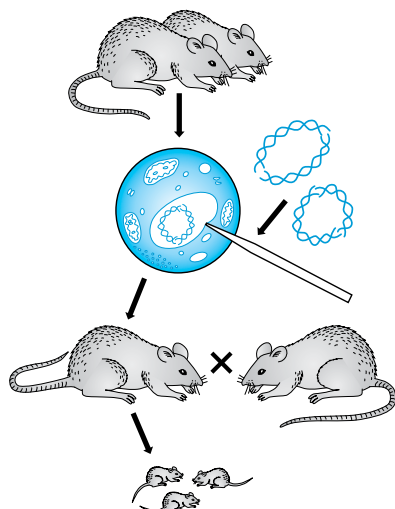


Рис. 31.6. Схема получения трансгенных мышей

ненным геномом. Введение клонированных генов в клетки животных — достаточно трудоемкая процедура. Основные ее этапы заключаются в следующем (рис. 31.6).

- Из яйцевода оплодотворенных самок извлекают яйцеклетки, находящиеся на стадии двух пронуклеусов.
- В мужской пронуклеус вводят 10^{-12} л раствора чужеродной ДНК (плазмиды или целевые гены с дополнительными последовательностями, необходимыми для экспрессии).
- Трансформированные яйцеклетки имплантируют в матку ложно беременной самки-реципиента, предварительно спаренной со стерильным самцом. Это необходимо для того, чтобы матка самки была гормонально подготовлена для приема оплодотворенного яйца.
- Анализ потомства для выявления трансгенных животных.

31.4. Генная инженерия. Успехи и проблемы

Вы познакомились с основными приемами и способами модификации генома микробных, растительных и животных клеток. Для биотехнологии большое значение представляет создание суперпродуцентов на основе микробных и растительных клеток, способных синтезировать любые белковые вещества, имеющие практическое значение. Генная инженерия дает возможность не только создания новых, отсутствующих в природе продуцентов целевых продуктов, но и существенного увеличения эффективности уже существующих производств. Например, способом повышения продуктивности того или иного продуцента является амплификация, т. е. увеличение числа копий генов, кодирующих целевой продукт. Можно еще раз подчеркнуть огромные возможности генной инженерии для создания вакцин на основе синтетических антигенов, трансгенных растений с заранее заданными свойствами, а также трансгенных животных. В дополнение следует отметить использование методов генной инженерии в диагностике некоторых заболеваний, например вирусных инфекций, а также для лечения ряда наследственных заболеваний. В связи с этим появился даже новый термин *генная терапия*. Для лечения наследственных болезней необходимо дефектный ген заменить на нормально функционирующий. В качестве векторов обычно используют РНК-ретровирусы, которые вводятся в стволовые клетки костного мозга.

Что касается проблем, то их условно можно разделить на три группы.

Методические. Большие трудности для биотехнологов связаны не только с созданием рекомбинантного штамма, но и с секрецией целевого продукта из клетки. Отсутствие этого механизма приводит к накоплению целевого продукта внутри клетки и подавлению биосинтеза по принципу обратной связи. Многие привлекательные для промышленности и медицины продукты кодируются несколькими генами. В задачи генной инженерии входит разработка методов последовательной трансплантации генов в клетки-реципиенты. Ожидает своего разрешения проблема получения любого заданного растения-регенеранта из клона протопластов. Из года в год совершенствуется работа с животными клетками, медленно растущими и легко уязвимыми.

Экономические. Генно-инженерные методы являются весьма дорогостоящими процедурами. Даже в США и в развитых странах Европы созда-

ние и внедрение в производство рекомбинантных штаммов или лечение наследственных заболеваний при помощи генной терапии доступны далеко не каждой фирме или медицинскому центру.

Этические. Успехи и возможности генной инженерии далеко не однозначно воспринимаются человеческим сообществом, причем приоритеты неприятия время от времени изменяются. Вначале общественное мнение было встревожено генетической модификацией кишечной палочки *E. coli*. Предполагалось, что эти генетические трансформанты выйдут из-под контроля и станут причиной многих страшных заболеваний. К началу 90-х гг. XX в., когда оказалось, что эти страхи безосновательны, внимание переключилось на трансгенные растения. К этому времени большие успехи в получении трансгенных сои, картофеля, кукурузы и других сельскохозяйственных культур были достигнуты в США. Преимущества устойчивых к сорнякам, насекомым и другим условиям окружающей среды растений были очевидны, однако потребление генно-инженерных растительных продуктов в США и особенно в странах Западной Европы было ограничено из-за боязни отдаленных последствий воздействия генетически измененных продуктов питания. То же самое касается трансгенных животных с повышенным содержанием гормона роста — соматотропина. Можно полагать, что в основном эти опасения безосновательны, хотя бурно развивающиеся генно-инженерные исследования должны находиться под контролем сообщества ученых, общественности и правительственных организаций.

Глава 32

БИОТРАНСФОРМАЦИЯ КСЕНОБИОТИКОВ ЖИВЫМИ СИСТЕМАМИ

32.1. Общая характеристика

Чужеродные химические вещества (ксенобиотики) могут активно вмешиваться в течение нормальных процессов организма, извращать их и индуцировать развитие патологических процессов, протекающих по различным механизмам, обусловленным структурой и концентрацией того или иного токсиканта. Различные чужеродные вещества попадают в организм через ЖКТ или с вдыхаемым воздухом и могут в зависимости от их физико-химических свойств на определенный срок аккумулироваться в различных органах. Лекарственные препараты, обладающие фармакологическим действием, способствуют нормализации физиологических функций организма. Вместе с тем они являются чужеродными для организма веществами, в ряде случаев с выраженным токсическим эффектом. Попадая в организм, ксенобиотики взаимодействуют с ферментными системами дезинтоксикации и подвергаются тем или иным метаболическим превращениям, или *биотрансформации*. Некоторые токсиканты обладают повышенной резистентностью к биотрансформации и долго не выводятся из организма; классическим примером могут служить веронал и его производные. В результате биотрансформации образуется большое количество

во разнообразных метаболитов, обладающих одним общим свойством: они более полярны по сравнению с исходными веществами, что облегчает их выведение из организма. Разделяют две фазы биотрансформации. В результате реакций *первой фазы* (окисление, восстановление или гидролиз) в молекулу ксенобиотика вводятся полярные группы, а *вторая фаза* (конъюгация) связана с ассоциацией чужеродного вещества с эндогенными гидрофильными молекулами.

32.2. Всасывание и выведение ксенобиотиков

Всасывание. Токсические вещества чаще всего попадают в желудок, и их всасывание осуществляется как в самом желудке, так и в кишечнике. Многие чужеродные соединения легко всасываются из желудка путем простой диффузии неионизированных молекул через слизистую. Основное всасывание происходит в тонком отделе кишечника, где pH равно 7,3—7,5. В этих условиях большинство ксенобиотиков органической природы преимущественно находятся в виде целых жирорастворимых молекул, что облегчает их перемещение через биологические мембраны. Высокоионизированные кислоты и основания также всасываются в кишечнике, но только гораздо медленнее, возможно, через водные поры на поверхности слизистой. Существенное значение для всасывания ионизированных веществ имеет пиноцитоз в ворсинках. Для возникновения фармакологического или токсического эффекта большое значение имеет скорость всасывания и время возникновения максимальной концентрации токсиканта в крови. Максимальная концентрация ксенобиотиков в крови обычно достигается через 2—3 ч после их перорального введения.

Всасывание летучих и парообразных веществ происходит в дыхательных путях, причем чем меньше частица, тем глубже в дыхательные пути она проникает. Попавшие в альвеолы легких токсиканты очень быстро затем проникают в кровь. Это относится как к липидорастворимым, так и к водорастворимым веществам. Всасывание осуществляется методом простой диффузии по градиенту концентрации. Так попадают в кровь многие токсиканты, в том числе такие вещества, как галогенизированные углеводороды.

Всасывание через кожу осуществляется через эпидермис, волосные фолликулы, выводные протоки сальных желез. Через эпидермис легко диффундируют жирорастворимые вещества, в частности фосфоорганические соединения. Таким образом, можно заключить, что количество токсикантов и скорость их передвижения от места введения до кровяного русла зависят от пути введения в организм. Что касается лекарственных веществ, то в дополнение к вышеописанным механизмам они могут поступать в организм парантеральным или ректальным методом.

Попавшее в кровяное русло вещество находится или в свободном состоянии, или связывается с белками плазмы крови. Процент связанного ксенобиотика колеблется от 1 до 99% в зависимости от его физико-химических свойств и содержания в крови основного белка-переносчика альбумина. Связанная с белками фракция является своеобразным накопителем, от которого вещество постепенно отделяется и поступает в различные ткани и клетки организма. Связь с белками плазмы, как правило, непрочная, и некоторые эндо-

генные вещества, например жирные кислоты, могут вытеснять токсиканты, облегчая тем самым их поступление в ткани. Концентрация же свободных жирных кислот возрастает в крови при стрессе, гипоксии или ацидозе, поэтому эти патологические состояния усугубляют токсический эффект. Из плазмы крови жирорастворимые неионизированные молекулы быстрее, а ионизированные медленнее поступают в ткани. Более быстро ксенобиотики поступают в ткани с интенсивным кровоснабжением, такие, как мозг, печень, почки, сердце, легкие.

Данные органы являются объектом первоочередного воздействия токсических веществ. Другие же ткани имеют значительно меньшее кровоснабжение и в них ксенобиотики поступают медленнее. Однако мышцы или жировые ткани составляют большой процент от массы тела, поэтому экзогенные вещества постепенно в них накапливаются, т. е. создается депо, поддерживающее концентрацию вещества в крови на определенном уровне сравнительно длительный период времени. Следует отметить, что в тканях чужеродное вещество может распределяться равномерно в соответствии с его растворимостью в липидах, связыванием с белками, кровоснабжением органов и тканей и т. д. Многие ксенобиотики присоединяются к специфическим рецепторам, существующим в организме для взаимодействия с эндогенными веществами (гормоны, нейромедиаторы и др.).

Даже небольшие концентрации токсических веществ могут или блокировать, или разрушать структуру рецепторов, что пагубно сказывается на регуляции клеточного метаболизма.

Выведение. Живой организм обычно способен выводить ксенобиотики двумя путями: прямой экскрецией или посредством метаболической трансформации нативной субстанции. Выведение чужеродных веществ и их метаболитов из организма происходит в основном с желчью или с мочой.

Попадая в почки, продукты биотрансформации выводятся в мочеточник посредством *клубочковой фильтрации* или же при помощи *канальцевого* транспорта. Скорость выделения ксенобиотиков с мочой зависит от связывания их с белками крови. Многие чужеродные вещества после биотрансформации в печени *транспортируются в желчь* и с калом выводятся из организма. Выделение ксенобиотиков и их метаболитов из организма возможно с выдыхаемым воздухом, а также с потом, слюной, молоком.

32.3. Реакции биотрансформации ксенобиотиков

32.3.1. Метаболические реакции первой фазы биотрансформации

Лекарственные и токсические вещества подвергаются биотрансформации в ряде органов, основным из которых является печень.

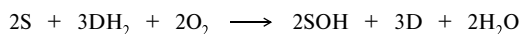
Практически все метаболические реакции катализируются соответствующими ферментными системами, большая часть из которых локализована в эндоплазматическом ретикулуме. Следует помнить, что ферменты, изменяющие структуру ксенобиотиков, сами подвержены действию чужеродных соединений.

Первая фаза биотрансформации ксенобиотиков характеризуется реакциями окисления, восстановления и гидролиза. К наиболее распространенным

реакциям относят реакции окисления. При разрушении клеток мембраны эндоплазматического ретикулума с иммобилизованными на них ферментами биотрансформации спонтанно образуют шарообразные структуры — микросомы. Окислительная трансформация ксенобиотиков носит название *микросомальное окисление* (рис. 32.1).

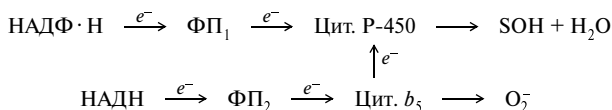
Рассмотрим наиболее часто встречающийся вариант микросомального окисления — гидроксилирование ксенобиотиков. В общем виде гидроксилирование происходит по типу монооксигеназных реакций. Окислительная система многофункциональна, причем основными функциями являются:

- восстановление до воды одного атома кислорода;
- внедрение второго атома кислорода в молекулу субстрата, что показано на следующем общем уравнении:



где S — окисляемый субстрат; DH_2 — донор электронов для активации кислорода.

Микросомальные ферментные системы. Реакции микросомального окисления катализируются НАДФН- и НАДН-зависимыми ферментными системами в присутствии кислорода. НАДФН-зависимый флавопротеин переносит электрон от восстановленного НАДФН на терминальный фермент — **цитохром Р-450**, восстанавливая железо гема последнего. Кроме того, в монооксигеназных реакциях принимает участие НАДН-зависимый ферментный комплекс, состоящий из **НАДН-зависимого флавопротеина** и **цитохрома b_5** . В этом случае электрон переносится на кислород и активирует его:



В ряде случаев электрон с цитохрома b_5 поступает на цитохром Р-450 и участвует в восстановлении железа гема. НАДФН-зависимый флавопротеин представляет собой димер с молекулярной массой 40,5 kDa, причем каждая субъединица содержит 1 молекулу ФАД. Цитохром b_5 является мономером с молекулярной массой 13 kDa.

Ключевым ферментом системы микросомального окисления является цитохром Р-450. Этот гемопrotein также является мономером, содержащим одну геминную группировку и имеющим молекулярную массу 45 kDa.

Именно цитохром Р-450, присоединяясь к соответствующему субстрату, запускает реакции его биотрансформации.

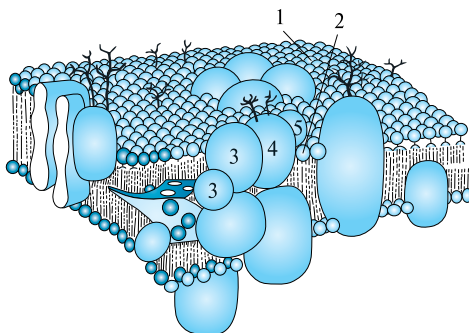


Рис. 32.1. Локализация ферментов микросомальной системы в мембранах эндоплазматического ретикулума:
1 — кофакторы; 2 — ксенобиотики;
3 — НАДФ·Н- и НАДН-зависимые флавопротеины; 4 — цитохром Р-450;
5 — цитохром b_5

Возникает вопрос: насколько универсальна данная окислительная система в связи с большим количеством катализируемых ею реакций? Было доказано существование набора изоэнзимов цитохрома Р-450, причем каждый из них имеет свои собственные типы субстратов, по отношению к которым он имеет повышенную специфичность. Молекулярные формы цитохрома Р-450 являются истинными изоэнзимами, т. е. они кодируются различными генами или различными аллелями одного гена, отличаются некоторыми физико-химическими свойствами, но имеют одну и ту же геминную группировку. Установлено, что все исследованные организмы от бактерий до человека имеют набор *изоэнзимов* цитохрома Р-450. Субстраты могут связываться с цитохромом Р-450 по крайней мере двумя различными способами. Одна группа субстратов связывается с белковой частью цитохрома Р-450, в то время как другая группа субстратов взаимодействует с железом геминной группировки энзима.

Тип связывания фермента с субстратом может быть установлен при помощи спектральных методов, поскольку связывание субстратов с цитохромом Р-450 изменяет его спектральные характеристики. Измерение спектра фермента в присутствии субстрата с использованием раствора фермента без субстрата в качестве контроля дает так называемый *спектр различия*. Субстраты, которые связываются с белковой частью цитохрома Р-450, имеют спектр различия при 390 нм. Такие субстраты называются субстратами первого типа.

Другая группа субстратов связывается с геминной группировкой фермента. Эти субстраты имеют спектры различия с максимумом около 420 нм, они называются субстратами второго типа.

Спектральные изменения связаны со спиновым состоянием атома железа в составе геминной группировки цитохрома Р-450.

Атом железа имеет координационное число 6. Четыре связи локализованы в протопорфириновом кольце, пятая взаимодействует с цистеиновым остатком полипептидной цепи, а шестая связана с гидроксильной группой молекулы воды (рис. 32.2).

Связывание субстрата с цитохромом Р-450 вызывает изменения в электронной конфигурации атома железа. В свободном энзиме большинство атомов железа находится в низкоспиновом состоянии. Связывание субстратов

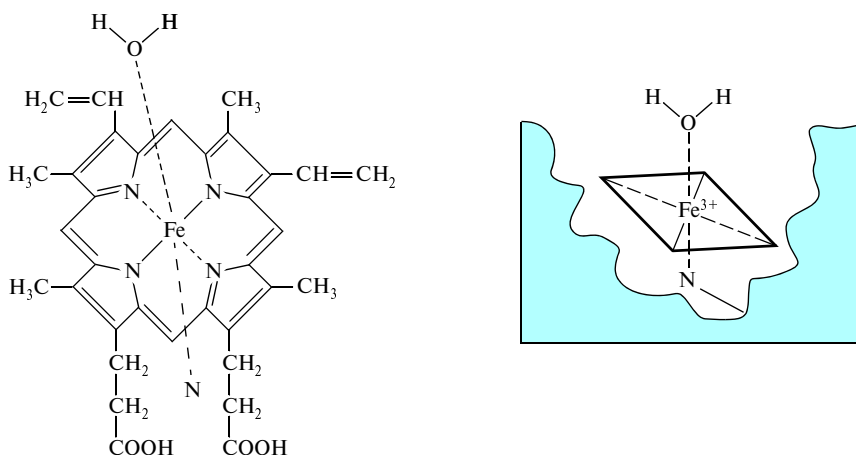


Рис. 32.2. Строение гема и его связь с белком в цитохроме Р-450

первого типа с белковой частью цитохрома Р-450 вызывает переход железа из низкоспинового в высокоспиновое состояние, и это сопровождается спектральными изменениями в области 390 нм.

Связывание субстратов второго типа происходит с шестой координационной связью железа гема, что индуцирует переход из высокоспинового в низкоспиновое состояние.

Кроме субстратов первого и второго типов, существуют еще так называемые обратные субстраты, которые при низких концентрациях подобны субстратам первого типа, а при высоких — второго типа. Ряд веществ образует необратимые комплексы с железом геминной группировки цитохрома Р-450, что приводит к инаktivации последнего.

Механизмы монооксигеназных реакций. В реакциях монооксидазной системы цитохром Р-450 является структурой, связывающей как субстрат, так и кислород.

Функционирование монооксидазных систем происходит в несколько этапов:

- субстрат связывается с окисленной формой железа цитохрома Р-450;
- электрон, поставляемый НАДФН-зависимым флавопротеином, переносится на энзим-субстратный комплекс, железо цитохрома Р-450 при этом восстанавливается;
- молекулярный кислород внедряется в восстановленный энзим-субстратный комплекс, образуя трехкомпонентную систему;
- к образованному тройному комплексу присоединяется второй электрон, доставленный НАДФН-зависимым цитохромом b_5 , активируя атом кислорода в составе тройного комплекса;
- происходит распад тройного комплекса с образованием молекулы воды, окисленного субстрата и свободного цитохрома Р-450 с окисленным железом, причем последний готов принять участие в новых циклах окисления.

Данный механизм имеет циклический характер, в результате чего цитохром Р-450 многократно может участвовать в реакциях гидроксирования (рис. 32.3).

НАДФН-зависимые реакции окисления ксенобиотиков. Микросомальные ферментные системы катализируют следующие реакции окисления (гидроксирования) ксенобиотиков.

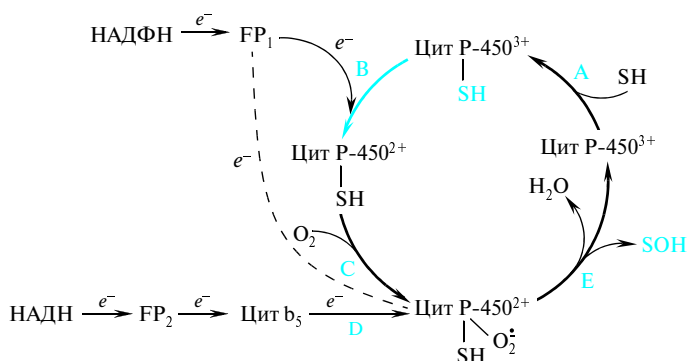
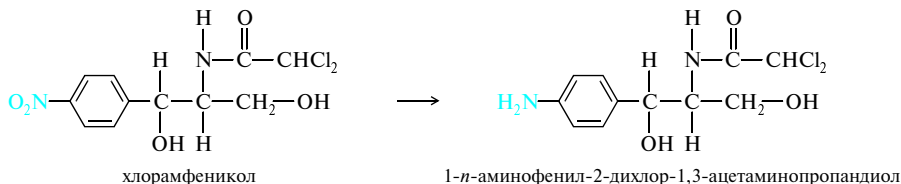


Рис. 32.3. Механизм гидроксирования ксенобиотиков микросомальными монооксигеназами: SH — восстановленный субстрат

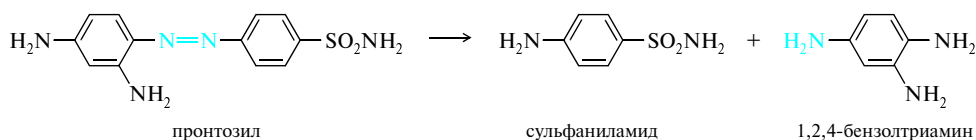
• окислительное дегалогенизирование, связанное с замещением хлора на кислород, например при превращении ДДТ в ДДА.

НАДФН-зависимые реакции восстановления ксенобиотиков. Реакции восстановления в эндоплазматическом ретикулуле протекают при участии НАДФН-зависимого флавопротеина и **цитохрома Р-450**. Наиболее часто встречается восстановление нитро- и азосоединений:

нитровосстановление

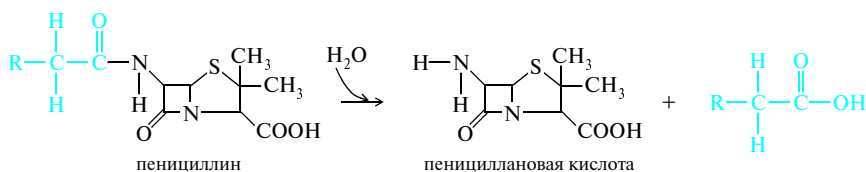


азовосстановление



НАДН-зависимые реакции. Данный тип реакций вносит значительно меньший вклад в биотрансформацию ксенобиотиков. В микросомах локализованы по крайней мере две энзиматические системы, способные восстанавливать ксенобиотики. Обе системы — флавопротеины с ФАД в качестве простетической группы. Классическим примером микросомального восстановления является превращение нитробензола в анилин.

Гидролиз. Наиболее распространенными реакциями гидролиза ксенобиотиков являются эстеразные реакции. Они играют очень важную роль в развитии токсического эффекта при гидролизе фосфорорганических веществ. Можно также отметить гидролиз под действием неспецифических эстераз сложных эфиров, амидов, гидроксамовых кислот, гидразидов и др. Например:



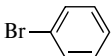
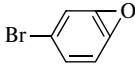
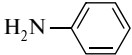
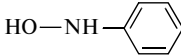
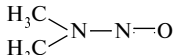
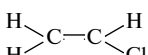
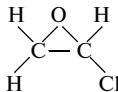
Реакции биоактивации ксенобиотиков. Биотрансформация часто приводит к изменениям в молекуле ксенобиотика, которые увеличивают ее полярность, растворимость и способствуют более быстрому выведению из организма. Так как токсичность в немалой мере обусловлена накоплением вещества в клетках, можно полагать, что выведение исходного ксенобиотика или его метаболитов из организма приводит к уменьшению или полному исчезновению токсического эффекта. Однако существует много исключений, например, в ряде реакций образуются продукты с большей токсичностью по сравнению с исходным веществом, особенно в реакциях *первой фазы системы биотрансформации*.

Это не удивительно, так как внедрение в молекулу полярной группы может значительно увеличить ее реакционную способность по отношению к другим соединениям.

Реакции биотрансформации, в которых образуются продукты, имеющие большую токсичность по сравнению с исходным ксенобиотиком, называются реакциями *биоактивации*. Существует много примеров подобных реакций, причем наиболее известна реакция превращения инсектицида паратиона в параоксон. **Паратион** принадлежит к органотиофосфатам, нейротоксичность которых основана на их взаимодействии с ферментом ацетилхолинэстеразой. Сродство этого энзима к параоксону во много раз выше, чем к исходному соединению — паратиону. Иными словами, реакция окисления, необходимая для превращения вещества в более растворимое соединение, приводит к образованию продукта биоактивации.

В результате биоактивации могут образовываться токсические интермедиаты, индуцирующие патологические процессы в организме (табл. 32.1).

Таблица 32.1. Токсическое действие метаксенобиотиков на организм

| Вещество | Формула | Метаболит | Эффект |
|-------------------|--|--|-------------------|
| Бромбензен |  |  | Некроз печени |
| Анилин |  |  | Метгемоглобинемия |
| Диметилнитрозамин |  | $\text{H} \cdot \text{C}^+$ | Канцерогенез |
| Винилхлорид |  |  | Рак печени |

32.3.2. Влияние ксенобиотиков на активность микросомальных ферментов

Многие чужеродные вещества, попадая в организм, влияют на синтез или активность микросомальных монооксигеназ. Большинство из них являются индуцибельными ферментами, которые регулируются эндогенными метаболитами. Вместе с тем имеется большое число ксенобиотиков, вызывающих индукцию их синтеза. Эффект особенно важен при действии фармакологически активных веществ на такие ферменты, как цитохром Р-450. Некоторые из этих препаратов представлены в табл. 32.2.

Все индукторы монооксигеназ разделяют на две группы: *индукторы широкого спектра* действия и *индукторы узкого спектра* действия.

К первой группе относятся производные барбитуровой кислоты, обладающие способностью усиливать биотрансформацию многих ксенобиотиков за счет индукции синтеза цитохрома Р-450. Одним из представителей второй группы индукторов являются метилхолантрен и другие ароматические углеводороды. Они индуцируют синтез одной молекулярной формы цитохрома, а

Т а б л и ц а 32.2. Индукторы микросомальных монооксигеназ

| Лекарственный препарат | Фармакологический эффект |
|-------------------------|--------------------------------|
| Барбитураты, ноксирон | Седативный, снотворный |
| Фторотан, метоксифлуран | Средства для наркоза |
| Кордиамин, фенамин | Стимуляторы ЦНС |
| Мепробамат, сибазон | Транквилизаторы, нейролептики |
| Бутамид, букарбон | Гипогликемические средства |
| Бутадион | Противовоспалительное средство |
| Мебедрол | Мышечный релаксант |

именно цитохрома Р-448, отсутствующего у интактных животных. Эта форма фермента имеет узкую субстратную специфичность и катализирует процессы биотрансформации фенантронов, бензантрацена и некоторых пиренов.

❗ Таким образом, лекарственные вещества не только метаболизируются монооксигеназными системами, но и изменяют активность или синтез ферментов биотрансформации.

Этот феномен объясняет привыкание к лекарственным препаратам, имеющее место, если метаболиты последних фармакологически неактивны. Например, фенobarбитал индуцирует синтез цитохрома Р-450, причем образующиеся гидроксibarбитураты фармакологически неактивны. Для достижения фармакологического эффекта необходимо увеличивать дозу препарата. Иная ситуация складывается в том случае, если именно метаболиты лекарственного препарата оказываются фармакологически активными. Тот же фенobarбитал, усиливая синтез цитохрома Р-450, способствует увеличению фармакологического эффекта этих метаболитов.

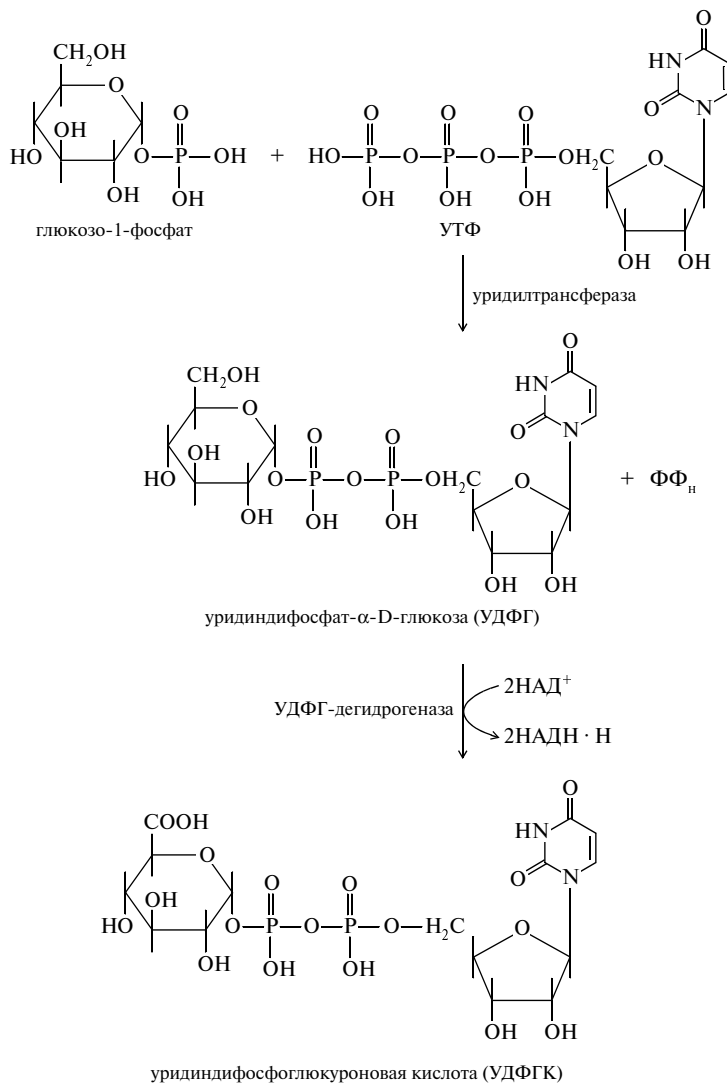
32.3.3. Метаболические реакции второй фазы биотрансформации

В реакциях второй фазы ксенобиотики ассоциируются с гидрофильными эндогенными соединениями. В результате общая гидрофильность увеличивается настолько, насколько необходимо для быстрого выведения вещества из организма. В качестве эндогенных гидрофильных веществ чаще всего выступают глюкуроновая кислота, метильные, ацетильные или сульфогруппы, глутатион и глицин. Ферменты, принимающие участие в этих реакциях, найдены практически во всех организмах: в бактериях, дрожжах, растениях и во всех видах животного царства.

Значительное количество реакций второй фазы биотрансформации представляют собой реакции *биоинактивации*. Однако существует ряд исключений, в которых наблюдается противоположный эффект.

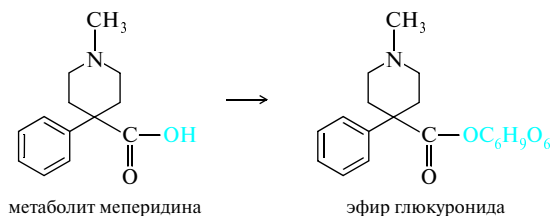
Среди реакций конъюгации наиболее важными в количественном отношении являются реакции образования *глюкуронидов*. Следует отметить, что конъюгация субстрата с глюкуроновой кислотой может иметь место только после активации последней. Образование глюкуронидов является двухстадийным процессом, который включает, во-первых, биосинтез коферментного до-

нора, УДФГК и, во-вторых, перенос посредством УДФ-трансглюкуронидаз глюкуронидной части УДФГК на агликон:

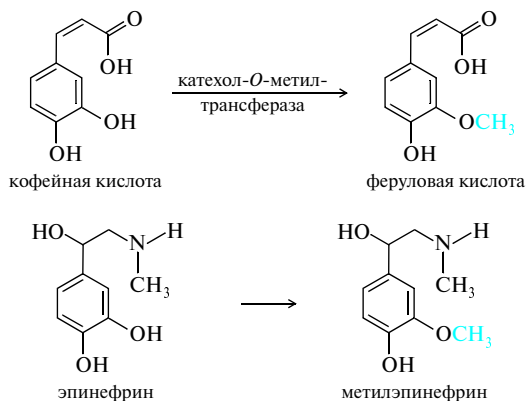


Глюкуронидные конъюгаты ксенобиотиков обладают β -пиранозидной структурой и классифицируются следующим образом.

O-Глюкурониды образуются из фенолов, спиртов и карбоновых кислот. Например:

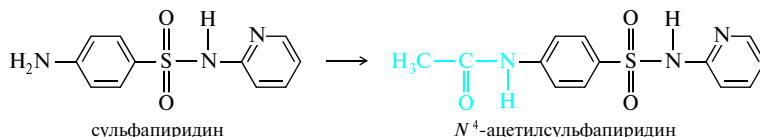


30й. Для реакции требуется *S*-аденозилметионин в качестве метилового донора, а также Mg^{2+} или другие двухвалентные ионы.

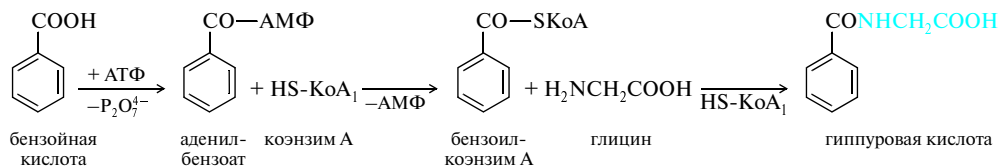


При *S*-метилировании метильные группы переносятся к тиоловым группам чужеродных соединений, таких, как метил- и этилмеркаптаны, меркаптоэтанол и др.

Ацетилирование — это основной путь метаболизма ароматических аминов, сульфамидов и некоторых чужеродных ароматических аминокислот. Ацетилирование обычно считают функцией печени, однако у кроликов ацетилирование сульфаниламида и *пара*-аминобензойной кислоты происходит в ретикуло-эндотелиальных клетках селезенки, а не в печени.



Конъюгация с глицином и другими аминокислотами является характерной метаболической реакцией ароматических карбоновых кислот, таких, как бензойная и гетероциклические карбоновые кислоты. Механизм пептидной конъюгации заключается в образовании коэнзим-А-производных чужеродных карбоновых кислот, которые взаимодействуют с глицином. В результате образуется гиппуровая кислота и выделяется свободный коэнзим А:



Реакции второй фазы биотрансформации локализованы в различных компартаментах клеток. Данные представлены в табл. 32.3.

Суммируя основные положения метаболизма ксенобиотиков в организме, можно отметить следующие основные моменты.

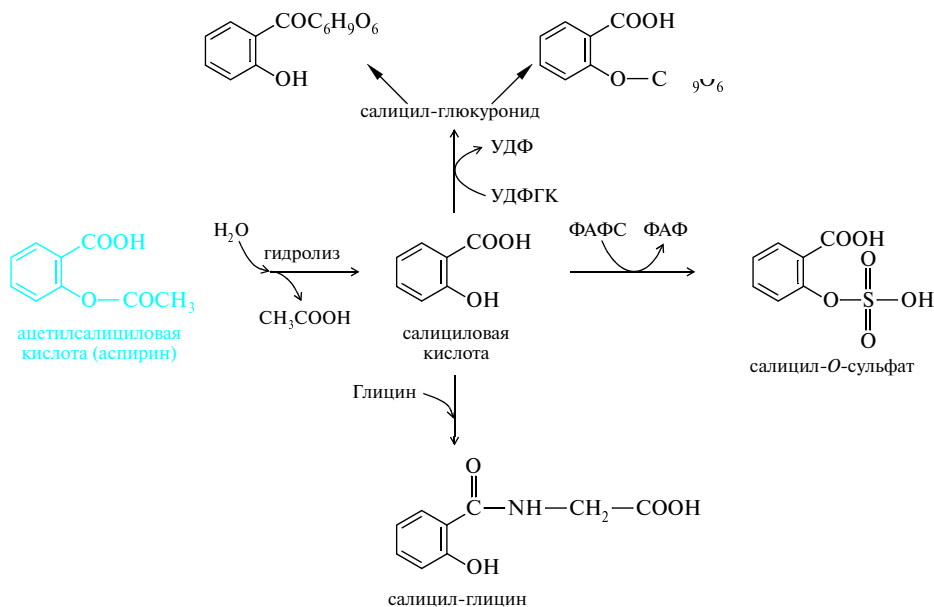
- Реакции биотрансформации представляют собой ферментативные превращения липофильных, чужеродных и некоторых эндогенных веществ в организме.

Т а б л и ц а 32.3. Наиболее важные реакции второй фазы биотрансформации в зависимости от локализации и действия на субстраты

| Тип реакции | Локализация | Эндогенный субстрат |
|--------------------------|------------------------------|------------------------------------|
| Образование глюкуронидов | Эндоплазматический ретикулум | Гормоны щитовидной и половых желез |
| Сульфирование | Цитозол | Стероиды, карбогидраты |
| Ацетилирование | Цитозол | Карбогидраты, серотонин |
| Метилирование | Цитозол | Биогенные амины |

• В результате этих реакций неполярные, липофильные вещества превращаются в полярные, хорошо растворимые в воде:

• Для метаболизма некоторых ксенобиотиков достаточно реакций только *первой* или *второй* фазы биотрансформации. Однако большинство чужеродных веществ претерпевает и метаболические превращения (первая фаза) и конъюгацию (вторая фаза). Например, метилтиопурин сперва подвергается *S*-деалкилированию, а затем конъюгации с глюкуроновой кислотой. Показателен в данном случае метаболизм аспирина, также связанный с обеими фазами биотрансформации.



32.4. Факторы, влияющие на биотрансформацию ксенобиотиков

Видовые различия. Различия процессов биотрансформации между видами могут быть количественными (идентичные реакции протекают с неодинаковой скоростью) и качественными (различные метаболические реакции).

Различия качественных реакций у тех или иных видов иллюстрируются следующими примерами: у собак не происходит ацетилирования ароматиче-

ских аминов, у кошек нет *N*-ацетилтрансферазы, у морских свинок не образуются меркаптоконъюгаты.

Генетические различия. Кроме видовых различий, обнаружены различия между линиями внутри одного вида как у лабораторных животных, так и у человека. Например, гидроксирование дебризоквина осуществляется по четвертому положению. Однако существует два фенотипа в популяции, в которых гидроксирование происходит по-разному. Большая группа представителей популяции — экстенсивные метаболизеры эффективно гидроксилируют по четвертому положению. Меньшая группа (слабые метаболизеры), напротив, почти не метаболизируют по этому типу.

Для реакций второй фазы также существует двоякое распределение активности в популяции. Хорошо известен пример генного полиморфизма при ацетилировании ксенобиотиков. Причина этого явления в различной активности *N*-ацетилтрансферазы — фермента, катализирующего реакции конъюгации ариламинов с ацетил-КоА.

У некоторых людей ацетилирование протекает медленно, их называют «медленными ацетиляторами», а у других — «быстрых ацетиляторов» — в несколько раз быстрее. Было обнаружено, что полиморфизм ацетилирования наблюдается для ксенобиотиков, молекула которых трансформируется путем присоединения по атому азота ацетильной группы:



Данный феномен определяется генетическими факторами. Активность *N*-ацетилтрансферазы контролируется двумя аллелями одного локуса, причем наследование медленного ацетилирования осуществляется по аутосомально-рецессивному механизму.

Влияние физиологических факторов. Постнатальное развитие характеризуется резким увеличением активности ферментов, в том числе и отвечающих за метаболизм чужеродных соединений. Это является фактором адаптации новорожденных к новым условиям существования. У новорожденных мышей, крыс, морских свинок и кроликов отсутствуют микросомальные ферменты, в том числе и цитохром Р-450. Их появление наблюдается в течение первых дней после рождения, и содержание достигает максимума примерно через 30 дней у крыс, через 8 недель — у человека. Таким образом, эмбрионы и новорожденные особенно чувствительны к токсическому действию ксенобиотиков и лекарственных препаратов. Способность новорожденных синтезировать конъюгаты также заметно уменьшена, например глюкурониды у них синтезируются достаточно медленно вследствие дефицита фермента глюкуронилтрансферазы. Микросомальные ферментативные системы плода и новорожденных можно стимулировать введением химических активаторов. Например, введение новорожденным крысам 3,4-бензопирена усиливает биосинтез глюкуронидов в печени.

Половые различия. У взрослых самцов крыс многие чужеродные соединения метаболизируются быстрее, чем у взрослых самок. Это обусловлено действием половых гормонов на синтез ферментов микросомального окисления, так как эффект проявляется только при достижении половой зрелости и исчезает при кастрации животных. Интексициды (альдрин, изодрин и гептахлор)

также быстрее метаболизируются в эпоксиды у самцов крыс, а так как эти эпоксиды более токсичны, чем исходные инсектициды, самки менее подвержены токсическому воздействию этих соединений. Цитохром Р-450 состоит из набора изоэнзимов. Некоторые из них изолированы, и оказалось, что их содержание также зависит от пола.

Гормоны. Введение крысам тироксина вызывает уменьшение активности энзимов монооксигеназной системы. Напротив, стероидные гормоны стимулируют активность микросомальных энзимов, в первую очередь благодаря индукции их синтеза.

Беременность. В конце беременности заметно уменьшается глюкуронидная конъюгация ксенобиотиков, по-видимому, из-за наличия в тканях прогестерона — ингибитора глюкуронилтрансферазной активности в печени и других тканях.

Питание и диета. Активность энзимов метаболизма чужеродных соединений отчетливо зависит от питания животного. У мышей голодание приводит к уменьшению скорости гидроксилирования одних ксенобиотиков и увеличению других. У крыс, содержащихся на диете с дефицитом белка, наблюдается уменьшение активности энзимов монооксигеназных систем.

Факторы окружающей среды. Многие факторы окружающей среды воздействуют на процессы биотрансформации ксенобиотиков в основном посредством индукции или ингибирования энзимов монооксигеназной системы. Ряд непитательных пищевых веществ и токсикантов окружающей среды, действующих на процессы биотрансформации, представлен в табл. 32.4.

Таблица 32.4. Внешние факторы, влияющие на биотрансформацию ксенобиотиков

| Фактор | Ксенобиотики |
|------------------|--|
| Окружающая среда | Инсектициды, пестициды, тяжелые металлы, промышленные токсиканты |
| Диета | Индолы, компоненты табака, алкоголя, остаточные элементы пищи: микроэлементы, липиды, витамины, углеводы |

Ингибирование цитохрома Р-450 ксенобиотиками осуществляется различными путями. Химическое вещество может связываться с апоферментом, вернее, с некоторыми гидрофобными сайтами, локализованными в белковой части фермента. Ингибирование фермента в данном случае конкурентно, так как ингибитор может вытесняться из энзима при помощи того или иного субстрата. Ксенобиотики, взаимодействующие с железом геминной группы цитохрома Р-450, ингибируют фермент, блокируя его способность активировать молекулярный кислород. Это ингибирование неконкурентно по своей природе. Соединения, разрушающие мембрану эндоплазматического ретикулума, в которую встроены энзимы биотрансформации, в частности цитохром Р-450, также являются ингибиторами этих энзимов.

ТЕСТЫ ДЛЯ ПРОВЕРКИ БИОХИМИЧЕСКИХ ЗНАНИЙ

Глава 2

1. Нейтральной аминокислотой является:

- | | |
|------------|--------------------------|
| 1) аргинин | 4) аспарагиновая кислота |
| 2) лизин | 5) гистидин |
| 3) валин | |

2. Биполярный ион моноаминомонокарбоновой аминокислоты заряжен:

- 1) отрицательно
- 2) электронейтрален
- 3) положительно

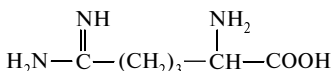
3. В изоэлектрической точке белок:

- | | |
|---|---------------------|
| 1) имеет наименьшую растворимость | 4) является анионом |
| 2) обладает наибольшей степенью ионизации | 5) денатурирован |
| 3) является катионом | |

4. Изоэлектрическую точку при pH 9,74 имеет:

- | | |
|--------------------------|-----------|
| 1) аспарагиновая кислота | 4) лизин |
| 2) аланин | 5) глицин |
| 3) глутаминовая кислота | |

5. Приведенная аминокислота

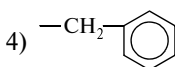
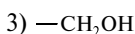
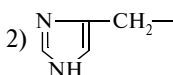
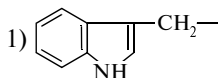


относится к группе аминокислот:

- | | |
|------------------------------|----------------------------|
| 1) гидрофобных | 3) заряженных положительно |
| 2) полярных, но незаряженных | 4) заряженных отрицательно |

6. Установить соответствие:

радикалы аминокислот



аминокислота

- а) гистидин
- б) серин
- в) фенилаланин
- г) лизин
- д) триптофан

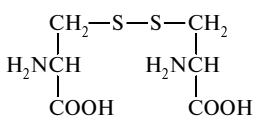
7. Иминокислотой является:

- | | |
|------------|-----------|
| 1) глицин | 4) пролин |
| 2) цистеин | 5) серин |
| 3) аргинин | |

8. Аминокислоты, входящие в состав белков, являются:

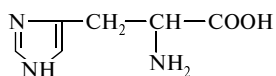
- 1) α-аминопроизводными карбоновых кислот
- 2) β-аминопроизводными карбоновых кислот
- 3) α-аминопроизводными ненасыщенных карбоновых кислот

9. Назвать аминокислоту



- 1) цистеин
- 2) серин
- 3) метионин
- 4) цистин
- 5) глицин

10. Назвать аминокислоту



- 1) триптофан
- 2) тирозин
- 3) гистидин
- 4) метионин
- 5) треонин

11. Установить соответствие:

аминокислота

- 1) цитруллин
- 2) цистин
- 3) треонин
- 4) глутаминовая

группы

- а) моноаминомонокарбоновые
- б) диаминомонокарбоновые
- в) моноаминодикарбоновые
- г) диаминодикарбоновые

12. Установить соответствие:

аминокислота

- 1) изолейцин
- 2) аспарагиновая кислота
- 3) серин
- 4) гистидин

группы

- а) неполярные (гидрофобные)
- б) полярные, но незаряженные
- в) отрицательно заряженные
- г) положительно заряженные

13. Оптической активностью не обладает аминокислота:

- | | |
|------------|------------|
| 1) лейцин | 4) аргинин |
| 2) цистеин | 5) аланин |
| 3) глицин | |

14. Серосодержащими аминокислотами являются:

- | | |
|------------|--------------|
| 1) треонин | 4) триптофан |
| 2) тирозин | 5) метионин |
| 3) цистеин | |

15. В состав белков не входят аминокислоты:

- | | |
|----------------------------|-------------|
| 1) глутамин | 4) β-аланин |
| 2) γ-аминомасляная кислота | 5) треонин |
| 3) аргинин | |

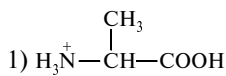
16. Гидроксигруппу содержат аминокислоты:

- | | |
|------------|-------------|
| 1) аланин | 4) метионин |
| 2) серин | 5) треонин |
| 3) цистеин | |

17. Установить соответствие:

ион аланина

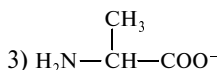
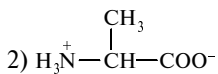
значение pH среды



а) 7,0

б) 3,0

в) 10,0



18. Stereoisomers of amino acids are designated as follows:

- 1) с направлением вращения плоскости поляризации поляризованного света
- 2) с абсолютной конфигурацией четырех замещающих групп вокруг асимметрического атома углерода

19. Угол поворота плоскости поляризации измеряют при помощи:

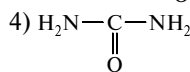
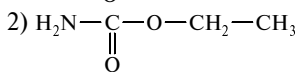
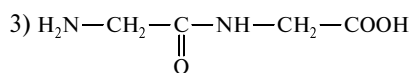
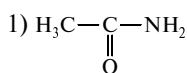
- 1) спектрофотометра
- 2) фотоэлектроколориметра
- 3) поляриметра

Главы 3—4

1. Белки характеризуются:

- 1) отсутствием способности кристаллизоваться
- 2) сохранением нативной структуры молекулы при нагревании до 100 °C
- 3) амфотерными свойствами
- 4) отсутствием специфической конформации молекулы

2. Пептидную связь содержит:



3. Впервые аминокислотная последовательность была расшифрована для:

- | | |
|-----------------|-----------------|
| 1) рибонуклеазы | 4) вазопрессина |
| 2) гемоглобина | 5) инсулина |
| 3) цитохрома C | |

4. Установить соответствие:

элементный химический состав белка

содержание в процентах

- 1) углерод
- 2) кислород
- 3) азот
- 4) водород
- 5) сера

- а) 21—23
- б) 0—3
- в) 6—7
- г) 50—55
- д) 15—17

5. Установить соответствие:

| | |
|----------------|--|
| <i>белки</i> | <i>высший уровень пространственной структуры</i> |
| 1) олигомерные | а) третичная |
| 2) протомерные | б) четвертичная |

6. Первичная структура белка не характеризуется тем, что:

- 1) в ее формировании участвуют слабые связи
- 2) закодирована генетически
- 3) образована ковалентными связями
- 4) определяет последующие уровни структурной организации белка

7. Пептидная связь в белках является:

- 1) одинарной
- 2) двойной
- 3) частично одинарной и частично двойной

8. Пептидная связь в белках имеет преимущественно:

- 1) *цис*-конфигурацию
- 2) *транс*-конфигурацию

9. В α -спирали белка водородные связи:

- 1) перпендикулярны оси спирали
- 2) параллельны оси спирали
- 3) водородная связь замыкается через три аминокислотных остатка
- 4) водородная связь замыкается через четыре аминокислотных остатка

10. Установить соответствие:

| | |
|---|------------------------------|
| <i>параметры α-спирали</i> | <i>числовое значение</i> |
| 1) число аминокислотных остатков на виток спирали | а) 0,54 нм |
| 2) диаметр спирали | б) 3,6 |
| 3) шаг спирали | в) 1,5 нм |
| 4) проекция одного аминокислотного остатка вдоль оси спирали | г) 0,15 нм |

11. Вторичная структура белка открыта:

- 1) Д. Уотсоном и Ф. Криком
- 2) Э. Фишером
- 3) Л. Полингом
- 4) Ф. Сэнгером
- 5) Д. Эдманом

12. Препятствует образованию α -спирали аминокислотный остаток:

- 1) аланина
- 2) серина
- 3) валина
- 4) пролина
- 5) глутамина

13. Гидрофобные боковые радикалы аминокислотных остатков полипептидной цепи располагаются в глобуле:

- 1) преимущественно на поверхности молекулы
- 2) внутри молекулы, образуя гидрофобные области
- 3) небольшая часть гидрофобных радикалов находится на поверхности белковой глобулы

14. Вторичная структура природных белков представлена:

- 1) только α -спиралью
- 2) только β -структурой
- 3) участками аморфными, α -спирали, β -структуры
- 4) участками α -спирали и β -структуры

15. **β -Структура представляет собой:**
- 1) тугозакрученную спираль
 - 2) зигзагообразную структуру
 - 3) встречается только на концах α -спирали, образуя 1—2 витка
16. **Наличие пролина в полипептидной цепи препятствует образованию α -спирали, так как пролин:**
- 1) способствует электростатическому отталкиванию аминокислотных остатков
 - 2) атом азота входит в состав жесткого кольца, что исключает возможность вращения вокруг связи C—N
 - 3) имеет большой размер радикала
 - 4) в пептидной связи, образуемой пролином, нет атома водорода
17. **Водородные связи более прочны:**
- 1) при параллельном расположении аминокислотных остатков
 - 2) при антипараллельном расположении аминокислотных остатков
18. **В формировании третичной структуры белка не участвует связь:**
- 1) водородная
 - 2) пептидная
 - 3) дисульфидная
 - 4) гидрофобное взаимодействие
19. **Наиболее информативным методом изучения пространственной структуры белковых молекул является метод:**
- 1) инфракрасной спектроскопии
 - 2) ядерного магнитного резонанса
 - 3) рентгеноструктурного анализа
 - 4) кругового дихроизма
20. **Олигомерными, как правило, являются белки с молекулярной массой более:**
- 1) 20 000
 - 2) 60 000
 - 3) 10 000
21. **Шапероны:**
- 1) защищают новосинтезированные белки от агрегации
 - 2) принимают участие в формировании третичной структуры
 - 3) катализируют процесс образования дисульфидных связей
 - 4) участвуют в синтезе аминокислот
22. **Формирование четвертичной структуры белка является:**
- 1) генетически закодированным
 - 2) самопроизвольным, взаимодействие протомеров осуществляется любой частью их поверхности
 - 3) самопроизвольным, протомеры взаимодействуют определенным участком
23. **Радикалы аминокислотных остатков полипептидной цепи не участвуют в формировании структур молекулы белка:**
- 1) первичной
 - 2) вторичной
 - 3) третичной
 - 4) четвертичной
24. **В процессе функционирования белковые молекулы:**
- 1) сохраняют жестко зафиксированную пространственную конформацию
 - 2) происходит существенное изменение пространственной структуры
 - 3) претерпевают небольшие конформационные изменения (флуктуации)
25. **В стабилизации четвертичной структуры не участвует связь:**
- 1) ионная
 - 2) дисульфидная
 - 3) водородная
 - 4) гидрофобное взаимодействие

26. Молекулярная масса белка варьирует в пределах:
1) 0,5—1,0 2) 1,0—5 3) 6 — десятки тысяч kDa
27. Для определения молекулярной массы белка практически невозможно использовать метод:
1) криоскопический 3) электрофореза в полиакриламидном геле
2) гель-фильтрации 4) ультрацентрифугирования
28. Скорость гель-фильтрации белков зависит от:
1) заряда 3) молекулярной массы
2) формы молекулы 4) растворимости белка
29. При денатурации белка не происходит:
1) нарушения третичной структуры 3) гидролиза пептидных связей
2) нарушения вторичной структуры 4) диссоциации субъединиц
30. Спектрофотометрический метод количественного определения белка основан на их свойстве поглощать свет в УФ-области при:
1) 280 нм 2) 190 нм 3) 210 нм
31. Общепринятая классификация простых белков основана на:
1) форме молекул 3) функциональных особенностях
2) аминокислотном составе 4) физико-химических свойствах
32. Повышенное содержание метионина и триптофана характерно для:
1) животных альбуминов 3) животных глобулинов
2) растительных альбуминов 4) растительных глобулинов
33. Аминокислоты аргинин и лизин составляют 20—30% аминокислотного состава белков:
1) альбуминов 4) гистонов
2) проламинов 5) протеиноидов
3) глобулинов
34. Белки волос кератины относятся к группе:
1) проламинов 4) глютелинов
2) протаминов 5) глобулинов
3) протеиноидов
35. 50% белков плазмы крови человека составляют:
1) α -глобулины 4) альбумин
2) β -глобулины 5) преальбумин
3) γ -глобулины
36. В ядрах клеток эукариот присутствуют главным образом:
1) протамины 3) альбумины
2) гистоны 4) глобулины
37. Какая фракция белков сыворотки крови содержит иммуноглобулины G:
1) α_1 -глобулины 3) γ -глобулины
2) β -глобулины 4) α_2 -глобулины
38. К протеиноидам относятся:
1) зеин — белок семян кукурузы 4) фиброин — белок шелка
2) альбумин — белок яйца 5) коллаген — белок соединительной ткани
3) гордеин — белок семян ячменя

39. Необычность аминокислотного состава фибриллярного белка коллагена определяется наличием в нем большого количества (30—20%) аминокислот:

- | | |
|--------------------------|----------------|
| 1) аспарагиновой кислоты | 4) аргинина |
| 2) пролина | 5) оксипролина |
| 3) глицина | |

40. Ортофосфорная кислота в фосфопротеинах обычно ковалентно связана:

- | | |
|-------------------------------|--------------------------------------|
| 1) с гидроксигруппой серина | 4) с β -карбоксильной группой |
| 2) с гидроксигруппой треонина | аспарагиновой кислоты |
| 3) с SH-группой цистеина | 5) с ϵ -аминогруппой лизина |

41. К фосфопротеинам относятся:

- | | |
|----------------------------|-------------------------|
| 1) оризенин риса | 4) гордеин семян ячменя |
| 2) сывороточный альбулин | 5) казеин молока |
| 3) вителлин яичного желтка | |

42. Установить соответствие:

- | | |
|------------------------|---------------------|
| <i>металлопротеины</i> | <i>металл</i> |
| 1) карбоангидраза | а) Mo^{2+} |
| 2) ксантиноксидаза | б) Cu^+ |
| 3) тирозиназа | в) Mg^{2+} |
| 4) АТФ-аза | г) Zn^{2+} |
| 5) каталаза | д) Fe^{3+} |

43. К медьсодержащим белкам относится:

- | | |
|----------------|------------------|
| 1) ферритин | 4) церулоплазмин |
| 2) ванадохром | 5) лактоферин |
| 3) гемосидерин | |

44. Железосодержащими белками являются:

- | | |
|-------------------|-----------------|
| 1) церулоплазмин | 4) ферритин |
| 2) карбоангидраза | 5) пластоцианин |
| 3) гемосидерин | |

45. Углеводы связаны с белковой частью молекулы гликопротеинов:

- | | |
|----------------|--------------------|
| 1) водородной | 3) ионной |
| 2) гликозидной | 4) гликозиламидной |

46. Связь между углеводным компонентом и апобелком в гликопротеидах осуществляется через радикалы аминокислотных остатков:

- | | |
|-------------|---------------|
| 1) тирозина | 4) лизина |
| 2) серина | 5) аспарагина |
| 3) аргинина | |

47. В состав гиалуроновой кислоты входят:

- | | |
|---------------------------|-----------------------------|
| 1) D-глюкуроновая кислота | 4) N-ацетил-D-галактозоамин |
| 2) D-галактозоамин | 5) D-галактуриновая кислота |
| 3) N-ацетил-D-глюкозоамин | |

48. В состав углеводного компонента гликопротеинов не входит:

- | | |
|----------------|---------------|
| 1) D-галактоза | 4) D-фруктоза |
| 2) D-глюкоза | 5) D-ксилоза |
| 3) D-манноза | |

49. В состав гема входит:



пирролидин



пиррол



пиридин



пиримидин

50. Гем представляет собой:

- 1) четыре пиррольных кольца, соединенных с Fe^{3+}
- 2) порфин, соединенный с Fe^{2+}
- 3) протопорфин IX
- 4) четыре алкилированных пиррольных кольца, соединенных метиновыми группами и Fe^{2+}

51. Олигомерными молекулами являются гемопroteины:

- | | |
|----------------------|----------------------|
| 1) миоглобин | 4) каталаза |
| 2) цитохром <i>b</i> | 5) цитохром <i>c</i> |
| 3) гемоглобин | |

52. Гемоглобин взрослого человека состоит из четырех субъединиц:

- | | |
|------------------------|-----------------------|
| 1) 2α 2γ | 4) 2β 2δ |
| 2) 2α 2β | 5) 2β 2γ |
| 3) 2α 2δ | |

53. Молекулярная масса гемоглобина (kDa):

- | | |
|---------|-------|
| 1) 108 | 4) 68 |
| 2) 400 | 5) 95 |
| 3) 12,8 | |

54. Трехвалентное железо содержится:

- | | |
|--------------------------|----------------------|
| 1) в дезоксигемоглобине | 3) в метгемоглобине |
| 2) в карбоксигемоглобине | 4) в оксигемоглобине |

55. Негемовое железо содержится:

- | | |
|-----------------------|-----------------|
| 1) в цитохромоксидазе | 4) в коэнзиме Q |
| 2) в гемоглобине | 5) в миоглобине |
| 3) в флавопротеинах | |

56. Кривая насыщения гемоглобина кислородом:

- 1) отражает прямо пропорциональную зависимость
- 2) имеет вид гиперболы
- 3) является сигмоидной

57. Белки выполняют различные функции, кроме:

- | | |
|-------------------|-----------------|
| 1) структурной | 4) генетической |
| 2) каталитической | 5) рецепторной |
| 3) регуляторной | |

58. Денатурация белков происходит в результате:

- 1) деградации первичной структуры
- 2) агрегации белковых глобул
- 3) изменений пространственных структур

Главы 5—7

1. Автором теории индуцированного соответствия в ферментативном катализе является:

- | | |
|----------------|---------------------------|
| 1) Л. Михаэлис | 3) Дж. Бриггс |
| 2) Д. Кошланд | 4) Дж. Холдейн — Э. Фишер |

2. Установить соответствие:

- | <i>ферменты</i> | <i>катализируемая реакция</i> |
|----------------------|--------------------------------------|
| 1) протеиназа | а) переносит электроны |
| 2) цитохром С | б) расщепляет H_2O_2 |
| 3) протеинкиназа | в) фосфорилирует белок |
| 4) каталаза | г) гидролизует 1,4-гликозидные связи |
| 5) α -амилаза | д) гидролизует пептидные связи |

3. Абсолютной специфичностью обладает:

- | | |
|---------------|--------------------|
| 1) протеиназа | 3) уреазы |
| 2) липаза | 4) глюкозооксидаза |

4. Простые ферменты состоят из:

- | | |
|----------------------------|---|
| 1) аминокислот | 4) углеводов |
| 2) аминокислот и углеводов | 5) аминокислот и небелковых компонентов |
| 3) липидов | 6) липидов и углеводов |

5. Сходными чертами между ферментами и неферментативными катализаторами являются:

- 1) катализ только энергетически возможных реакций
- 2) взаимодействие с одним из компонентов реакционной среды
- 3) неизменность направления реакции
- 4) обратимость каталитической реакции
- 5) прямая пропорциональная зависимость скорости реакции от температуры

6. Скорость ферментативной реакции зависит от:

- | | |
|--------------------------------|---|
| 1) концентрации фермента | 3) молекулярной массы субстрата |
| 2) молекулярной массы фермента | 4) молекулярной гетерогенности фермента |

7. Активный центр сложного фермента состоит из:

- 1) аминокислотных остатков
- 2) аминокислотных остатков, ассоциированных с небелковыми веществами
- 3) небелковых органических веществ
- 4) металлов
- 5) углеводов

8. К кофакторам относятся:

- | | |
|------------|------------------|
| 1) пируват | 4) витамин B_1 |
| 2) $НАД^+$ | 5) тирозин |
| 3) гем | |

9. Класс ферментов указывает на:

- 1) конформацию фермента
- 2) тип кофактора
- 3) тип химической реакции, катализируемой данным ферментом
- 4) строение активного центра фермента

10. Установить соответствие:

класс фермента
по классификации

ферменты

- 1) 1
- 2) 2
- 3) 3
- 4) 4
- 5) 5
- 6) 6

- а) трансферазы
- б) лиазы
- в) оксидоредуктазы
- г) лигазы
- д) гидролазы
- е) изомеразы

11. Константа Михаэлиса численно равна такой концентрации субстрата, при которой скорость реакции равна:

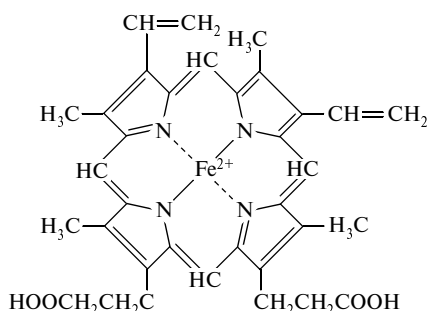
- 1) максимальной
- 2) 1/2 максимальной

- 3) 1/5 максимальной
- 4) 1/10 максимальной

12. Конкурентными ингибиторами ферментов являются:

- 1) металлы
- 2) аминокислоты
- 3) вещества, по структуре подобные субстрату
- 4) вещества, по структуре подобные активному центру фермента
- 5) полипептиды

13. Простетическая группа входит в состав ферментов:



- 1) гемоглобина
- 2) каталазы
- 3) трипсина
- 4) пероксидазы
- 5) церрулоплазмينا

14. Каждый фермент имеет кодовый номер:

- 1) пятизначный
- 2) четырехзначный
- 3) трехзначный
- 4) двухзначный

15. Для большинства ферментов характерна кривая зависимости скорости реакции от концентрации субстрата:

- 1) прямолинейная
- 2) гиперболическая
- 3) S-образная

16. Характер кривой скорости ферментативной реакции от pH определяется:

- 1) концентрацией фермента
- 2) концентрацией субстрата
- 3) ионизацией функциональных групп активного центра фермента
- 4) ионизацией химических группировок субстрата

17. Характер зависимости скорости ферментативной реакции от температуры зависит от:
- 1) ионной силы раствора
 - 2) значений pH
 - 3) денатурации белковой части фермента
 - 4) тепловой денатурации субстрата
18. Конкурентные ингибиторы являются:
- 1) обратимыми
 - 2) необратимыми
 - 3) обратимыми в определенных условиях
19. Активаторами ферментов являются:
- 1) ионы металлов
 - 2) анионы
 - 3) аминокислоты
 - 4) полипептиды
 - 5) коферменты
20. Ферменты необратимо ингибируются под действием:
- 1) липидов
 - 2) аминокислот
 - 3) ионов тяжелых металлов
 - 4) углеводов
21. В состав фермента, катализирующего окислительное декарбоксилирование пирувата, входит:
- 1) биотин
 - 2) витамин B₆
 - 3) тиаминпирофосфат
 - 4) фолиевая кислота
 - 5) гемин
22. В состав фермента, катализирующего перенос электронов и протонов, входит:
- 1) биотин
 - 2) глутатион
 - 3) пиридоксин
 - 4) НАД⁺
 - 5) фолиевая кислота
23. Бесконкурентным ингибированием называется торможение ферментативной реакции, вызванное присоединением ингибитора:
- 1) к субстрату
 - 2) к ферменту
 - 3) к фермент-субстратному комплексу
24. Аллостерическими эффекторами ферментов являются:
- 1) коферменты
 - 2) дипептиды
 - 3) продукты превращения субстрата
 - 4) углеводы
 - 5) липиды
25. Ингибирование аллостерического фермента происходит в результате действия:
- 1) субстрата
 - 2) положительного эффектора
 - 3) отрицательного эффектора
 - 4) кофермента
26. Влияние концентрации субстрата на скорость реакции аллостерического фермента описывается:
- 1) параболической кривой
 - 2) сигмоидной кривой
 - 3) прямой линией
27. Кривая зависимости скорости реакции аллостерического фермента от концентрации субстрата свидетельствует о том, что:
- 1) активные центры отдельных субъединиц функционируют автономно
 - 2) активные центры субъединиц функционируют кооперативно
 - 3) активные центры субъединиц функционируют автономно и кооперативно
 - 4) в зависимости от концентрации субстрата

28. Аллостерические ферменты могут иметь:

- 1) только один аллостерический центр
- 2) несколько аллостерических центров
- 3) в процессе ферментативной реакции число аллостерических центров фермента может изменяться

29. Кинетика аллостерических ферментов:

- 1) описывается уравнением Михаэлиса—Ментен
- 2) не описывается уравнением Михаэлиса—Ментен
- 3) описывается уравнением Михаэлиса—Ментен в определенных условиях

30. Установить соответствие:

регуляция активности фермента

механизм регуляции

- | | |
|--|--|
| 1) увеличение количества ферментативного белка | а) взаимодействие с белковыми ингибиторами |
| 2) уменьшение активности протеиназ | б) действие протеинкиназ |
| 3) модификация ферментативной активности в результате фосфорилирования белка | в) индукция генов |
| 4) активация зимогенов | г) ограниченный протеолиз |

31. Мультиферментные комплексы представляют собой:

- 1) совокупность ферментов одного класса
- 2) ферменты, катализирующие сходные реакции
- 3) полиферментные системы, выполняющие определенную функцию
- 4) ферменты, ассоциированные с клеточной мембраной

32. В мультиферментных комплексах:

- 1) все субстраты подобны друг другу
- 2) все субстраты отличаются друг от друга
- 3) продукты превращения одного субстрата являются исходным субстратом для следующего фермента
- 4) все ферменты катализируют превращение одного и того же субстрата

33. Для изоферментов характерно:

- 1) генетическое различие в первичной структуре ферментного белка
- 2) эпигенетические различия
- 3) те и другие, в зависимости от источника получения ферментного белка

34. Роль изоферментов в клетках и тканях связана:

- 1) с каскадным увеличением скорости соответствующих ферментативных реакций
- 2) с регуляцией тех или иных процессов в обмене веществ
- 3) с возможностью замены одной изоформы другой в зависимости от их локализации

35. Критерий, по которому отличают изоферменты и множественные молекулярные формы ферментов, связан:

- | | |
|---------------------------------|------------------------------------|
| 1) с первичной структурой белка | 3) с третичной структурой белка |
| 2) с вторичной структурой белка | 4) с четвертичной структурой белка |

36. При взаимодействии фермента с субстратом конформационные изменения характерны для:

- | | | |
|-------------|--------------|-------------------------|
| 1) фермента | 2) субстрата | 3) фермента и субстрата |
|-------------|--------------|-------------------------|

- 37. Активный центр простых ферментов формируется из:**
- 1) одной аминокислоты
 - 2) остатков нескольких аминокислот
 - 3) остатков нескольких аминокислот и небелковых компонентов
 - 4) небелковых компонентов
- 38. Активный центр сложных ферментов формируется из:**
- 1) одной аминокислоты
 - 2) остатков нескольких аминокислот
 - 3) остатков нескольких аминокислот и небелковых компонентов
 - 4) небелковых компонентов
- 39. В результате взаимодействия фермента с субстратом энергия активации соответствующей ферментативной реакции:**
- 1) увеличивается
 - 2) уменьшается
 - 3) не изменяется
- 40. До начала взаимодействия фермента с субстратом пространственные структуры фермента и субстрата:**
- 1) полностью соответствуют друг другу
 - 2) приблизительно соответствуют друг другу
 - 3) не соответствуют друг другу
- 41. Кисотно-основной катализ реализуется при наличии:**
- 1) кислотных групп в активном центре фермента
 - 2) кислотных групп в субстрате
 - 3) основных групп в активном центре фермента
 - 4) кислотных и основных групп в активном центре фермента
 - 5) кислотных и основных групп в субстрате
- 42. В результате иммобилизации фермента чаще всего изменяется его:**
- 1) концентрация
 - 2) стабильность
 - 3) молекулярная гетерогенность
 - 4) активность
- 43. При иммобилизации ферментов на нерастворимых носителях появляется возможность:**
- 1) увеличить активность ферментов
 - 2) получить продукт реакции, не загрязненный ферментным белком
 - 3) уменьшить время протекания ферментативной реакции
- 44. При иммобилизации фермента на водорастворимых носителях появляется возможность:**
- 1) многократно использовать один и тот же катализатор
 - 2) проводить ферментативный процесс непрерывно в проточных реакторах
 - 3) изменить концентрацию фермента в процессе катализа
- 45. Ковалентному присоединению фермента к носителю предшествует:**
- 1) активация поверхности носителя
 - 2) нагревание носителя
 - 3) изменение pH-среды
 - 4) взаимодействие носителя с ионами металлов

- 46. При желудочно-кишечных заболеваниях в качестве заместительной энзимотерапии применяют:**
- | | |
|------------------|-----------------|
| 1) химотрипсин | 4) каталазу |
| 2) эндопептидазу | 5) рибонуклеазу |
| 3) трипсин | |
- 47. Для лечения вирусных инфекций наиболее эффективно применение фермента:**
- | | |
|------------------------|-----------------|
| 1) пепсина | 3) трансаминазы |
| 2) дезоксирибонуклеазы | 4) каталазы |
- 48. Для растворения тромбов наиболее эффективно применение:**
- | | |
|------------------|--------------|
| 1) химотрипсина | 3) трипсина |
| 2) стрептокиназы | 4) альдолазы |
- 49. Для лечения лейкозов применяют фермент:**
- | | |
|--------------------------|------------------|
| 1) алкогольдегидрогеназу | 4) рибонуклеазу |
| 2) L-аспарагиназу | 5) галактозидазу |
| 3) дезоксирибонуклеазу | |
- 50. При заболеваниях поджелудочной железы наблюдается дефицит фермента:**
- | | |
|--------------|-----------------|
| 1) альдолазы | 3) липазы |
| 2) пепсина | 4) трансаминазы |
- 51. Наследственное заболевание фенилкетонурия имеет место в связи с недостаточностью фермента:**
- | | |
|-------------------------------|--|
| 1) фенилаланин-4-гидроксилазы | |
| 2) фенилаланиндегидрогеназы | |
| 3) фенилаланиндекарбоксилазы | |
- 52. При инфаркте миокарда диагностическое значение имеет определение в крови активности фермента:**
- | | |
|------------------------|--------------------------|
| 1) альдолазы | 3) алкогольдегидрогеназы |
| 2) лактатдегидрогеназы | 4) каталазы |
- 53. При заболеваниях печени клиническое значение имеет определение активности ферментов:**
- | | |
|------------------------|-----------------------------|
| 1) псевдохолинэстеразы | 4) аспартатаминотрансферазы |
| 2) α -амилазы | 5) пероксидазы |
| 3) фосфоорилазы | |
- 54. Для очищения гнойных ран и удаления некротирующих тканей применяют фермент:**
- | | |
|---------------|------------------|
| 1) липазу | 3) амилазу |
| 2) протеиназу | 4) дегидрогеназу |
- 55. Для определения глюкозы применяют фермент:**
- | | |
|------------------------|------------------------|
| 1) глюкозо-6-фосфатазу | 3) гликозилтрансферазу |
| 2) глюкозооксидазу | 4) глюкокиназу |
- 56. При остром панкреатите диагностическое значение имеет определение в крови фермента:**
- | | |
|---------------------------|------------------------|
| 1) аланинаминотрансферазы | 3) лактатдегидрогеназы |
| 2) α -амилазы | 4) креатинфосфокиназы |

57. Диагностическим тестом на рак предстательной железы является:

- | | |
|---------------------|--------------------------|
| 1) альдолаза | 3) малатдегидрогеназа |
| 2) кислая фосфатаза | 4) алкогольдегидрогеназа |

58. Кокарбоксилаза в крови определяется при помощи фермента:

- | | |
|-----------------------|-------------------|
| 1) пероксидазы | 3) пиррофосфатазы |
| 2) малатдегидрогеназы | 4) декарбоксилазы |

59. В производстве глюкозу из крахмала получают при помощи фермента:

- | | |
|----------------------|---------------------|
| 1) α -амилазы | 4) амилоглюкозидазы |
| 2) альдолазы | 5) фосфатазы |
| 3) глюкозооксидазы | |

60. Установить соответствие:

*субстрат, определяемый
с помощью ферментного электрода*

*фермент, входящий
в состав ферментного электрода*

- | | |
|--------------|--------------------------|
| 1) мочевины | а) аспарагиназа |
| 2) глюкоза | б) алкогольдегидрогеназа |
| 3) этанол | в) глюкозооксидаза |
| 4) лактат | г) лактатдегидрогеназа |
| 5) аспарагин | д) уреазы |

Главы 8—10

1. В качестве структурных элементов изопrenoидные фрагменты содержат витамины:

- | | |
|--------------------|-------------------------|
| 1) эргокальциферол | 4) ретинол |
| 2) токоферол | 5) аскорбиновую кислоту |
| 3) рутин | |

2. α, γ -Диокси- β, β -диметил- β -аланинмасляной кислотой является:

- | | |
|-------------------------|-------------------------|
| 1) пантотеновая кислота | 4) биотин |
| 2) пангамовая кислота | 5) аскорбиновая кислота |
| 3) карнитин | |

3. Производными стеролов являются:

- | | |
|--------------------|--------------------|
| 1) цианкобаламин | 4) холекальциферол |
| 2) эргокальциферол | 5) токоферол |
| 3) ретинальацетат | |

4. Производным диметилгидроксиметилбензохинона является:

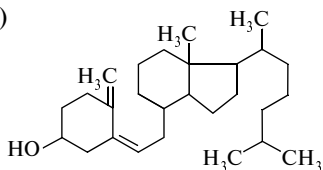
- | | |
|---------------|-----------------|
| 1) убихинон | 4) пиридоксамин |
| 2) викасол | 5) менахинон |
| 3) филлохинон | |

5. Витамин K_3 в своей структуре содержит:

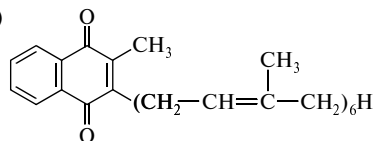
- 1) кольцо пиримидина и тиазола
- 2) метилбензохинон
- 3) производное хинона, имеющее гидроксильные группы и остаток ацетата
- 4) производное бензопирана
- 5) сульфогруппу

6. К группе жирорастворимых витаминов относятся:

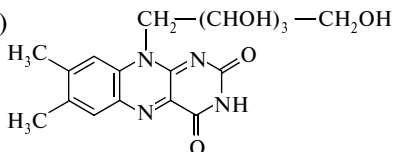
1)



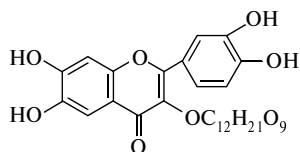
2)



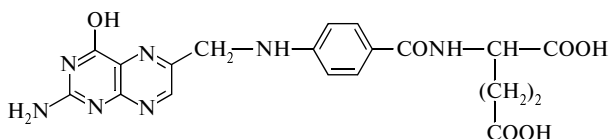
3)



4)



5)

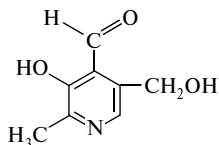


7. Витамин B₁₂:

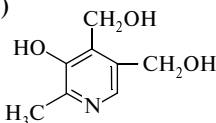
- 1) широко распространен в тканях высших растений
- 2) содержится в продуктах животного происхождения (печень, почки)
- 3) продуцируется кишечными бактериями
- 4) содержится в овощах, фруктах

8. Коферментом аминотрансфераз является:

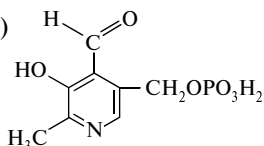
1)



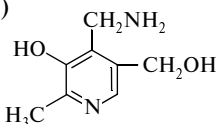
2)



3)



4)



9. Установить соответствие:

витамины

- 1) цианкобаламин
- 2) убихинон
- 3) филлохинон
- 4) викасол
- 5) пангамовая кислота

особенности структуры

- а) алкилированное производное нафтохинона
- б) N,N-диметилглицил-6-глюконовая кислота
- в) производное диметоксибензохинона
- г) содержит восстановленные пиррольные кольца, диметилбензимидазол
- д) гидросульфитное соединение метилнафтохинона

- 10. Коферментом дрожжевой пируватдекарбоксилазы является:**
- 1) пиридоксальфосфат
 - 2) тиаминпирофосфат
 - 3) никотинамид
 - 4) рибофлавин
 - 5) тетрагидрофолиевая кислота
- 11. Одним из наиболее эффективных природных антиоксидантов является:**
- 1) филлохинон
 - 2) викасол
 - 3) холекальциферол
 - 4) ретинол
 - 5) токоферол
- 12. Для нормального световосприятия необходим:**
- 1) ретинол
 - 2) токоферол
 - 3) рибофлавин
 - 4) пиридоксаль
 - 5) биотин
- 13. Антигеморрагическим действием обладает витамин:**
- 1) эргокальциферол
 - 2) ретинол
 - 3) филлохинон
 - 4) рутин
 - 5) аскорбиновая кислота
- 14. В реакциях карбоксилирования принимает участие:**
- 1) тиамин
 - 2) рибофлавин
 - 3) биотин
 - 4) пантотеновая кислота
 - 5) карнитин
- 15. В животном организме из триптофана синтезируется:**
- 1) амид никотиновой кислоты
 - 2) рибофлавин
 - 3) пантотеновая кислота
 - 4) викасол
 - 5) токоферол
- 16. При авитаминозе В₁ нарушается функционирование следующих ферментов:**
- 1) аминотрансферазы
 - 2) пируватдегидрогеназы
 - 3) пируваткарбоксилазы
 - 4) глутаматдегидрогеназы
 - 5) транскетолазы
- 17. В состав коферментов пируватдегидрогеназного комплекса входят витамины:**
- 1) тиамин
 - 2) пиридоксин
 - 3) филлохинон
 - 4) рибофлавин
 - 5) цианкобаламин
- 18. В реакциях трансметилирования принимают участие витамины:**
- 1) рутин
 - 2) ретинол
 - 3) ниацин
 - 4) фолиевая кислота
 - 5) пангамовая кислота
- 19. Составной частью коэнзима А является:**
- 1) *п*-аминобензойная кислота
 - 2) пиридоксин
 - 3) карнитин
 - 4) оротовая кислота
 - 5) пантотеновая кислота
- 20. На проницаемость капилляров влияет:**
- 1) никотинамид
 - 2) рибофлавин
 - 3) пиридоксин
 - 4) рутин
 - 5) пангамовая кислота

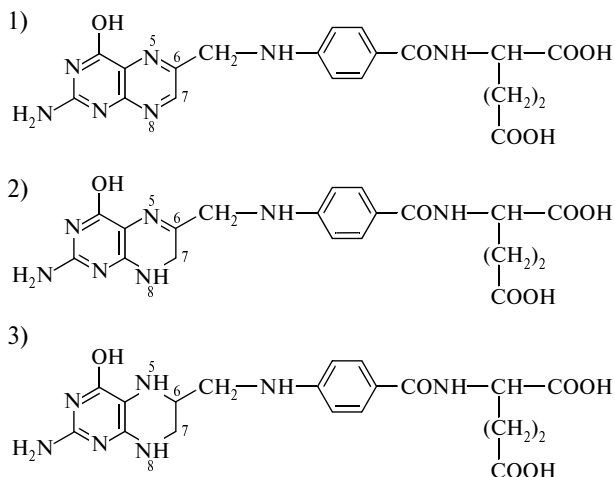
21. Ксерофтальмию вызывает дефицит в организме витамина:

- | | |
|-------------------------|---------------------|
| 1) аскорбиновой кислоты | 4) холекальциферола |
| 2) тиамина | 5) токоферола |
| 3) ретинола | |

22. Повышение проницаемости и хрупкость сосудов возникают при недостаточности витамина:

- | | |
|----------------|-------------------------|
| 1) тиамина | 4) аскорбиновой кислоты |
| 2) ниацина | 5) токоферола |
| 3) пиридоксина | |

23. Коферментом трансфераз, переносящих одноуглеродные остатки, является:



24. Механизм биологического действия биотина связан с его участием в реакциях:

- 1) окислительно-восстановительных
- 2) карбоксилирования ацетил-КоА
- 3) карбоксилирования пирувата
- 4) переноса ацетильных групп
- 5) декарбоксилирования аминокислот

25. Установить соответствие:

витамин

*метаболически активная
форма витамина*

- 1) ниацин
- 2) пантотеновая кислота
- 3) пиридоксин
- 4) рибофлавин
- 5) тиамин

- а) ФАД
- б) НАДФ⁺
- в) ацетил-КоА
- г) фосфопиридоксаль
- д) тиамин пирофосфат

26. Установить соответствие:

витамин

участие в обмене

- 1) тиамин
- 2) биотин
- 3) пиридоксин
- 4) фолиевая кислота

- а) углеводов и липидов
- б) углеводов и аминокислот
- в) нуклеиновых кислот
- г) углеводов

27. Витамин В₁₂ входит в состав следующих ферментов:

- | | |
|--------------------------------|-----------------------|
| 1) ацетилтрансферазы | 4) рацемазы |
| 2) гомоцистеинметилтрансферазы | 5) метилмалонилмутазы |
| 3) пируваткарбоксилазы | |

28. Витамин Н входит в состав ферментов:

- | | |
|--------------------------|----------------------------|
| 1) транскетолазы | 4) ацетил-КоА-карбоксилазы |
| 2) пируватдекарбоксилазы | 5) пируватдегидрогеназы |
| 3) пируваткарбоксилазы | |

29. Установить соответствие:

витамин

патология

- | | |
|-------------------------|--------------|
| 1) тиамин | а) себорея |
| 2) биотин | б) пеллагра |
| 3) аскорбиновая кислота | в) анемия |
| 4) ниацин | г) бери-бери |
| 5) фолиевая кислота | д) цинга |

30. Витамин В₁₅ показан при:

- | | |
|--------------------------------|--------------------------------|
| 1) анемиях | 4) пеллагре |
| 2) ломкости капилляров | 5) жировой инфильтрации печени |
| 3) нарушении пигментации волос | |

31. Коферментом декарбоксилаз аминокислот является:

- | | |
|----------------------|----------------------|
| 1) тиамин пирофосфат | 4) НАДН ⁺ |
| 2) пиридоксальфосфат | 5) 4-фосфопантетеин |
| 3) ФАД | |

32. Установить соответствие:

витамины

особенности

- | | |
|------------------------------|--|
| 1) водорастворимые | а) действуют как антикоферменты |
| 2) антивитамины | б) частично синтезируются в организме |
| 3) витаминоподобные вещества | в) превращаются в организме в коферменты |

33. Антивитамин *л*-аминобензойной кислоты является:

- | | |
|---------------|-----------------|
| 1) дикумарол | 4) фенobarбитал |
| 2) стрептоцид | 5) изониазид |
| 3) пенициллин | |

34. Птеридины являются антивитаминами:

- | | |
|-------------------------|---------------------|
| 1) аскорбиновой кислоты | 4) фолиевой кислоты |
| 2) ретинола | 5) биотина |
| 3) рутина | |

35. Витамин В₁₂ не способен синтезироваться:

- | |
|---------------------------|
| 1) животными клетками |
| 2) растительными клетками |
| 3) микроорганизмами |

36. Антивитамины используются при лечении:

- | | |
|---------------------------|-----------|
| 1) авитаминозов | 4) анемий |
| 2) бактериальных инфекций | 5) рахита |
| 3) опухолевых заболеваний | |

37. Витамин В₆ входит в состав следующих ферментов обмена аминокислот:

- | | |
|--------------------|--------------------------|
| 1) метилтрансфераз | 3) глутаматдегидрогеназы |
| 2) аминотрансфераз | 4) декарбоксилаз |

38. Витамин В₃ входит в состав:

- | | |
|------------------------|--------------------|
| 1) дегидрогеназ | 3) мутаз |
| 2) ацил-КоА-трансфераз | 4) метилтрансфераз |

39. В обмене углеводов участвуют витамины:

- | | |
|---------------|-------------------------|
| 1) тиамин | 4) фолиевая кислота |
| 2) ниацин | 5) пантотеновая кислота |
| 3) филлохинон | |

40. В обмене липидов участвуют витамины:

- | | |
|---------------|-------------------------|
| 1) тиамин | 4) фолиевая кислота |
| 2) рибофлавин | 5) пантотеновая кислота |
| 3) пиридоксин | |

Главы 11—13

1. Основной функцией гормонов является:

- | | |
|-----------------|-------------------|
| 1) защитная | 3) каталитическая |
| 2) регуляторная | 4) транспортная |

2. Координирующим центром эндокринной системы является:

- | | |
|-------------------------|----------------|
| 1) гипофиз | 4) гипоталамус |
| 2) спинной мозг | 5) тимус |
| 3) поджелудочная железа | |

3. Роль гормонов передней доли гипофиза заключается:

- 1) в регуляции функций периферических эндокринных желез
- 2) в ингибировании секреции рилизинг-факторов
- 3) в активации выработки статинов

4. К гормонам белковой природы относятся:

- | | |
|------------------|----------------|
| 1) трийодтиронин | 4) адреналин |
| 2) тироксин | 5) альдостерон |
| 3) паратгормон | |

5. Инсулин представляет собой:

- 1) производное ненасыщенных жирных кислот
- 2) производное аминокислоты тирозина
- 3) низкомолекулярный белок
- 4) гликопептид

6. Иод входит в состав:

- | | |
|-----------------|-----------------|
| 1) глюкагона | 3) кальцитонина |
| 2) паратгормона | 4) тироксина |

7. К стероидным гормонам относятся:

- | | |
|----------------|----------------|
| 1) кальцитонин | 4) тестостерон |
| 2) вазопрессин | 5) адреналин |
| 3) окситоцин | |

8. К гормонам, производным ароматических аминокислот, относятся:
- | | |
|--------------|-----------------|
| 1) эстрадиол | 3) секретин |
| 2) тироксин | 4) норадреналин |
9. Процессинг инсулина из предшественников (про- и препроинсулина) происходит в результате:
- | | |
|-----------------------------|--------------------|
| 1) ограниченного протеолиза | 3) сульфоокисления |
| 2) деиодирования | 4) восстановления |
10. В поджелудочной железе синтезируются:
- | | |
|--------------|--------------|
| 1) тироксин | 4) адреналин |
| 2) глюкагон | 5) инсулин |
| 3) окситоцин | |
11. В регуляции обмена электролитов принимает участие:
- | | |
|-----------------|----------------|
| 1) инсулин | 4) прогестерон |
| 2) норадреналин | 5) тиреотропин |
| 3) альдостерон | |
12. Содержание кальция и фосфора в крови регулируют:
- | | |
|-----------------------|--------------|
| 1) паратгормон | 4) эстрадиол |
| 2) кальцитонин | 5) глюкагон |
| 3) аденокортикотропин | |
13. Аденилатциклазу активируют:
- | | |
|-----------------|----------------|
| 1) прогестерон | 4) адреналин |
| 2) меланотропин | 5) альдостерон |
| 3) глюкагон | |
14. Гормоны пептидной природы синтезируются:
- | | |
|----------------------------------|---------------|
| 1) в коре надпочечников | 4) в гипофизе |
| 2) в мозговом слое надпочечников | 5) в яичниках |
| 3) в семенниках | |
15. Стероидные гормоны синтезируются:
- | | |
|----------------------------------|-------------------------|
| 1) в поджелудочной железе | 4) в коре надпочечников |
| 2) в семенниках | 5) в щитовидной железе |
| 3) в мозговом слое надпочечников | |
16. В слизистой кишечника секретируется гормон:
- | | |
|------------------|------------------|
| 1) инсулин | 4) гастрин |
| 2) секретин | 5) кортикотропин |
| 3) соматолиберин | |
17. Развитие вторичных половых признаков у особей мужского пола стимулирует:
- | | |
|----------------|----------------|
| 1) тестостерон | 4) прогестерон |
| 2) аностерон | 5) окситоцин |
| 3) эстрадиол | |
18. Биосинтез кортикостероидов стимулирует:
- | | |
|-----------------------|------------------|
| 1) аденокортикотропин | 3) кортикостерон |
| 2) кальцитонин | 4) инсулин |

19. Адреналин активирует фермент:

- | | |
|----------------------|------------------|
| 1) каталазу | 4) холинэстеразу |
| 2) аденилатциклазу | 5) фосфатазу |
| 3) гликогенсинтетазу | |

20. Синтез гормонов щитовидной железы активирует:

- | | | |
|------------------|----------------|-----------------|
| 1) кортикотропин | 2) тиреотропин | 3) соматотропин |
|------------------|----------------|-----------------|

21. Кортизол — гормон коры надпочечников регулирует:

- 1) обмен жиров, белков, углеводов
- 2) обмен воды и минеральных солей
- 3) биосинтез фермента гликогенсинтетазы

22. Минералокортикоиды регулируют обмен:

- | | | |
|---------------|-------------|------------------|
| 1) углеводный | 2) липидный | 3) водно-солевой |
|---------------|-------------|------------------|

23. В биосинтезе адреналина из фенилаланина не принимает участие:

- | | |
|----------------------------|--|
| 1) фенилаланингидроксилаза | 4) декарбоксилаза ароматических кислот |
| 2) аминотрансфераза | 5) <i>N</i> -метилтрансфераза |
| 3) тирозингидроксилаза | |

24. В виде прогормонов синтезируется:

- | | |
|------------------|-----------------|
| 1) гидрокортизон | 4) соматостатин |
| 2) тироксин | 5) альдостерон |
| 3) адреналин | |

25. Производными ненасыщенных жирных кислот являются:

- | | |
|-------------------|-------------|
| 1) пролактин | 4) секретин |
| 2) простагландины | 5) тироксин |
| 3) соматостатин | |

26. Дофамин вырабатывается:

- | | |
|----------------------------------|----------------------------|
| 1) в мозговом слое надпочечников | 4) в семенниках |
| 2) в коре надпочечников | 5) в паращитовидной железе |
| 3) в тимусе | |

27. Инсулин — гормон поджелудочной железы является:

- 1) стероидным гормоном
- 2) производным аминокислот
- 3) гормоном белково-пептидной природы

28. Установить соответствие:

- | | |
|-----------------|-------------------------------|
| <i>гормоны</i> | <i>синтезируется в железе</i> |
| 1) тироксин | а) щитовидной |
| 2) пролактин | б) гипофизе |
| 3) соматостатин | в) семенниках |
| 4) альдостерон | г) поджелудочной |
| 5) андрогены | д) коре надпочечников |

29. Гормоны гипоталамуса являются:

- 1) пептидами
- 2) производными аминокислот
- 3) производными высших жирных ненасыщенных кислот

30. Установить соответствие:

гормон

тип рецепции

- 1) адреналин
- 2) глюкагон
- 3) тироксин
- 4) прогестерон

- а) цитозольный
- б) мембрано-опосредованный

31. Аденилатциклазный комплекс представляет собой:

- 1) набор цитоплазматических рецепторов
- 2) ассоциацию трех компонентов: рецепторного, сопрягающего и каталитического белков
- 3) цитоплазматический мультиферментный комплекс

32. Циклические нуклеотиды:

- 1) ингибируют фосфодиэстеразу
- 2) активируют протеинкиназы, способные фосфорилировать белки
- 3) активируют кальмодулин, входящий в состав некоторых протеинкиназ

33. В клетке мишени инсулин связывается:

- 1) с цитоплазматическим гликопротеиновым рецептором
- 2) гликопротеиновым рецептором на цитоплазматической мембране
- 3) с ядерным гликопротеиновым рецептором

34. Рецептор инсулина является:

- 1) гетеродимером и состоит из α - и β -полипептидных цепей, связанных дисульфидными мостиками
- 2) тетрамером, состоящим из двух α - и β -полипептидных цепей, связанных между собой дисульфидными мостиками
- 3) тетрамером, состоящим из двух α - и β -полипептидных цепей, связанных нековалентно между собой

35. Связывание инсулина с рецептором приводит:

- 1) к эндоцитозу гормонорецепторного комплекса
- 2) к выработке цГМФ
- 3) к выработке цАМФ
- 4) к аутофосфорилированию рецептора
- 5) к интенсификации процессов клеточного дыхания

36. Вторичными посредниками гормонов в клетке являются:

- 1) ионы кальция
- 2) цАМФ
- 3) ГДФ
- 4) АТФ
- 5) кальмодулин

37. Установить соответствие:

гормон

показания к применению

- 1) инсулин
- 2) соматотропин
- 3) глюкагон
- 4) окситоцин

- а) гипоталамо-гипофизарная низкорослость
- б) гипогликемия
- в) слабость родовой деятельности
- г) сахарный диабет

38. Тиреоидные гормоны в качестве лекарственного препарата применяют при:

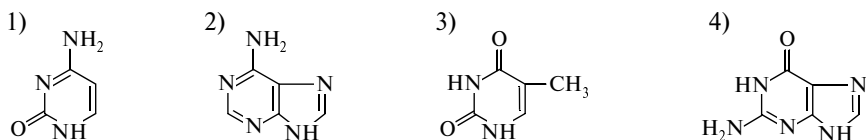
- 1) сахарном диабете
- 2) аддисоновой болезни
- 3) микседеме
- 4) акромегалии

39. Глюкокортикоидные гормоны как лекарственные препараты применяют при:

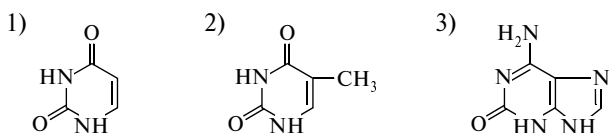
- | | |
|------------------------|----------------------|
| 1) аддисоновой болезни | 3) базедовой болезни |
| 2) сахарном диабете | 4) болезни Кушинга |

Глава 14

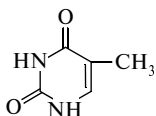
1. К пиримидиновым основаниям относятся:



2. К пуриновым основаниям относятся:

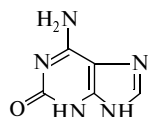


3. Входит в состав



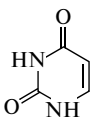
- 1) только РНК
- 2) только ДНК
- 3) РНК и ДНК

4. Входит в состав



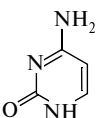
- 1) только РНК
- 2) только ДНК
- 3) РНК и ДНК

5. Является



- 1) аденином
- 2) гуанином
- 3) урацилом
- 4) тимином
- 5) цитозином

6. Является



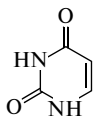
- 1) урацилом
- 2) псевдоурацилом
- 3) тимином
- 4) цитозином
- 5) оротатом

7. Установить соответствие:

азотистое основание

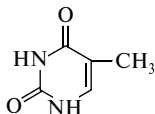
название

1)

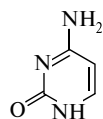


- а) аденин
- б) гуанин
- в) цитозин
- г) тимин
- д) урацил

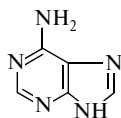
2)



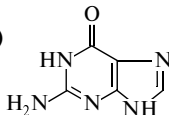
3)



4)

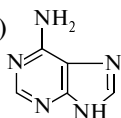


5)

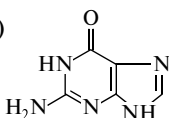


8. К минорным пуриновым основаниям относится:

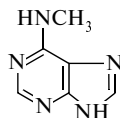
1)



2)



3)



9. В состав РНК не входит азотистое основание:

- 1) тимин
- 2) цитозин
- 3) урацил

- 4) гуанин
- 5) аденин

10. Только в состав ДНК входит азотистое основание:

- 1) N₆-метиладенин
- 2) гипоксантин
- 3) урацил

- 4) тимин
- 5) аденин

11. В состав нуклеозида входит:

- 1) азотистое основание
- 2) азотистое основание и пентоза
- 3) азотистое основание, пентоза и остаток фосфорной кислоты

12. В состав нуклеотида входит:

- 1) азотистое основание
- 2) азотистое основание и пентоза
- 3) азотистое основание, пентоза и остаток фосфорной кислоты

13. В нуклеотидах азотистое основание и пентоза соединены связью:

- 1) фосфоэфирной 2) *N*-гликозидной 3) *O*-гликозидной

14. В составе РНК содержится:

- 1) D-рибоза 3) β-D-рибофураноза
2) α-D-рибофураноза 4) β-D-2-дезоксирибофураноза

15. В составе ДНК содержится:

- 1) L-рибоза 3) α-D-рибофураноза
2) α-D-2-дезоксирибофураноза 4) β-D-2-дезоксирибофураноза

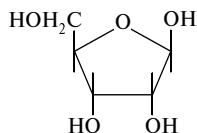
16. Пиримидиновыми нуклеозидами являются:

- 1) аденозин 4) цитидин
2) аденин 5) цитозин
3) аденозинтрифосфат

17. Пуриновыми нуклеозидами являются:

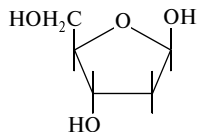
- 1) уридин 4) урацил
2) гуанозин 5) аденозин
3) гуанин

18. Входит в состав



- 1) только РНК
2) только ДНК
3) РНК и ДНК

19. Входит в состав



- 1) только РНК
2) только ДНК
3) РНК и ДНК

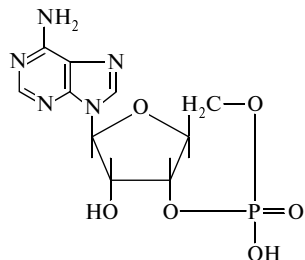
20. Минорными нуклеозидами являются:

- 1) риботимидин 4) инозин
2) аденозин 5) гуанозин
3) цитидин

21. Аденозинтрифосфат — это:

- 1) азотистое основание 3) нуклеотид
2) нуклеозид 4) динуклеотид

22. Является



- 1) АМФ
2) циклическим 2',3'-АМФ
3) циклическим 3',5'-АМФ
4) АДФ
5) АТФ

23. В молекулах нуклеиновых кислот остатки нуклеотидов соединены связями:
- 1) фосфоангидридными
 - 2) 2',3'-фосфодиэфирными
 - 3) 3',5'-фосфодиэфирными
 - 4) 2',5'-фосфодиэфирными
 - 5) N-гликозидными
24. Модель вторичной структуры ДНК предложена:
- 1) Р. Митчелом и В. П. Скулачевым
 - 2) Дж. Уотсоном и Ф. Криком
 - 3) Ф. Жакобом и Ж. Моно
25. Вторичная структура ДНК представляет собой спираль:
- 1) двойную левозакрученную
 - 2) двойную правозакрученную
 - 3) одноцепочную левозакрученную
26. Согласно правилу комплементарности Чаргаффа водородные связи в молекуле ДНК замыкаются между:
- 1) аденином и гуанином
 - 2) аденином и тиминном
 - 3) урацилом и аденином
 - 4) цитозином и тиминном
 - 5) цитозином и гуанином
27. При формировании структур нуклеиновых кислот водородные связи не возникают между:
- 1) аденином и тиминном
 - 2) аденином и урацилом
 - 3) гуанином и цитозином
 - 4) гуанином и аденином
 - 5) тиминном и урацилом
28. В молекуле ДНК число остатков аденина всегда равно числу остатков:
- 1) гуанина
 - 2) тимина
 - 3) урацила
 - 4) цитозина
 - 5) ксантина
29. В молекуле ДНК число остатков гуанина всегда равно числу остатков:
- 1) тимина
 - 2) урацила
 - 3) цитозина
 - 4) дигидроурацила
 - 5) пиримидина
30. На один виток двойной спирали ДНК приходится число пар нуклеотидов:
- 1) 5
 - 2) 10
 - 3) 15
 - 4) 20
 - 5) 100
31. Диаметр двухспиральной молекулы ДНК равен:
- 1) 0,18 нм
 - 2) 1,8 нм
 - 3) 18 нм
 - 4) 180 нм
32. Полинуклеотидные цепи в двухспиральной молекуле ДНК удерживаются:
- 1) координационными связями
 - 2) водородными связями
 - 3) ионными связями
 - 4) гидрофобными взаимодействиями
33. В формировании третичной структуры ДНК у эукариот участвуют белки:
- 1) протамины
 - 2) глобулины
 - 3) гистоны
 - 4) альбумины
 - 5) глобулины
34. Между молекулой ДНК и гистонами в составе эукариотической хромосомы формируются связи:
- 1) ковалентные
 - 2) координационные
 - 3) ионные
 - 4) водородные

35. Вторичная структура тРНК имеет форму:
- 1) линейную
 - 2) «клеверного листа»
 - 3) «локтевого сгиба»
36. Акцепторная ветвь тРНК содержит на 3'-конце ДНК тринуклеотидную последовательность:
- 1) УАГ
 - 2) ЦАЦ
 - 3) ЦЦА
 - 4) АЦЦ
 - 5) АЦА
37. Третичная структура молекул РНК представляет собой:
- 1) пространственно расположенную суперскрученную двойную спираль
 - 2) пространственно расположенную полинуклеотидную цепь с аморфными и спирализованными участками
 - 3) пространственно расположенное суперскрученное кольцо
38. Специфичность различных тРНК определяется:
- 1) акцепторным участком
 - 2) антикодонной петлей
 - 3) псевдоуридиловой петлей
 - 4) дигидроуридиновой петлей
39. Максимум оптической плотности нуклеиновых кислот при длине волны 260 нм обусловлен наличием:
- 1) водородных связей
 - 2) пентоз
 - 3) азотистых оснований
 - 4) фосфорных остатков
40. Нарушение пространственной структуры нуклеиновых кислот приводит:
- 1) к гипохромному эффекту (снижению оптической плотности раствора)
 - 2) к гиперхромному эффекту (повышению оптической плотности раствора)
41. В продуктах полного гидролиза нуклеиновых кислот отсутствуют:
- 1) азотистые основания
 - 2) пентозы
 - 3) гексозы
 - 4) фосфорные кислоты
42. Нуклеотиды расщепляются ферментами:
- 1) нуклеазами
 - 2) нуклеотидазами
 - 3) нуклеозидазами
 - 4) нуклеозидфосфорилазами

Глава 15

1. Установить соответствие:
- | <i>процессы</i> | <i>реакции</i> |
|--|--------------------|
| 1) образование конечных продуктов обмена | а) эндергонические |
| 2) синтез биомолекул | б) экзергонические |
2. Часть энергии системы, которую можно использовать для совершения работы при постоянных температуре и давлении, называется:
- 1) энтальпией
 - 2) связанной энергией
 - 3) свободной энергией
 - 4) энтропией
3. В эндергонических процессах ΔG имеет значение:
- 1) положительное
 - 2) отрицательное
 - 3) нулевое

4. Конечными продуктами обмена являются:

- | | |
|---------------|-----------|
| 1) ацетил-КоА | 4) H_2O |
| 2) мочевины | 5) CO_2 |
| 3) пируват | |

5. Указать, в каких процессах не используется энергия, освобождающаяся при окислении питательных веществ:

- | | |
|------------------------|---------------------------------------|
| 1) синтез АТФ | 4) гидролиз концевой фосфоангидридной |
| 2) теплопродукция | связи АТФ |
| 3) осмотическая работа | 5) сокращение мышц |

6. Центральную роль в энергообмене всех типов клеток осуществляет:

- 1) креатинфосфат
- 2) электрохимический потенциал сопрягающих мембран
- 3) ГТФ
- 4) система адениловых нуклеотидов

7. В молекуле АТФ макроэргической является связь:

- 1) гликозидная
- 2) фосфоэфирная
- 3) фосфоангидридная

8. Указать, какое соединение не относится к макроэргическим:

- | | |
|------------------------|----------------------|
| 1) фосфоеноилпируват | 4) аденозинтрифосфат |
| 2) 1,3-дифосфоглицерат | 5) цитидинтрифосфат |
| 3) глюкозо-6-фосфат | |

9. Установить соответствие:

процессы

- 1) синтез АТФ
- 2) транспорт веществ через мембрану против градиента концентрации
- 3) сокращение мышц
- 4) образование теплоты митохондриями животных в ответ на понижение окружающей температуры

тип превращения энергии

- а) $\Delta\mu H^+$ - осмотическая работа
- б) $\Delta\mu H^+$ - химическая работа
- в) АТФ - механическая работа
- г) $\Delta\mu H^+$ - теплопродукция

10. Синтез АТФ из АДФ и Φ_n сопряжен с реакцией:

- 1) Фруктозо-1,6-фосфат + $H_2O \longrightarrow$ Фруктозо-6-фосфат + Φ_n ($\Delta G^\circ = -13,3$ кДж)
- 2) Фосфоеноилпируват + $H_2O \longrightarrow$ Пируват + Φ_n ($\Delta G^\circ = -61,9$ кДж)
- 3) Глюкозо-6-фосфат + $H_2O \longrightarrow$ Глюкоза + Φ_n ($\Delta G^\circ = -15,8$ кДж)

11. Реакции биологического окисления, сопровождающиеся трансформацией энергии химических связей окисляемых субстратов в энергию АТФ, протекают путем:

- 1) активации молекулярного кислорода
- 2) дегидрирования, с последующей передачей электронов на кислород
- 3) присоединения активированного кислорода к субстрату

12. Реакция дегидрирования, в которой акцептором водорода служит не кислород, а химическое вещество, называется:

- | | |
|-----------------------------|------------------------------|
| 1) тканевым дыханием | 3) брожением |
| 2) биологическим окислением | 4) микросомальным окислением |

13. Синтез АТФ в клетках эукариот протекает на:
- 1) внутренней мембране митохондрий
 - 2) наружной мембране митохондрий
 - 3) мембранах ЭПР
 - 4) плазматической мембране
14. Первичными акцепторами электронов от окисляемого субстрата к молекулярному кислороду являются:
- 1) коэнзим Q
 - 2) пиридинзависимые дегидрогеназы
 - 3) цитохром b_5
 - 4) трансферрин
 - 5) цитохром P-450
15. Поглощаемый при окислении кислород воздуха играет роль:
- 1) первичного акцептора атомов водорода, отщепляемых от субстрата дегидрогеназами
 - 2) конечного акцептора электронов
16. Пиридинзависимые дегидрогеназы в качестве кофермента содержат:
- 1) гем
 - 2) ФМН
 - 3) НАД⁺
 - 4) ФАД
 - 5) НАДФ⁺
17. К НАД⁺-зависимым дегидрогеназам, локализованным преимущественно в митохондриях, относятся:
- 1) глицеральдегидфосфатдегидрогеназа
 - 2) изоцитратдегидрогеназа
 - 3) α -кетоглутаратдегидрогеназа
 - 4) лактатдегидрогеназа
18. В состав НАД⁺ входят:
- 1) амид никотиновой кислоты
 - 2) изоаллоксазин
 - 3) АМФ
 - 4) рибитол
19. Пиридинзависимые дегидрогеназы локализованы:
- 1) только в цитозоле
 - 2) только в митохондриях
 - 3) в цитозоле и в митохондриях
20. Коферменты пиридинзависимых дегидрогеназ НАД⁺ и НАДФ⁺ являются динуклеотидами, в которых мононуклеотиды связаны между собой:
- 1) 3',5'-фосфодиэфирной связью
 - 2) 2',5'-фосфодиэфирной связью
 - 3) 5',5'-фосфоангидридной связью
21. Протетической группой первичных акцепторов водорода флавиновых дегидрогеназ является:
- 1) НАДФ⁺
 - 2) ФАД
 - 3) ФМН
22. В состав протетической группы НАДН: КоQ-оксидоредуктазного комплекса входит:
- 1) ФМН
 - 2) ФАД
 - 3) хинон
23. В состав протетических групп флавиновых дегидрогеназ входит витамин:
- 1) B₁
 - 2) B₂
 - 3) B₅
 - 4) B₃
 - 5) B₆

24. Установить соответствие:

переносчики электронов цепи
митохондрий

- 1) НАД⁺/НАДН
- 2) ФАД-белок/ФАДН₂-белок
- 3) КоQ/КоQH₂
- 4) цит *b* (Fe²⁺)/Цит. *b* (Fe³⁺)
- 5) цитохром *a*₃ (Fe²⁺)/цитохром *a*₃ (Fe³⁺)

стандартные
редокс-потенциалы

- а) +0,07
- б) -0,05
- в) -0,32
- г) -0,04
- д) +0,55

25. Активной частью молекулы ФАД или ФМН является:

- 1) пиримидин
- 2) пиридин
- 3) изоаллоксазин
- 4) аденин
- 5) рибитол

26. В состав НАДН: КоQ-оксидоредуктазного комплекса (комплекс I дыхательного ансамбля) помимо флавинового фермента входят:

- 1) КоQ
- 2) атомы меди
- 3) железосерные белки

27. Убихинон переносит электроны между ферментными комплексами дыхательной цепи митохондрий:

- 1) I и II
- 2) I и III
- 3) II и III
- 4) III и IV

28. КоQ является производным:

- 1) пиридина
- 2) бензохинона
- 3) изоаллоксазина
- 4) порфина

29. Хелатный комплекс железа с 1,3,5,8-тетраметил-2,4-дивинил-6,7-дипропио-новокислым порфином в качестве простетической группы содержит:

- 1) цитохром *a*
- 2) цитохром *c*
- 3) цитохром *b*

30. Синтез АТФ за счет энергии, выделяющейся при переносе электронов от окисляемого субстрата к молекулярному кислороду, называют:

- 1) субстратным фосфорилированием
- 2) окислительным фосфорилированием
- 3) фотофосфорилированием

31. Выход энергии в дыхательной цепи рассчитывают по уравнению $\Delta G = -nF \Delta E^{\circ'}$, где *n* — количество:

- 1) образующихся молекул АТФ
- 2) поглощенных атомов кислорода
- 3) переносимых электронов

32. Согласно хемиосмотической теории посредником двух процессов — дыхания и фосфорилирования — является:

- 1) ΔpH
- 2) $\Delta \psi$
- 3) $\Delta \mu H^+$

33. Установить соответствие:

процессы

- 1) перенос электронов от НАДН к молекулярному кислороду
- 2) синтез АТФ

изменения электрохимического
потенциала

- а) уменьшение
- б) увеличение

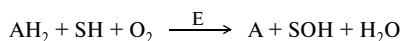
34. Количество АТФ, образующееся при окислении 1 молекулы изоцитрата, равно:
1) 2 2) 3 3) 1 4) 0
35. Количество энергии, выделяющейся при переносе электронов от ФАДН₂ к молекулярному кислороду, обеспечивает синтез АТФ:
1) 3 2) 2 3) 1
36. Каталитически активный субкомплекс протонзависимой АТФ-синтетазы митохондрий (F₁) ориентирован:
1) в матрикс митохондрии
2) в межмембранное пространство
3) в цитозоль
37. Установить соответствие:

| | |
|---|-----------------------------------|
| <i>субкомплексы Н⁺-АТФ-азы</i> | <i>функции</i> |
| 1) F ₁ | а) формирование протонного канала |
| 2) F ₀ | б) синтез АТФ |
38. Разобщающим действием на процессы сопряженного окислительного фосфорилирования обладают:
1) ингибиторы цитохромоксидазы 4) гидрофобные кислоты
2) протонофоры 5) 2,4-динитрофенол
3) ингибиторы НАДН-дегидрогеназы
39. Коэффициент Р/О при окислении НАДН в присутствии 2,4-динитрофенола равен:
1) 3 2) 2 3) 1 4) 0
40. Ингибиторами высокомолекулярного комплекса IV, интегрированного во внутреннюю мембрану митохондрий, являются:
1) НАДН 4) ротенон
2) цианиды 5) СО
3) 2,4-динитрофенол
41. При блокировании амобарбиталом первого пункта переноса электронов по дыхательной цепи синтез АТФ в митохондриях возможен при использовании в качестве субстратов:
1) малата 4) сукцината
2) α-кетоглутарата 5) ацил-КоА
3) глутамата
42. К лекарственным средствам, разобщающим процессы окисления и фосфорилирования, относятся все нижеперечисленные препараты, кроме:
1) салицилата 4) L-тироксина
2) дикумарина 5) фенилина
3) адrenalина
43. Синтез АТФ в присутствии ротенона (ингибитора НАДН-дегидрогеназы) будет происходить при использовании в качестве субстрата:
1) малата 4) глутамата
2) изоцитрата 5) пирувата
3) сукцината

44. Дыхательным контролем называется регуляция скорости дыхания:

- 1) цитохромоксидазой
- 2) НАДН-дегидрогеназой
- 3) концентрацией АДФ

45. Реакцию, идущую по схеме



катализируют:

- 1) оксидазы
- 2) пероксидазы
- 3) монооксигеназы

46. Микросомальное окисление осуществляется ферментными системами, локализованными преимущественно:

- 1) в наружной мембране митохондрий
- 2) в эндоплазматическом ретикулуме
- 3) в цитозоле
- 4) в матриксе митохондрий

47. Установить соответствие:

тип окисления

роль кислорода

- 1) митохондриальное
- 2) микросомальное

- а) непосредственно внедряется в окисляемое вещество и используется для образования воды
- б) является конечным акцептором электронов и используется лишь для образования воды

48. Функциональная роль микросомального окисления состоит:

- 1) в использовании энергии окисления для синтеза АТФ
- 2) в образовании кислородсодержащих органических соединений с «пластическими» целями
- 3) в гидроксировании гидрофобных соединений с «детоксифицирующими» целями

49. В реакциях, катализируемых аутооксидабельными флавопротеидами, кислород восстанавливается до:

- 1) H_2O
- 2) H_2O_2
- 3) O_2
- 4) OH

50. Каталаза и пероксидаза локализируются преимущественно:

- 1) в митохондриях
- 2) в микросомах
- 3) в лизосомах
- 4) в пероксисомах

51. Пероксид водорода образуется в реакциях, катализируемых:

- 1) оксидазами L-аминокислот
- 2) моноаминоксидазами
- 3) цитохромоксидазой
- 4) монооксигеназами

52. При одноэлектронном восстановлении кислорода образуется:

- 1) гидроксильный ион
- 2) гидроксильный радикал
- 3) супероксидный радикал
- 4) пероксидный радикал

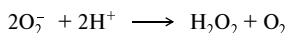
53. Супероксидные радикалы токсичны для организма потому, что:

- 1) спонтанно ускоряют цепные реакции пероксидного окисления липидов
- 2) гидроксилируют гидрофобные эндогенные соединения
- 3) реагируют с белками и нуклеиновыми кислотами, вызывая изменение их конформации
- 4) уничтожают фагоцитированные микроорганизмы

54. Супероксиддисмутаза является обязательным компонентом:

- 1) аэробных организмов
- 2) факультативных анаэробных организмов
- 3) облигатных анаэробных организмов

55. Реакцию



катализирует фермент:

- 1) пероксидаза
- 2) каталаза
- 3) оксидаза
- 4) супероксиддисмутаза

56. Гем в качестве простетической группы не содержат такие ферменты-антиоксиданты, как:

- 1) супероксиддисмутаза
- 2) каталаза
- 3) пероксидаза
- 4) глутатионпероксидаза

57. Установить соответствие:

реакция

- 1) $\text{O}_2^- + \text{O}_2^- + 2\text{H}^+ \longrightarrow \text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2$
- 2) $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{H}_2\text{O}_2 \longrightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$
- 3) $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{HO}-\text{S}-\text{OH} \longrightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}=\text{S}=\text{O}$

катализирующий фермент

- а) пероксидаза
- б) каталаза
- в) супероксиддисмутаза

58. Указать механизм, который не относится к защитным от активных форм кислорода:

- 1) антиоксидантные ферментативные системы
- 2) антиоксиданты токоферального типа
- 3) восстановленный глутатион
- 4) глутатионпероксидазы
- 5) легко самоокисляющиеся соединения

Глава 16

1. По источнику энергии организмы делятся на:

- 1) гетеротрофы
- 2) хемотротрофы
- 3) автотрофы
- 4) фототрофы

2. Фотосинтезирующей структурой прокариот являются:

- 1) мезосомы
- 2) хлоросомы
- 3) аэросомы

3. Фотосинтезирующей структурой эукариот являются:

- 1) мезосомы
- 2) митохондрии
- 3) хлоропласты
- 4) хроматофоры

4. Элементарной структурной и функциональной фотосинтетической единицей мембран тилакоидов является:

- 1) хлоропласт
- 2) грана
- 3) квантосома

5. Отметить общие признаки хлоропластов и митохондрий:

- 1) размер
- 2) содержание ДНК, РНК, рибосом
- 3) количество на клетку
- 4) окружены двумя мембранами

6. Темновая стадия фотосинтеза протекает:

- 1) в тилакоидном матриксе
- 2) в строме
- 3) в квантосоме

7. Основным фотохимически активным пигментом квантосом является:

- 1) хлорофилл *a*
- 2) хлорофилл *b*
- 3) каротиноиды
- 4) фикобилины

8. Установить соответствие:

циклический тетрапиррол

содержит компоненты

- 1) гем
- 2) хлорофилл
- а) Mg
- б) Fe
- в) фитол
- г) свободную пропионовую кислоту

9. Хлорофилл *a* имеет максимум поглощения при длине волны:

- 1) 400 нм
- 2) 660 нм
- 3) 680 нм
- 4) 800 нм
- 5) 870 нм

10. Максимум поглощения вспомогательных фотосинтетических пигментов находится в диапазоне:

- 1) 200—300 нм
- 2) 400—700 нм
- 3) 700—800 нм

11. Установить соответствие:

фотосистема (ФС)

*хлорофилл *a* поглощает при длине волны*

- 1) ФС I
- 2) ФС II
- а) 700 нм
- б) 680—683 нм

12. Переносчиками электронов, испускаемых реакционным центром фотосистемы I при фотовозбуждении, является:

- 1) ферредоксин
- 2) цитохром b_{559}
- 3) пластохинон
- 4) пластоцианин
- 5) флавопротеид

13. Структурным аналогом убихинона является:

- 1) цитохром b_{559}
- 2) ферредоксин
- 3) пластоцианин
- 4) пластохинон

14. Указать процесс, который не относится к реакциям световой фазы:

- 1) фотоокисление воды
- 2) фиксация CO_2 рибулозодифосфатом
- 3) фотовосстановление НАДФ⁺
- 4) фотофосфорилирование
- 5) фотовозбуждение хлорофилла

15. Поглощение световых квантов фотосистемой II вызывает:

- 1) фотовосстановление НАДФ⁺
- 2) фотофосфорилирование
- 3) фотоокисление воды

16. Перенос электронов между фотосистемами I и II в сопрягающей мембране тилакоидов осуществляется с участием:

- 1) флавопротеида
- 2) цитохрома *a*
- 3) пластоцианина
- 4) убихинона
- 5) ферредоксина

17. В ходе циклического фотофосфорилирования происходит:
- 1) восстановление НАДФН
 - 2) восстановление НАДН
 - 3) синтез АТФ
 - 4) фотоокисление воды
18. Каталитически активный субкомплекс (F_1) H^+ -АТФ-синтетазы хлоропластов ориентирован:
- 1) в строму
 - 2) в тилакоидный матрикс
19. Установить соответствие:
- | | |
|--|---|
| <i>направление движения протонов через субкомплекс CF_0</i> | <i>тип H^+-АТФ-синтетазы</i> |
| 1) из матрикса наружу | а) митохондриальная |
| 2) в матрикс | б) хлоропластная |
20. H^+ -АТФ-синтетаза хлоропластов осуществляет синтез 1 молекулы АТФ при поступлении в ее активный центр протонов в количестве:
- 1) одного
 - 2) двух
 - 3) трех
 - 4) четырех
21. Установить соответствие:
- | | |
|--|---------------------------------|
| <i>доля ΔpH в генерировании электрохимического потенциала</i> | <i>тип сопрягающей мембраны</i> |
| 1) 1/5 | а) внутренняя митохондрий |
| 2) 2/3 | б) тилакоидная хлоропластов |
22. Ассимиляция CO_2 у зеленых растений происходит путем карбоксилирования:
- 1) 1,3-дифосфоглицерата
 - 2) ксилулозо-5-фосфата
 - 3) рибулозо-1,5-дифосфата
 - 4) рибулозо-5-фосфата
23. Укажите фермент пентозомонофосфатного пути окисления глюкозы, катализирующий также реакцию цикла Кальвина:
- 1) лактоназа
 - 2) трансальдолаза
 - 3) транскетолаза
 - 4) глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа
24. Установить соответствие:
- | | |
|--|--|
| <i>метаболиты реакций цикла Кальвина</i> | <i>являются также метаболитами процессов</i> |
| 1) глицеральдегид-3-фосфат | а) гликолиза |
| 2) фруктозо-6-фосфат | б) пентозомонофосфатного пути |
| 3) ксилулозо-6-фосфат | |
| 4) эритрозо-4-фосфат | |
| 5) дигидроксиацетон-3-фосфат | |
25. На синтез одной молекулы глюкозы в реакции темновой фазы фотосинтеза затрачено АТФ:
- 1) 3
 - 2) 6
 - 3) 18
 - 4) 12
26. Донором восстановительных реакций в процессе фотосинтеза глюкозы является:
- 1) НАДН
 - 2) $ФАДН_2$
 - 3) НАДФН
 - 4) $ФМНН_2$
27. Регуляторным ферментом в процессе фотосинтеза глюкозы по C_3 -пути является:
- 1) пируваткарбоксилаза
 - 2) ацетил-КоА-карбоксилаза
 - 3) фосфоеноилкарбоксикиназа
 - 4) рибулозо-1,5-дифосфаткарбоксилаза

28. Установить соответствие:

*аллостерический эффектор регуляторного действия фермента фотосинтеза
рибулозо-1,5-дифосфаткарбоксилазы*

- | | |
|--------------------------|------------------|
| 1) фруктозо-1,6-дифосфат | а) активация |
| 2) фруктозо-6-фосфат | б) ингибирование |

29. В ассимиляции CO_2 по механизму C_4 -пути фотосинтеза участвуют:

- | | |
|----------------------|---------------|
| 1) оксалоацетат | 3) малат |
| 2) фосфоеноилпируват | 4) ацетил-КоА |

30. Донором CO_2 в переключении C_4 -пути фотосинтеза на C_3 -путь является:

- | | |
|-----------------|----------------------|
| 1) оксалоацетат | 3) пируват |
| 2) малат | 4) фосфоеноилпируват |

31. Указать, какой фермент отсутствует в животных тканях:

- | | |
|--------------------------------------|----------------------------------|
| 1) рибулозо-1,5-дифосфаткарбоксилаза | 3) малатдегидрогеназа |
| 2) альдолаза | 4) фосфоеноилпируваткарбоксилаза |

32. Главной транспортной формой углеводов в растениях является:

- | | |
|-------------|-------------|
| 1) глюкоза | 3) фруктоза |
| 2) сахароза | 4) мальтоза |

33. Для замыкания гликозидной связи при синтезе сахарозы необходимо свободной энергии (кДж):

- | | | | |
|---------|----------|----------|----------|
| 1) 5—10 | 2) 10—15 | 3) 20—30 | 4) 45—50 |
|---------|----------|----------|----------|

34. Донорами гликозильных остатков для синтеза ди- и полисахаридов являются:

- | | |
|-------------------------|------------------------|
| 1) нуклеозиды | 3) нуклеозидтрифосфаты |
| 2) нуклеозидмонофосфаты | 4) нуклеозиддифосфаты |

35. Число мономерных единиц в затравочных олигосахаридах должно быть не менее:

- | | | | |
|------|------|------|-------|
| 1) 3 | 2) 4 | 3) 8 | 4) 10 |
|------|------|------|-------|

Глава 17

1. Функцией углеводов не является:

- | | |
|----------------|-------------------|
| 1) защитная | 4) энергетическая |
| 2) резервная | 5) каталитическая |
| 3) структурная | |

2. Углеводы не входят в состав:

- | | |
|-------------------|-----------------------|
| 1) гликопротеинов | 3) гликолипопротеинов |
| 2) фосфолипидов | 4) нуклеопротеинов |

3. Моносахариды являются производными:

- 1) гидроксикарбоновых кислот
- 2) алифатических карбоновых кислот
- 3) многоатомных спиртов, содержащих карбонильную группу
- 4) ароматических карбоновых кислот
- 5) циклических многоатомных спиртов

4. Природные моносахариды обладают свойствами:

- | | |
|-------------------|----------------------|
| 1) редуцирующими | 3) гидроксилирующими |
| 2) окислительными | 4) каталитическими |

5. Природные моносахара относятся:

- | | |
|-------------|-------------|
| 1) к L-ряду | 2) к D-ряду |
|-------------|-------------|

6. α- и β-аномеры углеводов различаются конфигурацией при:

- 1) последнем хиральном атоме углерода
- 2) полуацетальном атоме углерода
- 3) втором атоме углерода, считая от альдегидной или кетогруппы

7. Установить соответствие:

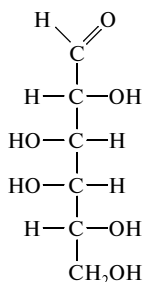
группы

- 1) альдозы
- 2) кетозы

углевод

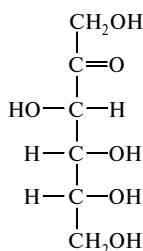
- а) рибоза
- б) ксилулоза
- в) фруктоза
- г) эритроза
- д) галактоза

8. Назвать углевод



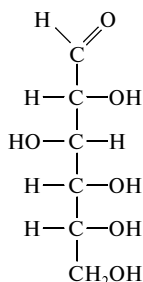
- 1) D-фруктоза
- 2) D-глюкоза
- 3) D-галактоза
- 4) D-манноза
- 5) D-ксилоулоза

9. Назвать углевод



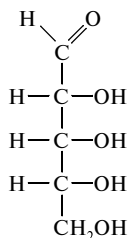
- 1) D-ксилоза
- 2) D-арабиноза
- 3) D-глюкоза
- 4) D-фруктоза
- 5) D-галактоза

10. Назвать углевод



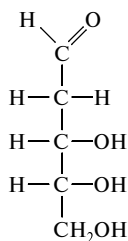
- 1) D-рибулоза
- 2) D-дезоксирибоза
- 3) D-фруктоза
- 4) D-галактоза
- 5) D-глюкоза

11. Назвать углевод



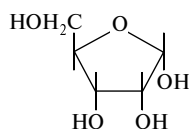
- 1) D-глюкоза
- 2) D-рибоза
- 3) D-дезоксирибоза
- 4) D-галактоза
- 5) D-фруктоза

12. Назвать углевод



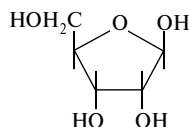
- 1) D-рибулоза
- 2) D-фруктоза
- 3) D-глюкоза
- 4) 2-дезоксид-рибоза
- 5) D-галактоза

13. Назвать углевод



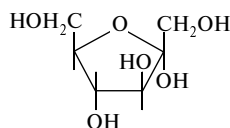
- 1) α-D-рибофураноза
- 2) β-D-рибофураноза
- 3) α-D-фруктофураноза
- 4) β-D-галактопираноза
- 5) α-D-глюкопираноза

14. Назвать углевод



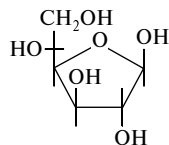
- 1) β-D-дезоксирибофураноза
- 2) β-D-рибофураноза
- 3) α-D-фруктофураноза
- 4) β-D-галактопираноза
- 5) α-D-глюкопираноза

15. Назвать углевод



- 1) α-D-рибофураноза
- 2) β-D-рибофураноза
- 3) α-D-фруктофураноза
- 4) β-D-галактопираноза
- 5) α-D-глюкопираноза

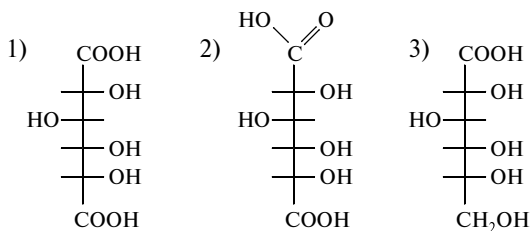
16. Назвать углевод



- 1) β-D-рибофураноза
- 2) β-D-дезоксирибофураноза
- 3) α-D-фруктофураноза
- 4) β-D-глюкофураноза
- 5) β-D-галактопираноза

17. Установить соответствие:

кислота

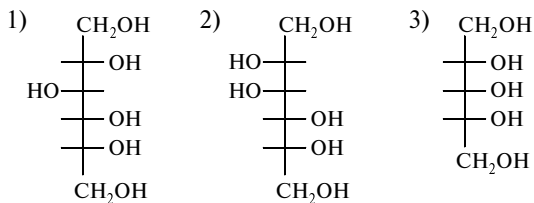


название

- а) D-глюкуроновая
б) D-глюконовая
в) D-глюкаровая

18. Установить соответствие:

спирт



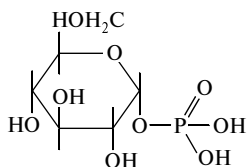
название

- а) маннит
б) рибит
в) сорбит

19. Аминосакхара и их производные выполняют функцию:

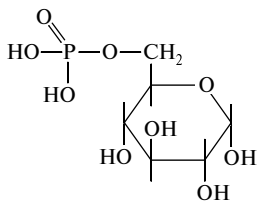
- | | |
|-------------------|-------------------|
| 1) энергетическую | 3) структурную |
| 2) рецепторную | 4) каталитическую |

20. Назвать углевод



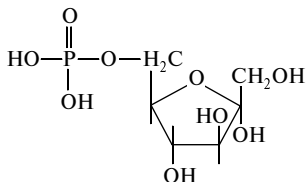
- 1) α -D-фруктозо-6-фосфат
2) α -D-глюкозо-6-фосфат
3) α -D-глюкозо-1-фосфат
4) α -D-фруктозо-1-фосфат

21. Назвать углевод



- 1) α -D-глюкозо-6-фосфат
2) α -D-фруктозо-1-фосфат
3) α -D-фруктозо-6-фосфат
4) α -D-глюкозо-1-фосфат

22. Назвать углевод

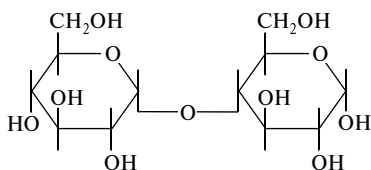


- 1) α -D-глюкозо-1-фосфат
2) α -D-фруктозо-6-фосфат
3) α -D-галактозо-6-фосфат
4) α -D-фруктозо-1-фосфат

23. D-Фруктоза входит в состав:

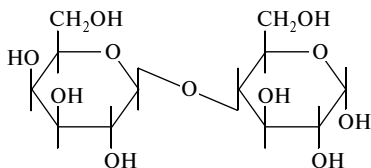
- 1) мальтозы 2) сахарозы 3) лактозы

24. Назвать углевод



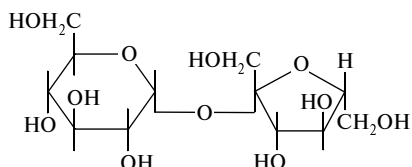
- 1) сахароза
- 2) лактоза
- 3) мальтоза

25. Назвать углевод



- 1) мальтоза
- 2) сахароза
- 3) лактоза

26. Назвать углевод



- 1) лактоза
- 2) мальтоза
- 3) сахароза

27. При гидролизе сахарозы образуются:

- | | |
|---|------------------------------------|
| 1) два остатка D-глюкозы | 4) D-глюкоза и D-манноза |
| 2) α -D-глюкоза и β -D-галактоза | 5) два остатка α -D-маннозы |
| 3) D-глюкоза и D-фруктоза | |

28. При кислотном гидролизе лактозы образуются:

- | | |
|---|--|
| 1) два остатка α -D-глюкозы | 4) α -D-глюкоза и α -D-манноза |
| 2) α -D-глюкоза и β -D-галактозы | 5) два остатка α -D-маннозы |
| 3) α -D-глюкоза и α -D-фруктоза | |

29. Установить соответствие:

дисахарид

свойства дисахаридов

- | | |
|---------------|------------------------|
| 1) мальтоза | а) восстанавливающие |
| 2) сахароза | б) невосстанавливающие |
| 3) целлобиоза | |
| 4) лактоза | |
| 5) трегалоза | |

30. Остаток фруктозы входит в состав:

- | | |
|--------------|--------------|
| 1) гликогена | 3) инулина |
| 2) крахмала | 4) целлюлозы |

31. К гетерополисахаридам относятся:

- | | |
|--------------|-------------------------|
| 1) гепарин | 4) гликоген |
| 2) арабиноза | 5) гиалуроновая кислота |
| 3) сахароза | |

32. К гомополисахаридам относятся:

- 1) крахмал, гликоген, целлюлоза
- 2) гликоген, гепарин, крахмал
- 3) гиалуроновая кислота, гликоген, гепарин

33. При полном гидролизе целлюлозы образуется:
- 1) β -D-глюкоза
 - 2) α -D-глюкоза
 - 3) α -D-фруктоза
 - 4) α -D-фруктозо-6-фосфат
34. К линейным полисахаридам относится:
- 1) гликоген
 - 2) амилоза
 - 3) амилопектин
35. В кишечнике животных отсутствует фермент, гидролизующий связи:
- 1) $\alpha(1 \rightarrow 4)$ -гликозидные
 - 2) $\beta(1 \rightarrow 4)$ -гликозидные
36. К структурным полисахаридам не относится:
- 1) кератосульфат
 - 2) гиалуроновая кислота
 - 3) гликоген
 - 4) целлюлоза
 - 5) хондроитинсульфат

Глава 18

1. Расщепление гликогена и крахмала в желудочно-кишечном тракте катализируют ферменты:
- 1) β -амилаза
 - 2) α -амилаза
 - 3) α -амилаза, мальтаза
 - 4) γ -амилаза
 - 5) β -амилаза, мальтаза
2. Основными источниками углеводов в пище человека являются:
- 1) гликоген
 - 2) эластин
 - 3) целлюлоза
 - 4) коллаген
 - 5) крахмал
 - 6) фибрины
3. Все известные амилазы ЖКТ осуществляют расщепление:
- 1) α -1,6-гликозидных связей
 - 2) β -1,6-гликозидных связей
 - 3) α -1,4-гликозидных связей
 - 4) β -1,4-гликозидных связей
4. Расщепление α -(1 \rightarrow 6)-гликозидной связи в полисахаридах катализируется ферментами:
- 1) гликогенфосфорилазы
 - 2) α -(1 \rightarrow 6)-глюкантрансферазой
 - 3) α -(1 \rightarrow 6)-глюкозидазой
 - 4) α -амилазой
5. Глюкозо-6-фосфат образуется в результате реакций:
- 1) изомеризации фруктозо-6-фосфата под действием глюкозо-6-фосфатизомеразы
 - 2) окисления 6-фосфоглюконата
 - 3) расщепления гликогена при действии гликогенфосфорилазы
 - 4) взаимодействия глюкозы и АТФ в присутствии фермента глюкокиназы или гексокиназы
 - 5) при действии транскетолазы
6. Установить соответствие:
- | | |
|-----------------|--------------------------------|
| <i>гликолиз</i> | <i>конечный продукт</i> |
| 1) аэробный | а) лактат |
| 2) анаэробный | б) НАДН \cdot H ⁺ |
| | в) пируват |
| | г) H ₂ O |
| | д) АТФ |

7. Установить соответствие:

метаболиты гликолиза

- 1) 1,3-дифосфоглицерат
- 2) НАДН • Н⁺
- 3) НАД⁺

функция

- а) окисляет 3-фосфоглицеральдегид
- б) содержит макроэргическую связь
- в) восстанавливает пируват

8. Установить соответствие:

фермент

- 1) гексокиназа
- 2) гликогенфосфорилаза
- 3) альдолаза

катализируемая реакция

- а) расщепление фруктозо-1,6-фосфата на две триозы
- б) расщепление α-1,4-связи в молекуле гликогена
- в) фосфорилирование глюкозы

9. Установить соответствие:

фермент

- 1) фосфоглицераткиназа
- 2) фосфоглицератмутаза
- 3) гликогенфосфорилаза

катализируемая реакция

- а) изомеризация 3-фосфоглицерата в 2-фосфоглицерат
- б) расщепление гликогена
- в) образование 3-фосфоглицерата из 1,3-дифосфоглицерата

10. В процессе гликолиза необратимыми являются реакции образования:

- 1) 3-фосфоглицеральдегида
- 2) фруктозо-1,6-дифосфата
- 3) глюкозо-6-фосфата
- 4) 1,3-дифосфоглицерата
- 5) пирувата
- 6) фруктозо-6-фосфата

11. Окисление 3-фосфоглицеринового альдегида сопровождается:

- 1) расходом АТФ
- 2) синтезом АТФ
- 3) окислением НАДН • Н⁺
- 4) восстановлением НАДН • Н⁺
- 5) синтезом ГТФ

12. Восстановление НАД⁺ в процессе гликолиза происходит в реакции:

- 1) окисления глицеральдегид-3-фосфата
- 2) образования глюкозо-6-фосфата
- 3) образования 3-фосфоглицерата
- 4) превращения 2-фосфоглицерата
- 5) образования пирувата

13. В процессе гликолиза АТФ расходуется в реакциях образования:

- 1) фруктозо-6-фосфата
- 2) глюкозо-6-фосфата
- 3) фруктозо-1,6-дифосфата
- 4) 3-фосфоглицеральдегида
- 5) 3-фосфоглицерата

14. В процессе гликолиза АТФ образуются в реакциях превращения:

- 1) 1,3-дифосфоглицерата
- 2) 2-фосфоеноилпирувата
- 3) 3-фосфоглицерата
- 4) 3-фосфоглицеральдегида
- 5) 2-фосфоглицерата

15. Образование 2-фосфоглицерата в процессе гликолиза катализирует фермент:

- 1) фосфоглицератмутаза
- 2) триозофосфатизомераза
- 3) глицеролфосфатдегидрогеназа
- 4) глицеральдегидфосфатдегидрогеназа

16. 1,3-Дифосфоглицерат образуется в процессе гликолиза в реакции:
- 1) гликолитической оксиредукции
 - 2) субстратного фосфорилирования
 - 3) изомеризации
 - 4) дегидрирования
 - 5) окислительного фосфорилирования
17. Для превращения фруктозо-6-фосфата во фруктозо-1,6-дифосфат под влиянием фосфофруктокиназы необходим:
- 1) НАДФН · Н⁺
 - 2) коэнзим А
 - 3) АДФ
 - 4) НАД⁺
 - 5) НАДН · Н⁺
 - 6) АТФ
18. НАД⁺ является коферментом:
- 1) гликогенфосфорилазы
 - 2) альдолазы
 - 3) енолазы
 - 4) D-глицеральдегидфосфатдегидрогеназы
 - 5) пируваткиназы
19. Превращение 2-фосфоглицерата в 2-фосфоенолпируват катализирует:
- 1) енолаза
 - 2) триозофосфатизомераза
 - 3) пируваткиназа
 - 4) D-глицеральдегидфосфатдегидрогеназа
 - 5) фосфофруктокиназа
20. Дегидратация 2-фосфоглицерата сопровождается:
- 1) образованием АТФ
 - 2) восстановлением НАДН · Н⁺
 - 3) снижением энергетического уровня фосфатной связи в 2-фосфоенолпирувате
 - 4) повышением энергетического уровня фосфатной связи в 2-фосфоенолпирувате за счет внутримолекулярного окисления—восстановления
21. Установить соответствие:
- | <i>процесс</i> | <i>энергетический баланс (количество АТФ) окисления молекулы глюкозы</i> |
|------------------------|--|
| 1) аэробный гликолиз | а) 2 |
| 2) анаэробный гликолиз | б) 8 |
| 3) гликогенолиз | в) 3 |
22. Установить соответствие:
- | <i>гликолиз</i> | <i>путь синтеза АТФ</i> |
|-----------------|-----------------------------------|
| 1) аэробный | а) окислительное фосфорилирование |
| 2) анаэробный | б) субстратное фосфорилирование |
| | в) оба пути |
23. Образование этанола из пирувата при спиртовом брожении катализируют ферменты:
- 1) пируватдекарбоксилаза
 - 2) фосфоенолпируватгидратаза (енолаза)
 - 3) глицеральдегидфосфатдегидрогеназа
 - 4) фосфоглицераткиназа
 - 5) алкогольдегидрогеназа
24. Декарбоксилирование пирувата при спиртовом брожении требует присутствия:
- 1) тиаминпирофосфата
 - 2) НАД⁺
 - 3) биотина
 - 4) коэнзима А
25. В реакциях расщепления гликогена и образования глюкозо-6-фосфата участвуют ферменты:
- 1) глюкокиназа
 - 2) фосфопроteinкиназа
 - 3) гликогенфосфорилаза
 - 4) фосфоглюкомутаза
 - 5) фосфофруктокиназа

26. Гликогенфосфорилаза катализирует реакцию:
- 1) образования свободной глюкозы
 - 2) расщепления α -(1 \rightarrow 6)-гликозидной связи
 - 3) образования глюкозо-1-фосфата
 - 4) образования глюкозо-6-фосфата
27. Для активации фосфорилазы *b* необходимо затратить количество АТФ:
- 1) 1
 - 2) 2
 - 3) 3
 - 4) 4
 - 5) 6
28. Одним из факторов активации гликогенфосфорилазы *b* является:
- 1) тиаминпирофосфат
 - 2) липоевая кислота
 - 3) *S*-аденозилметионин
 - 4) цАМФ
 - 5) цГМФ
29. При гликогенолизе АТФ расходуется в реакции:
- 1) образования глюкозо-1-фосфата
 - 2) образования глюкозо-6-фосфата
 - 3) активации фосфорилазы *b*
30. Указать фермент, активирующий гликогенфосфорилазу *b*:
- 1) аденилатциклаза
 - 2) киназа фосфорилазы
 - 3) фосфатаза гликогенфосфорилазы
 - 4) цАМФ-зависимая протеинкиназа
31. Указать биологические функции пентозофосфатного пути окисления глюкозы:
- 1) синтез 12 молекул АТФ
 - 2) генерирование НАДН \cdot H^+
 - 3) генерирование НАДФН \cdot H^+
 - 4) образование рибозо-5-фосфата
 - 5) включение промежуточных метаболитов в гликолиз
32. Восстановленный в пентозофосфатном пути НАДФН \cdot H^+ :
- 1) используется в цитозоле на восстановительные синтезы
 - 2) является донором водорода в цепи дыхательных ферментов митохондрий
 - 3) восстанавливает НАД $^+$ до НАДН \cdot H^+
 - 4) восстанавливает глутатион
 - 5) участвует в процессах глюконеогенеза
33. Превращение глюкозо-6-фосфата в 6-фосфоглюконат катализируют в пентозофосфатном пути окисления глюкозы ферменты:
- 1) глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа и фосфоглюкоизомеразы
 - 2) 6-фосфоглюконатдегидрогеназа
 - 3) глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа
 - 4) глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа и лактоназа
 - 5) глюкозо-6-фосфатаза
34. Восстановление НАДФН \cdot H^+ в пентозофосфатном цикле происходит в реакциях образования:
- 1) 6-фосфоглюконо- δ -лактона
 - 2) рибулозо-5-фосфата
 - 3) седогептулозо-7-фосфата
 - 4) ксилулозо-5-фосфата
 - 5) глицеральдегида-3-фосфата
35. Перенос остатка диоксиацетона от седогептулозо-7-фосфата на глицеральдегид-3-фосфат происходит в реакции:
- 1) транскетолазной
 - 2) трансфосфорилирования
 - 3) трансальдолазной
 - 4) трансаминирования
 - 5) трансгликозилирования

36. Седогептулозо-7-фосфат и D-глицеральдегид-3-фосфат образуется в процессе реакции:

- | | |
|--------------------------|--------------------------|
| 1) трансаминирования | 4) транскетолазной |
| 2) трансгликозилирования | 5) трансфосфорилирования |
| 3) трансальдолазной | |

37. Установить соответствие:

*в трансферазных реакциях
пентозофосфатного пути
участвуют*

метаболиты

- | | |
|---------------------------------------|----------------------------|
| 1) донор C ₂ -фрагмента | а) рибозо-5-фосфат |
| 2) акцептор C ₂ -фрагмента | б) седогептулозо-7-фосфат |
| 3) донор C ₃ -фрагмента | в) ксилулозо-5-фосфат |
| 4) акцептор C ₃ -фрагмента | г) глицеральдегид-3-фосфат |

38. В переключении пентозофосфатного пути и гликолиза регуляторную роль выполняет:

- | | | |
|--------------------|----------------------|----------------------|
| 1) рибозо-5-фосфат | 2) эритрозо-4-фосфат | 3) фруктозо-6-фосфат |
|--------------------|----------------------|----------------------|

39. Регуляторный фермент пентозофосфатного пути:

- | | |
|-------------------|----------------------------------|
| 1) транскетолаза | 3) глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа |
| 2) трансальдолаза | 4) лактоназа |

40. Активатором регуляторного фермента пентозофосфатного пути является:

- | | |
|----------------------|---------------------------|
| 1) глюкозо-6-фосфат | 3) НАДФН · Н ⁺ |
| 2) НАДФ ⁺ | 4) 6-фосфоглюконат |

Глава 19

1. К общим путям катаболизма относятся:

- 1) пентозомонофосфатный путь
- 2) окислительное декарбоксилирование пирувата
- 3) гликолиз
- 4) цикл трикарбоновых кислот

2. Коферментами мультиферментного пируватдегидрогеназного комплекса являются:

- 1) ФМН, тиаминпирофосфат, коэнзим А
- 2) тиаминпирофосфат, липоевая кислота, ФАД
- 3) липоевая кислота, ФАД, коэнзим А
- 4) липоевая кислота, ФАД, НАД⁺, тиаминпирофосфат, коэнзим А
- 5) тиаминпирофосфат, липоевая кислота, НАД⁺

3. Коэнзим А выполняет функцию переносчика:

- | | |
|---------------------|----------------------|
| 1) метильной группы | 4) формильной группы |
| 2) ацильных групп | 5) аминогруппы |
| 3) фосфатных групп | |

4. Установить соответствие:

*фермент пируватдегидрогеназного
комплекса*

кофермент

- | | |
|--------------------------------|---------------------|
| 1) пируватдегидрогеназа | а) липоевая кислота |
| 2) дигидролипоеилтрансацилаза | б) ФАД |
| 3) дигидролипоеилдегидрогеназа | в) тиаминпирофосфат |

5. При окислительном декарбоксилировании из пирувата образуется:

- | | |
|---------------------------|---------------------|
| 1) цитрат | 4) ацетил-коэнзим А |
| 2) α -кетоглутарат | 5) пропионат |
| 3) ацетилфосфат | |

6. Окислительное декарбоксилирование пирувата сопровождается образованием:

- | | |
|------------------------------|------------------------------|
| 1) 1 моль АТФ | 4) 2 моль НАДН \cdot H^+ |
| 2) 2 моль АТФ | 5) 3 моль НАДН \cdot H^+ |
| 3) 1 моль НАДН \cdot H^+ | |

7. Установить соответствие:

регуляция пируватдегидрогеназного комплекса

аллостерические эффекторы

- | | | |
|------------------|------------|---------------|
| 1) ингибирование | а) пируват | д) НАД $^+$ |
| 2) активация | б) АТФ | е) ацетил-КоА |
| | в) HS-КоА | ж) Ca^{2+} |
| | г) НАДН | |

8. В аэробной стадии катаболизма углеводов различают следующие главные этапы:

- 1) образование ацетил-коэнзима А, цикл трикарбоновых кислот, клеточное дыхание
- 2) образование ацетил-коэнзима А, цикл трикарбоновых кислот
- 3) образование этанола, клеточное дыхание

9. Цикл трикарбоновых кислот в процессах катаболизма выполняет роль:

- 1) специфического пути окисления аминокислот и липидов
- 2) общего пути катаболизма
- 3) специфического пути окисления углеводов

10. Основной функцией цикла трикарбоновых кислот является окисление:

- | | |
|-------------|----------------------|
| 1) пирувата | 3) ацетил-коэнзима А |
| 2) ацетата | 4) лактата |

11. Установить соответствие:

фермент

кофермент

- | | |
|------------------------------|---------------------|
| 1) сукцинатдегидрогеназа | а) ФМН |
| 2) пируватдекарбоксилаза | б) ТПФ |
| 3) изоцитратдегидрогеназа | в) ФАД |
| 4) НАДН:КоQ-оксидоредуктаза | г) НАД $^+$ |
| 5) дегидролипоилтрансацилаза | д) липоевая кислота |

12. Реакцию конденсации ацетил-коэнзима А с оксалоацетатом катализирует фермент:

- | | |
|-------------------|----------------------------------|
| 1) трансальдолаза | 3) ацетил-коэнзим А-карбоксилаза |
| 2) транскетолаза | 4) цитратсинтаза |

13. Коферментами мультиферментного α -кетоглутарат-дегидрогеназного комплекса являются:

- 1) липоевая кислота, ФАД, НАД $^+$, тиаминпирофосфат, коэнзим А
- 2) тиаминпирофосфат, липоевая кислота, ФАД
- 3) липоевая кислота, ФАД, коэнзим А
- 4) тиаминпирофосфат, липоевая кислота, НАД $^+$

14. В цикле трикарбоновых кислот в реакцию субстратного фосфорилирования вступает:

- | | |
|---------------------------|---------------------|
| 1) сукцинат | 4) малат |
| 2) сукцинил-коэнзим А | 5) ацетил-коэнзим А |
| 3) α -кетоглутарат | |

15. В цикле трикарбоновых кислот декарбоксилированию подвергаются субстраты:

- | | |
|---------------------------|------------|
| 1) пируват | 4) фумарат |
| 2) изоцитрат | 5) цитрат |
| 3) α -кетоглутарат | |

16. Дегидрирование в цикле трикарбоновых кислот происходит в реакциях образования:

- | | |
|-----------------------|----------------------------|
| 1) изоцитрата | 5) α -кетоглутарата |
| 2) сукцинил-коэнзим А | 6) цитрата |
| 3) оксалоацетата | 7) сукцината |
| 4) фумарата | 8) L-малата |

17. Гидратация субстрата в цикле трикарбоновых кислот происходит в реакциях превращения:

- | | |
|----------------------------------|-----------------------------|
| 1) цитрата в цисаконитат | 4) оксалоацетата в цитрат |
| 2) сукцинил-коэнзим А в сукцинат | 5) цисаконитата в изоцитрат |
| 3) фумарата в малат | |

18. Установить соответствие:

- | | |
|---------------------------|---|
| <i>фермент</i> | <i>катализирует реакцию образования</i> |
| 1) изоцитратдегидрогеназа | а) сукцината |
| 2) тиокиназа | б) цитрата |
| 3) цитратсинтаза | в) α -кетоглутарата |
| 4) малатдегидрогеназа | г) малата |
| 5) фумараза | д) оксалоацетата |

19. Установить соответствие:

- | | |
|------------------------|---|
| <i>фермент</i> | <i>катализирует реакцию образования</i> |
| 1) аконитаза | а) изоцитрата |
| 2) пируваткарбоксилаза | б) цитрата |
| 3) цитратсинтаза | в) лактата |
| 4) лактатдегидрогеназа | г) оксалоацетата |

20. При полном окислении D-глюкозы до CO_2 и H_2O образуется количество АТФ:

- | | | | | |
|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1) 12 | 2) 24 | 3) 30 | 4) 36 | 5) 38 |
|-------|-------|-------|-------|-------|

21. Наибольшее количество АТФ образуется в процессе:

- 1) окислительного декарбоксилирования пирувата
- 2) гликолиза
- 3) цикла трикарбоновых кислот
- 4) пентозомонофосфатного пути

22. Установить соответствие:

- | | |
|--|---|
| <i>процессы</i> | <i>количество синтезированных молекул АТФ</i> |
| 1) Сукцинат \longrightarrow Оксалоацетат | а) 12 |
| 2) Ацетил-КоА $\longrightarrow 2\text{CO}_2 + 4\text{H}_2\text{O}$ | б) 15 |
| 3) Пируват $\longrightarrow 3\text{CO}_2 + 5\text{H}_2\text{O}$ | в) 3 |
| 4) Пируват \longrightarrow Ацетил-КоА + $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$ | г) 5 |
| 5) Сукцинат \longrightarrow Фумарат | д) 2 |

23. Регуляторными ферментами в цикле трикарбоновых кислот являются:
- | | |
|--|---------------------------|
| 1) аконитаза | 4) изоцитратдегидрогеназа |
| 2) α -кетоглутаратдегидрогеназа | 5) цитратсинтаза |
| 3) сукцинатдегидрогеназа | |
24. Ингибиторами регуляторных ферментов цикла трикарбоновых кислот являются:
- | | | | | |
|------------|--------|---------------------|---------|---------------------|
| 1) глюкоза | 2) АТФ | 3) Ca^{2+} | 4) НАДН | 5) НАД ⁺ |
|------------|--------|---------------------|---------|---------------------|
25. Гиповитаминоз какого витамина не влияет на скорость полного окисления пирувата:
- | | |
|-------------------------|----------------|
| 1) никотинамида | 4) рибофлавина |
| 2) пантотеновой кислоты | 5) тиамина |
| 3) биотина | |

Глава 20

1. Глюконеогенез в организме протекает:
- | | |
|-------------|------------------------------|
| 1) в мышцах | 4) в легких |
| 2) в сердце | 5) в корковом веществе почек |
| 3) в печени | |
2. В синтезе глюкозы могут быть использованы:
- | | |
|-----------------------------|--------------------------|
| 1) гликогенные аминокислоты | 4) высшие жирные кислоты |
| 2) кетогенные аминокислоты | 5) холестерол |
| 3) глицерол | |
3. Источниками углерода в глюкозе не являются:
- | | |
|---------------|------------------|
| 1) глицерол | 4) CO_2 |
| 2) ацетил-КоА | 5) оксалоацетат |
| 3) глутамат | |
4. Синтез 2-фосфоенолпирувата в процессе глюконеогенеза катализируют:
- | | |
|------------------------|-----------------------------------|
| 1) пируваткарбоксилаза | 4) фосфоенолпируваткарбоксикиназа |
| 2) пируваткиназа | 5) фосфопируватгидратаза |
| 3) енолаза | |
5. Превращение фруктозо-1,6-дифосфата во фруктозо-6-фосфат катализирует:
- | | |
|------------------------|-------------------|
| 1) альдолаза | 4) карбоксикиназа |
| 2) фруктозодифосфатаза | 5) пируваткиназа |
| 3) 6-фосфофруктокиназа | |
6. Образование глюкозы из глюкозо-6-фосфата катализирует:
- | | |
|----------------|------------------------|
| 1) фосфорилаза | 4) тиокиназа |
| 2) гексокиназа | 5) глюкозо-6-фосфатаза |
| 3) глюкокиназа | |
7. Пируваткарбоксилаза в качестве кофермента содержит:
- | | |
|---------------------|---------------------|
| 1) НАД ⁺ | 4) ФМН |
| 2) ФАД | 5) фолиевую кислоту |
| 3) биотин | |
8. В глюконеогенезе и гликолизе участвует фермент:
- | | |
|------------------|------------------------|
| 1) гексокиназа | 4) фосфофруктокиназа |
| 2) пируваткиназа | 5) пируваткарбоксилаза |
| 3) альдолаза | |

9. Превращение пирувата в фосфоенолпируват:

- | | |
|------------------------------|--|
| 1) протекает в цитозоле | 4) не включает реакцию карбоксилирования |
| 2) протекает в митохондриях | 5) протекает в цитозоле и в митохондриях |
| 3) требует затраты АТФ и ГТФ | |

10. Превращение глицерола в глюкозу:

- 1) не требует затраты АТФ
- 2) все реакции протекают в цитозоле
- 3) протекает только в жировой ткани
- 4) включает образование 1,3-дифосфоглицерата
- 5) участвует фермент фосфофруктокиназа

11. Ферменты фруктозо-1,6-дифосфатаза и глюкозо-1,6-дифосфатаза:

- 1) относятся к классу трансфераз
- 2) катализируют реакцию с образованием фосфорной кислоты
- 3) катализируют эндергоническую реакцию
- 4) локализованы в митохондриях

12. В животных клетках отсутствуют ферменты глиоксилатного цикла:

- | | |
|------------------|-----------------------|
| 1) аконитаза | 4) малатдегидрогеназа |
| 2) цитратсинтаза | 5) малатсинтаза |
| 3) изоцитратаза | |

13. Глюконеогенез активируется гормоном:

- | | |
|------------------|----------------|
| 1) вазопрессином | 4) инсулином |
| 2) глюкагоном | 5) адреналином |
| 3) тироксином | |

14. Регуляторными ферментами глюконеогенеза являются:

- | | |
|---------------------------|--------------------------------------|
| 1) фруктозо-6-дифосфатаза | 3) пируваткарбоксилаза |
| 2) альдолаза | 4) глицеральдегидфосфатдегидрогеназа |

15. Положительным аллостерическим эффектором пируваткарбоксилазы является:

- | | |
|---------------------|---------------------|
| 1) НАД ⁺ | 4) глюкозо-6-фосфат |
| 2) цАМФ | 5) CO ₂ |
| 3) ацетил-коэнзим А | |

16. Активация глюконеогенеза происходит при:

- | | |
|-----------------------------|---|
| 1) низкой концентрации АМФ | 3) низкой концентрации АТФ |
| 2) высокой концентрации АМФ | 4) низкой концентрации фруктозо-2,6-дифосфата |

17. В реакциях биосинтеза гликогена из фруктозо-1-фосфата принимают участие:

- | | |
|-------------------------|--------------------------------------|
| 1) фосфофруктоизомераза | 4) глюкозо-1-фосфатуридинтрансфераза |
| 2) фосфоглюкомутаза | 5) гликогенфосфорилаза |
| 3) гликогенсинтаза | 6) пируваткарбоксилаза |

18. Реакцию биосинтеза гликогена катализируют ферменты:

- | | |
|------------------------|---|
| 1) α-1,6-глюкозидаза | 4) фосфоглюкомутаза |
| 2) гликогенфосфорилаза | 5) α-глюканветвляющая глюкозилтрансфераза |
| 3) гликогенсинтетаза | |

19. Переносчиком гликозильных групп в реакции биосинтеза гликогена является:

- | | | | | |
|--------|--------|--------|--------|--------|
| 1) АТФ | 2) ГТФ | 3) АДФ | 4) УТФ | 5) УДФ |
|--------|--------|--------|--------|--------|

- 20. Фермент глюкозо-1-фосфатуридинтрансфераза катализирует реакцию превращения:**
- 1) глюкозо-1-фосфата в уридиндифосфатглюкозу
 - 2) уридиндифосфатглюкозы в гликоген
 - 3) гликогена с образованием глюкозо-1-фосфата
- 21. Регуляторным ферментом синтеза гликогена является:**
- 1) фосфоглюкомутаза
 - 2) глюкозо-1-фосфатуридинтрансфераза
 - 3) гликогенсинтаза
 - 4) гликогенфосфоорилаза
 - 5) α -1,6-глюкозидаза
- 22. Установить соответствие:**
- | <i>гормон</i> | <i>регуляторное действие</i> |
|---------------|--|
| 1) инсулин | а) активирует фосфатазу гликогенсинтазы |
| 2) адреналин | б) ускоряет распад гликогена в мышцах |
| | в) активирует реакцию $\text{цАМФ} \rightarrow \text{АМФ}$ |
| | г) активирует аденилатциклазу |
- 23. Гликогенсинтаза активируется:**
- 1) фосфорилированием
 - 2) дефосфорилированием
 - 3) фруктозо-1,6-дифосфатом
 - 4) глюкозо-6-фосфатом
- 24. Установить соответствие:**
- | <i>нарушение обмена углеводов</i> | <i>характеризуется</i> |
|-----------------------------------|---|
| 1) сахарный диабет | а) нарушением обмена гликогена |
| 2) гипогликемия | б) резким снижением содержания сахара в крови |
| 3) глюкозурия | в) повышением концентрации глюкозы в крови |
| 4) гликогенозы | г) присутствием глюкозы в моче |
- 25. Возникновение гипергликемии возможно при:**
- 1) понижении секреции глюкокортикоидов
 - 2) заболевании поджелудочной железы
 - 3) гипопаратиреозных заболеваниях
 - 4) голодании
 - 5) опухолях коры надпочечников
- 26. Гипогликемия не может возникнуть при:**
- 1) гипофункции щитовидной железы
 - 2) гипофункции поджелудочной железы
 - 3) голодании
 - 4) гиперфункции поджелудочной железы
 - 5) гипофункции паращитовидных желез

Глава 21

1. Липиды растворимы:

- 1) в воде
- 2) в хлороформе
- 3) в кислоте
- 4) в бензоле
- 5) в щелочном растворе

2. Ацилглицеролы относятся к группе:

- 1) глицерофосфолипидов
- 2) нейтральных липидов
- 3) гликолипидов
- 4) восков
- 5) терпенов

3. Сложные липиды наряду с остатками многоатомных спиртов и высших жирных кислот содержат:

- 1) полиизопреноиды
- 2) пептиды
- 3) азотсодержащие соединения, фосфорную кислоту, углеводы
- 4) полиаминополикарбоновые кислоты
- 5) полициклические спирты

4. Липиды в комплексе с белками входят в состав:

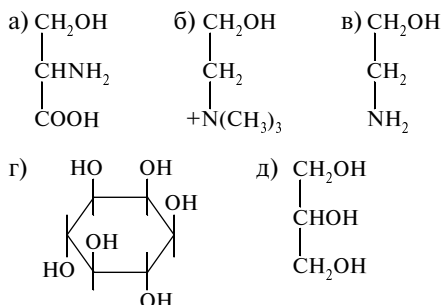
- 1) синтетазы высших жирных кислот
- 2) рибонуклеопротеидных комплексов
- 3) биомембран клетки
- 4) вируса табачной мозаики
- 5) мультферментных комплексов

5. Установить соответствие:

глицерофосфолипид

полярная группа глицерофосфолипида

- 1) фосфатидилхолин
- 2) фосфатидилэтанолмин
- 3) фосфатидилсерин
- 4) фосфатидилглицерол
- 5) фосфатидилинозитол



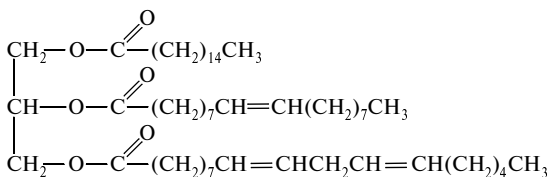
6. Мононенасыщенной жирной кислотой является:

- 1) линолевая
- 2) стеариновая
- 3) олеиновая
- 4) миристиновая
- 5) линоленовая

7. Указать, каким свойством не обладают природные высшие жирные кислоты:

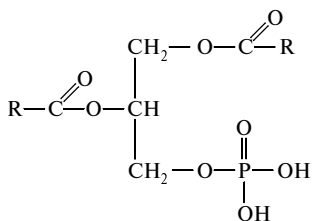
- 1) являются монокрбоновыми
- 2) содержат четное число углеродных атомов
- 3) двойную связь обычно содержит между 9 и 10 углеродными атомами
- 4) ненасыщенные кислоты имеют *транс*-конфигурацию
- 5) нерастворимы в воде

8. Назвать триаилглицерол



- 1) 1-стеароил, 2-олеиноил, 3-линолоилглицерол
- 2) 1-меристеноил, 2-линолоил, 3-олеиноилглицерол
- 3) 1-пальмитоил-2-нервоноил, 3-линоленоилглицерол
- 4) 1-лигноцероил-2-олеиноил-3-линоленоилглицерол
- 5) 1-пальмитоил, 2-олеиноил, 3-линоленоилглицерол

9. Назвать глицерофосфолипид



- 1) фосфатидилглицерол
- 2) фосфатидная кислота
- 3) ацетальфосфатид
- 4) фосфатидилинозитол
- 5) фосфатидилэтанолламин

10. Установить соответствие:

кислота

свойства, особенности

- | | |
|------------------|---|
| 1) арахидоновая | а) в жире человека содержится в наибольшем количестве |
| 2) пальмитиновая | б) имеет наиболее высокую температуру плавления |
| 3) олеиновая | в) имеет наиболее низкую температуру плавления |
| 4) стеариновая | г) должна поступать в организм человека с пищей |
| 5) линоленовая | д) содержит одну ненасыщенную связь |

11. Установить соответствие:

компонент фосфолипида

название

- | | |
|---------------------------------|----------------------|
| 1) неполярная часть фосфолипида | а) фосфорная кислота |
| 2) полярная часть фосфолипида | б) диацилглицерол |
| | в) холин |
| | г) этаноламин |
| | д) инозитол |

12. Сфингофосфолипиды и гликолипиды содержат общий компонент:

- | | |
|-------------|----------------------|
| 1) глицерол | 4) сфингозин |
| 2) холин | 5) фосфорную кислоту |
| 3) углевод | |

13. Наибольшее количество сфинголипидов содержится в мембранах клеток:

- | | |
|------------------|--------------|
| 1) жировой ткани | 3) селезенки |
| 2) нервной ткани | 4) легких |

14. Церамид представляет собой:

- | | |
|---|-------------------------------|
| 1) <i>N</i> -ацетилнейраминовую кислоту | 3) <i>N</i> -ацетилглюкозамин |
| 2) <i>N</i> -ацилсфингозин | 4) олигосахарид |

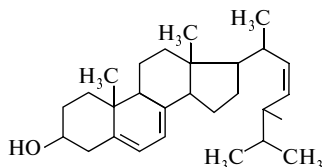
15. Олигосахариды и аminosахара входят в состав:

- | | |
|-------------------|-----------------|
| 1) цереброзидов | 4) стероидов |
| 2) кардиолипинов | 5) ганглиозидов |
| 3) сфингомиелинов | |

16. Стероиды являются производными:

- | | |
|---------------------------------|-----------------------|
| 1) фенантрена | 4) пергидрофенантрена |
| 2) циклопентана | 5) протопорфирина |
| 3) циклопентанпергидрофенатрена | |

17. Назвать стероид



- 1) холестерол
- 2) прогестерон
- 3) тестостерон
- 4) эргостерол
- 5) альдостерон

18. Установить соответствие:

стероид

- 1) холестерол
- 2) эргостерол

особенности структуры

- а) алифатическая цепь при С-17 из восьми углеродных атомов
- б) степень ненасыщенности выше
- в) всего число атомов углерода 27
- г) всего число атомов углерода 28

19. Холестерол не является предшественником:

- 1) желчных кислот
- 2) витамина D₂
- 3) кортикостероидных гормонов
- 4) половых гормонов
- 5) витамина D₃

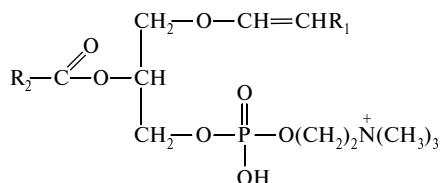
20. При окислении 1 г жира выделяется энергия в количестве (кДж):

- 1) 16,9
- 2) 220,0
- 3) 39,0
- 4) 75,0
- 5) 34,5

21. Иодное число является показателем:

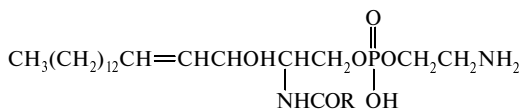
- 1) качества природного жира
- 2) содержания свободных жирных кислот
- 3) эстерифицированных жирных кислот
- 4) содержания в жире ненасыщенных жирных кислот

22. Назвать липоид



- 1) фосфатидилэтаноламин
- 2) фосфатидальхолин
- 3) фосфатидилсерин
- 4) фосфатидилглицерин
- 5) фосфатидилхолин

23. Назвать липоид



- 1) цереброзид
- 2) ганглиозид
- 3) сфингомиелин
- 4) кардиолипин
- 5) фосфатидилэтаноламин

24. Установить соответствие:

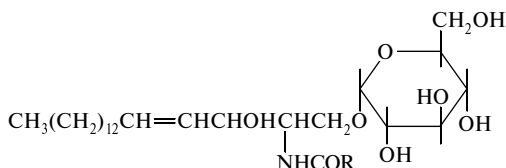
липид

- 1) триацетилглицерол
- 2) глицерофосфолипид
- 3) сфингомиелин
- 4) холестерол

функции, локализация

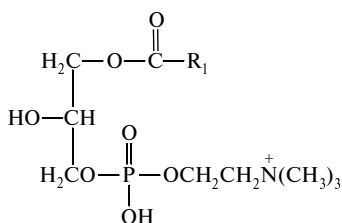
- а) предшественник витамина D₃
- б) локализован преимущественно в мембранах всех типов клеток
- в) основные компоненты мембран нервных клеток
- г) выполняет энергетическую функцию

25. Назвать липоид



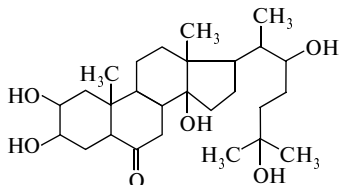
- 1) кардиолипин
- 2) лецитин
- 3) кефалин
- 4) сфингомиелин
- 5) гликолипид

26. Назвать липоид



- 1) фосфатидилэтаноламин
- 2) лизофосфатидилхолин
- 3) фосфатидилинозитол
- 4) фосфатидилхолин
- 5) лизофосфатидилсерин

27. Назвать стероид



- 1) эргостерол
- 2) ситостерол
- 3) стигмастерол
- 4) холестерол
- 5) α-экизон

28. Стерины находятся в крови обычно в форме:

- 1) свободных стеринов
- 2) комплекса с белками
- 3) эфиров стеринов и высших жирных кислот
- 4) конъюгатов с гидрофильными субстратами

29. Регуляторную функцию выполняют:

- 1) фосфолипиды
- 2) сфинголипиды
- 3) простагландины
- 4) стеролы
- 5) терпены

30. Установить соответствие:

кислота

*число атомов углерода: число двойных связей,
Δ — их положение*

- | | |
|------------------|------------------------|
| 1) стеариновая | а) 18: 1 (Δ 9) |
| 2) линолевая | б) 16: 0 |
| 3) олеиновая | в) 18: 3 (Δ 9, 12, 15) |
| 4) линоленовая | г) 18: 2 (Δ 9) |
| 5) пальмитиновая | д) 18: 0 |

Глава 22

1. В настоящее время общепризнанной моделью строения клеточной мембраны является:

- 1) триаминная
- 2) жидкостно-мозаичная
- 3) липидно-белкового ковра
- 4) липидного бислоя

2. Установить соответствие:

функция биомембран *определение*

- | | |
|-------------------|--|
| 1) разделительная | а) участие в химических превращениях различных веществ |
| 2) метаболическая | б) поддержание разности электрических потенциалов |
| 3) рецепторная | в) разделение внутри- и внеклеточного пространства |
| 4) электрическая | г) перенос веществ между различными компартментами и внеклеточной средой |
| 5) транспортная | д) участие в восприятии внешних стимулов |

3. Основными липидными компонентами (80—90%) плазматических биомембран являются:

- | | |
|-----------------------|-----------------------------|
| 1) нейтральные липиды | 4) стероиды |
| 2) гликолипиды | 5) свободные жирные кислоты |
| 3) фосфолипиды | |

4. Установить соответствие:

липид

состав, ориентация в мембране

- | | |
|--------------------|---|
| 1) цереброзид | а) является биполярным ионом |
| 2) фосфатидилхолин | б) содержится преимущественно в плазматической мембране |
| 3) холестерол | в) содержит углевод |
| 4) триацилглицерол | г) полностью погружен в мембрану |

5. Способность молекул фосфолипидов самопроизвольно формировать бислои в водных растворах обусловлена их:

- 1) гидрофобными свойствами
- 2) гидрофильными свойствами
- 3) амфифильными свойствами

6. Установить соответствие:

тип мембраны

соотношение белков и липидов

- | | |
|--------------------------------|----------|
| 1) цитоплазматическая | а) 3 : 1 |
| 2) внутренняя митохондриальная | б) 1 : 4 |
| 3) миелиновая | в) 1 : 1 |

7. К основным свойствам биомембран относятся:

- 1) динамичность, замкнутость
- 2) эластичность, асимметричность, замкнутость
- 3) замкнутость, динамичность, асимметричность
- 4) асимметричность, динамичность

8. Белки биомембран способны:

- 1) к латеральной и флип-флоп диффузии
- 2) к латеральной и вращательной диффузии
- 3) к вращательной и флип-флоп диффузии
- 4) к латеральной, вращательной, флип-флоп диффузии
- 5) к латеральной диффузии

9. Толщина биомембран составляет:

- | | | | |
|-------------|------------|-------------|-----------|
| 1) 0,1—1 нм | 2) 6—10 нм | 3) 10—20 нм | 4) 1—5 нм |
|-------------|------------|-------------|-----------|

10. Холестерол входит преимущественно в состав:

- | | |
|--------------------------------|------------------------------------|
| 1) цитоплазматической мембраны | 3) внутренней мембраны митохондрий |
| 2) ядерной мембраны | 4) мембраны лизосом |

11. Появление изгибов в гидрофобных углеводородных хвостах фосфолипидов зависит от:

- 1) наличия *цис*-связей
- 2) наличия *транс*-связей
- 3) числа углеродных атомов

12. Указать органеллу, имеющую внутреннюю и наружную мембраны:

- | | |
|--------------------|----------------|
| 1) рибосомы | 4) митохондрии |
| 2) ядро | 5) лизосомы |
| 3) аппарат Гольджи | |

13. Кардиолипид входит в состав мембран:

- | | |
|-----------------------|------------------|
| 1) цитоплазматической | 4) хлоропластов |
| 2) ядерной | 5) бактериальной |
| 3) митохондрий | |

14. Текучесть мембран определяется следующими факторами:

- 1) величиной белковых молекул
- 2) длиной углеводородных радикалов высших жирных кислот
- 3) природой углеводного компонента
- 4) степенью ненасыщенности высших жирных кислот
- 5) наличием нейтральных липидов

15. Преобладание какой из жирных кислот в составе биомембраны сильнее всего повысит ее текучесть:

- | | |
|------------------|----------------|
| 1) пальмитиновая | 4) линолевая |
| 2) стеариновая | 5) линоленовая |
| 3) олеиновая | |

16. Установить соответствие:

диффузия молекул в мембране *определение*

- | | |
|-----------------|---|
| 1) латеральная | а) движение вокруг оси перпендикулярно плоскости бислоя |
| 2) вращательная | б) перемещение с одной стороны бислоя на другую |
| 3) флип-флоп | в) движение в плоскости бислоя |

17. В отличие от активного транспорта пассивный:

- 1) осуществляется по градиенту концентрации
- 2) осуществляется против градиента концентрации
- 3) энергозависим
- 4) энергонезависим

18. Перечислить виды пассивного транспорта:

- | | |
|---|--------------|
| 1) простая диффузия | 4) фагоцитоз |
| 2) Na^+ -, K^+ -насос | 5) пиноцитоз |
| 3) облегченная диффузия | |

19. Облегченная диффузия в отличие от простой:

- 1) осуществляется против градиента концентрации
- 2) требует затрат энергии
- 3) имеет определенный предел скорости
- 4) характерна только для полярных соединений
- 5) зависит от концентрации белков-переносчиков

20. Глюкоза может поступать в клетку путем:

- | | |
|------------------------------------|---|
| 1) облегченной диффузии | 3) облегченной диффузии и симпорта с ионами Na^+ |
| 2) симпорта с ионами Na^+ | 4) антипорта с ионами Na^+ |

- 21. Работа Na^+ / K^+ -насоса обеспечивает:**
- 1) высокую концентрацию ионов K^+ снаружи клетки, ионов Na^+ внутри клетки
 - 2) высокую концентрацию ионов K^+ внутри клетки, ионов Na^+ снаружи клетки
 - 3) высокую концентрацию ионов K^+ и Na^+ внутри клетки
- 22. Для фосфорилирования Na^+ / K^+ -АТФ-азы требуются:**
- 1) ионы K^+ , Mg^{2+} , АТФ
 - 2) ионы Mg^{2+} , Na^+ , АТФ
 - 3) ионы Na^+ , АТФ
 - 4) ионы Ca^{2+} , АТФ
 - 5) АТФ
- 23. Для реакции дефосфорилирования Na^+ / K^+ -АТФ-азы требуются:**
- 1) ионы K^+
 - 2) ионы Mg^{2+}
 - 3) ионы Na^+
 - 4) ионы Ca^{2+}
 - 5) АТФ
- 24. Фосфорилирование стабилизирует конформацию Na^+ / K^+ -АТФ-азы:**
- 1) с полостью, обращенной наружу и имеющей высокое сродство к ионам Na^+
 - 2) с полостью, обращенной наружу и имеющей высокое сродство к ионам K^+
 - 3) с полостью, обращенной внутрь клетки и имеющей высокое сродство к ионам Na^+
 - 4) с полостью, обращенной внутрь клетки и имеющей высокое сродство к ионам K^+
- 25. Дефосфорилирование стабилизирует конформацию Na^+ / K^+ -АТФ-азы:**
- 1) с полостью, обращенной наружу и имеющей высокое сродство к ионам Na^+
 - 2) с полостью, обращенной наружу и имеющей высокое сродство к ионам K^+
 - 3) с полостью, обращенной внутрь клетки и имеющей высокое сродство к ионам Na^+
 - 4) с полостью, обращенной внутрь клетки и имеющей высокое сродство к ионам K^+
- 26. Функционирование Na^+ / K^+ -АТФ-азы приводит к тому, что внутренняя поверхность мембраны по отношению к наружной становится:**
- 1) положительно заряженной
 - 2) отрицательно заряженной
 - 3) не имеет заряда
- 27. Na^+ / K^+ -АТФ-аза выкачивает три иона Na^+ в обмен на:**
- 1) один ион K^+ внутрь клетки
 - 2) два иона K^+ внутрь клетки
 - 3) три иона K^+ внутрь клетки
- 28. Роль Na^+ / K^+ -АТФ-азы в клетке заключается:**
- 1) в создании электрохимического градиента на мембране
 - 2) в транспорте ионов K^+ и Na^+ против их градиента концентрации
 - 3) в синтезе АТФ
 - 4) в поддержании онкотического равновесия
 - 5) в разрядке мембраны
- 29. Градиент Ca^{2+} в клетке обеспечивается:**
- 1) простой диффузией
 - 2) облегченной диффузией
 - 3) антипортом с ионами Na^+
 - 4) Ca^{2+} -АТФ-азой
 - 5) симпортом с ионами K^+
- 30. Вторично-активный транспорт осуществляется за счет:**
- 1) прямого гидролиза АТФ
 - 2) энергии, запасенной в ионных градиентах
 - 3) прямого гидролиза АТФ и энергии, запасенной в ионных градиентах

31. Установить соответствие:

перенос вещества

- 1) одновременно в клетку транспортируются два разных вещества
- 2) транспорт вещества происходит вместе с частью плазматической мембраны
- 3) перенос вещества происходит против градиента его концентрации
- 4) пассивный транспорт вещества без белков-переносчиков
- 5) транспорт вещества по градиенту его концентрации с участием белков-переносчиков

механизм транспорта

- а) активный транспорт
- б) симпорт
- в) простая диффузия
- г) эндоцитоз
- д) облегченная диффузия

32. Установить соответствие:

перенос вещества

- 1) перемещение с помощью транслоказы двух разных веществ в одном направлении
- 2) перемещение с помощью транслоказы двух разных веществ в противоположных направлениях
- 3) перенос транслоказой одного вещества по градиенту концентрации
- 4) транспорт вещества по электрохимическому градиенту, созданному функционированием систем первично-активного транспорта

механизм транспорта

- а) антипорт
- б) вторично-активный транспорт
- в) симпорт
- г) унипорт

33. Экзо- и эндоцитоз:

- 1) происходит с частью плазматической мембраны
- 2) характерен для большинства эукариотических клеток
- 3) характерен для специализированных клеток
- 4) не требует участия лизосом
- 5) является АТФ-зависимым процессом

34. В процессе пиноцитоза участвует белок:

- 1) актин
- 2) миозин
- 3) кларитин

35. Установить соответствие:

область использования липосом

- 1) клеточная биология
- 2) геновая инженерия
- 3) медицина
- 4) фармация

цель

- а) создание оптимальных лекарственных форм
- б) изучение механизмов межклеточных взаимодействий
- в) направленный транспорт лекарств в организме
- г) введение внутрь клеток генетического материала

36. Для приготовления липосом используются:

- 1) нейтральные жиры
- 2) свободные жирные кислоты
- 3) фосфолипиды
- 4) эфиры холестерина
- 5) сфингозин

Глава 23

1. Сложноэфирные связи в молекулах триацилглицеролов подвергаются ферментативному гидролизу при участии:

- | | |
|-----------------------------|------------------------|
| 1) фосфолипазы | 4) липазы |
| 2) неспецифической эстеразы | 5) ацетилхолинэстеразы |
| 3) алилэстеразы | |

2. Первичные желчные кислоты образуются непосредственно из:

- | | |
|----------------------|-----------------|
| 1) эргостерола | 4) альдостерона |
| 2) холановой кислоты | 5) прегненалона |
| 3) холестерина | |

3. Установить соответствие:

желчная кислота

систематическое название кислоты

- | | |
|-----------------------|--------------------------------|
| 1) дезоксихолевая | а) 3,7,12-тригидроксихолановая |
| 2) литохолевая | б) 3,12-дигидроксихолановая |
| 3) холевая | в) 3-гидроксихолановая |
| 4) хенодезоксихолевая | г) 3,7-дигидроксихолановая |

4. В образовании парных желчных кислот участвуют:

- | | | | | |
|-----------|----------|------------|-----------|-----------|
| 1) таурин | 2) серин | 3) цистеин | 4) глицин | 5) аланин |
|-----------|----------|------------|-----------|-----------|

5. С участием желчных кислот происходит:

- | | |
|-----------------------------|------------------------------------|
| 1) всасывание глицерола | 4) активация липопротеинлипазы |
| 2) всасывание моносахаридов | 5) всасывание высших жирных кислот |
| 3) эмульгирование липидов | |

6. Установить соответствие:

желчные кислоты

название, локализация синтеза

- | | |
|--------------|-----------------------|
| 1) первичные | а) дезоксихолевая |
| 2) вторичные | б) таурохолевая |
| | в) хенодезоксихолевая |
| | г) гликохолевая |
| | д) синтез в кишечнике |
| | е) синтез в печени |

7. Гидролиз триацилглицеролов панкреатической липазой происходит:

- 1) одновременно гидролизуются все 3 связи
- 2) поэтапно, вначале 1 связь, затем 2 и 3
- 3) поэтапно, вначале 1 и 3 связи, затем 2
- 4) поэтапно, вначале 2 связь, затем 1 и 3

8. Образование хиломикронов локализовано:

- | | |
|---------------------------------|----------------|
| 1) в клетках эпителия кишечника | 4) в печени |
| 2) в крови | 5) в селезенке |
| 3) в лимфе | |

9. Липопротеинлипаза локализована:

- | | |
|---------------------------------|----------------------------------|
| 1) в клетках кишечного эпителия | 3) в адипоцитах |
| 2) в просвете кишечника | 4) в эндотелии капилляров печени |

10. Установить соответствие:

липопротеины крови

- 1) хиломикроны
- 2) ЛПВП

составные компоненты

- а) белок — 45%
- б) белок — 2%
- в) холестерол — 25%
- г) холестерол — 8%
- д) фосфолипиды — 7%
- е) фосфолипиды — 25%
- ж) триацилглицерол — 5%
- з) триацилглицерол — 80%

11. Установить соответствие:

липопротеины

- 1) хиломикроны
- 2) ЛПВП

локализация синтеза, функция

- а) синтезируется в печени
- б) синтезируется в эпителии тонкого кишечника
- в) транспорт триацилглицеролов
- г) транспорт холестерина

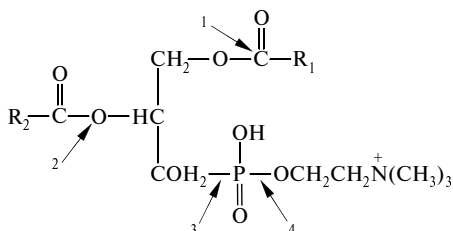
12. В ресинтезе триацилглицеролов в клетках слизистой оболочки тонкого кишечника участвуют:

- 1) жирные кислоты
- 2) ацил-КоА
- 3) 3-фосфоглицерат
- 4) 2-моноацилглицерол
- 5) 1,2-диацилглицерол

13. Установить соответствие:

*гидролитическое расщепление
фосфолипида катализирует*

фермент



- а) фосфолипаза A₁
- б) фосфолипаза C
- в) фосфолипаза D
- г) фосфолипаза A₂

14. Установить последовательность этапов формирования и транспорта хиломикронов в организме:

- 1) кровяное русло
- 2) грудной лимфатический проток
- 3) лимфатическая система кишечника
- 4) эпителиальные клетки кишечника
- 5) клетки жировой ткани
- 6) поверхность клеток жировой ткани

15. Тканевая липаза (триглицеридлипаза) активируется гормонами:

- 1) тироксином
- 2) глюкагоном
- 3) кортизоном
- 4) адреналином
- 5) инсулином

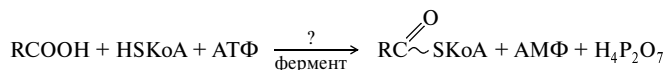
16. Основной путь катаболизма высших жирных кислот:

- 1) восстановление
- 2) ω-окисление
- 3) α-окисление
- 4) β-окисление
- 5) декарбоксилирование

17. Окисление жирных кислот локализовано:

- 1) в цитозоле
- 2) в межмембранном пространстве митохондрий
- 3) в матриксе митохондрий
- 4) в эндоплазматическом ретикулуме
- 5) в пероксисомах

18. Указать фермент:



- 1) ацетилтрансфераза
- 2) ацил-КоА-синтетаза
- 3) ацил-КоА-трансфераза
- 4) ацетил-КоА-ацилтрансфераза

19. Транспорт активированных жирных кислот из цитозоля в митохондрии осуществляется главным образом с помощью:

- 1) карнитина
- 2) цитрата
- 3) малата

20. Установить последовательность реакций β -окисления жирных кислот:

- 1) тиолазная реакция
- 2) первое дегидрирование
- 3) второе дегидрирование
- 4) активация жирной кислоты
- 5) гидратация

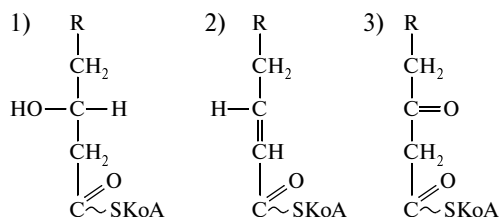
21. Фермент β -окисления высших жирных кислот ацил-КоА-дегидрогеназа содержит кофермент:

- 1) НАД^+
- 2) НАДФ^+
- 3) ФМН
- 4) ФАД

22. Установить соответствие:

интермедиат β -окисления жирных кислот

образуется на стадии



- а) первая стадия дегидрирования
- б) стадия гидратации
- в) вторая стадия дегидрирования

23. Установить соответствие:

процесс

регуляторный фермент, ингибитор

- | | |
|-------------------------|------------------------------|
| 1) β -окисление | а) ацетил-КоА-карбоксилаза |
| 2) синтез жирных кислот | б) карнитинацетилтрансфераза |
| | в) цитрат |
| | г) малонил-КоА |

24. Каждая стадия β -окисления высших жирных кислот сопровождается образованием количества АТФ:

- 1) 3
- 2) 5
- 3) 2
- 4) 8
- 5) 7

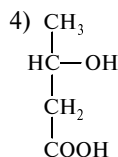
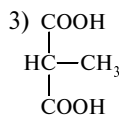
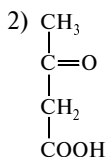
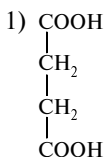
25. Число стадий β -окисления жирной кислоты, содержащей число атомов углерода, равное n , составляет:

- 1) n
- 2) $\frac{n}{2}$
- 3) $\frac{n}{2} - 1$

26. Количество АТФ, образующихся при полном окислении пальмитиновой кислоты до CO_2 и H_2O :

- 1) 130 2) 147 3) 131 4) 96 5) 105

27. К кетоновым телам относятся:



28. Кетонемия и кетонурия наблюдаются при:

- 1) панкреатите 3) атеросклерозе
2) голодании 4) сахарном диабете

29. Предшественником для синтеза кетоновых тел является:

- 1) жирная кислота 4) малонил-КоА
2) глюкоза 5) сукцинил-КоА
3) ацетил-КоА

30. Структурным предшественником для синтеза жирных кислот служит:

- 1) малонил-КоА 4) оксалоацетат
2) цитрат 5) пируват
3) ацетил-КоА

31. Мультиферментный комплекс синтетаза высших жирных кислот локализован:

- 1) в матриксе митохондрий 3) в эндоплазматическом ретикулуме
2) в цитозоле 4) во внутренней мембране митохондрий

32. Особенно активно липогенез протекает:

- 1) в мышцах 4) в жировой ткани
2) в печени 5) в легких
3) в селезенке

33. Конечным продуктом биосинтеза жирных кислот, катализируемого синтетазным комплексом, являются:

- 1) все высшие насыщенные жирные кислоты
2) все насыщенные и моновенасыщенные кислоты
3) пальмитиновая кислота
4) стеариновая кислота
5) все насыщенные и гидроксикислоты

34. Переносчиками ацетил-КоА через митохондриальную мембрану служат:

- 1) малат 3) карнитин
2) цитрат 4) глицерат

35. В состав ацилпереносящего белка (АПБ) входит витамин:

- 1) тиамин 4) пантотеновая кислота
2) биотин 5) пиридоксин
3) рибофлавин

36. Карбоксилирование ацетил-КоА в процессе биосинтеза жирных кислот необходимо:

- 1) для превращения CH_3 -ацетил-КоА в более реакционноспособную метиленовую группу (CH_2) малонил-КоА
2) как источник углерода

37. Биотин в качестве кофермента входит в состав ферментов:
 1) β -кетоацил-АПБ-синтазы 3) тиюкиназы жирных кислот
 2) пируваткарбоксилазы 4) ацетил-КоА-карбоксилазы
38. Установить последовательность реакций синтеза жирных кислот, катализируемых ферментами комплекса синтетазы жирных кислот:
 1) β -кетоацил-АПБ-синтаза 4) еноил-АПБ-редуктаза
 2) АПБ-ацетилтрансфераза 5) АПБ-малонилтрансфераза
 3) β -гидроксиацил-АПБ-дегидратаза 6) β -кетоацил-АПБ-редуктаза
39. Донором восстановительных эквивалентов в реакциях биосинтеза высших жирных кислот является:
 1) ФАДН₂ 2) НАДФН · Н⁺ 3) НАДН · Н⁺ 4) ФМНН₂ 5) КоQН₂
40. Регуляторным ферментом синтеза высших жирных кислот является:
 1) АПБ-ацетилтрансфераза 4) β -кетоацил-АПБ-редуктаза
 2) АПБ-малонилтрансфераза 5) ацетил-КоА-карбоксилаза
 3) β -кетоацил-АПБ-синтаза
41. Активатором регуляторного фермента синтеза жирных кислот ацетил-КоА-карбоксилазы является:
 1) оксалоацетат 2) малат 3) глицерат 4) АТФ 5) цитрат
42. Биосинтез мононенасыщенных жирных кислот идет из насыщенных при участии ферментов:
 1) НАД-зависимых дегидрогеназ 3) дезатураз жирных кислот
 2) ФАД-зависимых дегидрогеназ 4) оксидаз
43. Установить соответствие:

| | |
|-------------------------------------|--|
| <i>процесс</i> | <i>локализация, метаболиты, коферменты</i> |
| 1) биосинтеза жирных кислот | а) малонил-КоА |
| 2) β -окисления жирных кислот | б) происходит в цитоплазме |
| | в) необходим НАДФНН ⁺ |
| | г) образуется АТФ |
| | д) биотинзависимый процесс |
| | е) необходимы НАД ⁺ и ФАД |
44. Глицерол, образующийся при распаде триацилглицеролов, независимо от пути его дальнейшего превращения в организме прежде всего:
 1) окисляется 4) фосфорилируется
 2) восстанавливается 5) ацилируется
 3) метилируется
45. Общим интермедиатом для синтеза триацилглицеролов и глицерофосфолипидов является:
 1) диоксиацетон 4) 2-моноацилглицерол
 2) 3-фосфоглицериновый альдегид 5) 1,2-диацилглицерол
 3) фосфатидная кислота
46. Фосфатидная кислота синтезируется в процессе:
 1) фосфорилирования глицерола
 2) восстановления диоксиацетона
 3) гидролиза сложных эфиров
 4) расщепления фосфоангидридов высших жирных кислот
 5) эстерификации глицерол-3-фосфата

47. В синтезе триацилглицеролов из фосфатидной кислоты участвуют ферменты:

- 1) глицеролкиназа
- 2) глицеролфосфатдегидрогеназа
- 3) фосфатаза
- 4) ацилтрансфераза

48. Биосинтез глицерофосфолипидов локализован:

- 1) в митохондриях
- 2) в эндоплазматическом ретикулуме
- 3) в аппарате Гольджи
- 4) в цитозоле

49. Синтез цитидиндифосфохолина осуществляется:

- 1) без участия ферментов
- 2) без затраты АТФ
- 3) с затратой АТФ
- 4) при участии фермента холинкиназы
- 5) при участии холинфосфатцитидилтрансферазы

50. Донором метильных групп для синтеза фосфатидилхолина из фосфатидилэтаноламина является:

- 1) метилтетрагидрофолиевая кислота
- 2) S-аденозилметионин
- 3) метилмалонил-КоА
- 4) пропионил-КоА

51. Фосфатидилэтанолламин образуется при конденсации диацилглицерола и:

- 1) этаноламина
- 2) фосфосфэтанолламина
- 3) ЦДФ-этанолламина
- 4) АМФ-этанолламина

52. ЦТФ в синтезе глицерофосфолипидов выполняет функции:

- 1) активатора
- 2) переносчика глицерол-3-фосфата
- 3) переносчика активированных интермедиатов

53. Структурным предшественником всех углеродных атомов холестерина является:

- 1) малонил-КоА
- 2) CO_2
- 3) глицин
- 4) ацетил-КоА
- 5) сукцинил-КоА

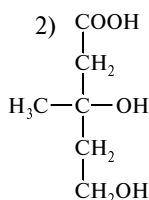
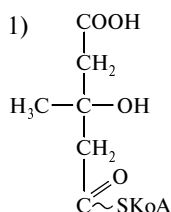
54. Первая стадия синтеза холестерина заканчивается образованием:

- 1) оксиметилглутарил-КоА
- 2) мевалоната
- 3) 5-пирофосфатмевалоната
- 4) 3-фосфо-5-пирофосфомевалоната
- 5) изопентилпирофосфата

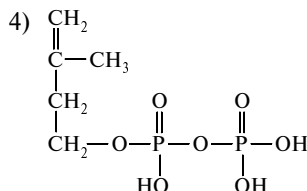
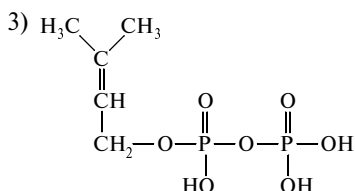
55. Установить соответствие:

интермедиаты синтеза холестерина

название



- а) диметилаллилпирофосфат
- б) мевалоновая кислота
- в) β -гидрокси- β -метилглутарил-КоА
- г) изопентилпирофосфат



56. Донором восстановительных эквивалентов в биосинтезе холестерина является:
 1) НАДН · Н⁺ 2) ФМН · Н₂ 3) НАДФН · Н⁺ 4) ФАДН₂
57. Из пиррофосфомевалоновой кислоты образуется изопентилпиррофосфат в результате ферментативных реакций:
 1) декарбоксилирования
 2) изомеризации и дефосфорилирования
 3) дефосфорилирования
 4) декарбоксилирования и дефосфорилирования
58. В результате реакции конденсации изопентилпиррофосфата и диметилаллилпиррофосфата образуется:
 1) фарнезилпиррофосфат 3) каротиноид
 2) геранилпиррофосфат 4) сквален
59. Непосредственным предшественником полициклических спиртов является:
 1) каротиноид 3) сквален
 2) фарнезилпиррофосфат 4) геранилпиррофосфат
60. Первым продуктом циклизации сквалена является:
 1) холестерол 3) холестеран
 2) холестерол 4) ланостерол
61. Гиперхолестеринемия связана с повышением концентрации в крови:
 1) ЛПНП 3) ЛПОНП
 2) хиломикронов 4) ЛПВП

Глава 24

1. Биологическая ценность пищевого белка зависит от:
 1) порядка чередования аминокислот
 2) присутствия незаменимых аминокислот
 3) аминокислотного состава
2. Установить соответствие:
- | | |
|-------------------------|---|
| <i>азотистый баланс</i> | <i>физиологическое состояние человека</i> |
| 1) положительный | а) тяжелое заболевание |
| 2) отрицательный | б) беременность |
| 3) азотистое равновесие | в) старение |
| | г) взрослый человек, полноценная диета |
| | д) растущий организм |
3. Установить соответствие:
- | | |
|------------------|----------------------|
| <i>пептидазы</i> | <i>название</i> |
| 1) экзопептидазы | а) трипсин |
| 2) эндопептидазы | б) карбоксипептидаза |
| | в) эластаза |
| | г) пепсин |
| | д) аминопептидаза |
| | е) химо tripsин |

4. Расщепление белков в желудке катализируется:

- | | |
|-----------------|------------------|
| 1) трипсином | 4) химотрипсином |
| 2) пепсином | 5) эластазой |
| 3) гастриксином | |

5. В расщеплении белков до полипептидов в кишечнике участвуют:

- | | |
|----------------------|-------------------|
| 1) эластаза | 4) аминопептидаза |
| 2) карбоксипептидаза | 5) химотрипсин |
| 3) трипсин | |

6. Механизм образования активных пептидаз из проферментов включает:

- 1) изменение вторичной структуры
- 2) аллостерическую активацию
- 3) фосфорилирование-дефосфорилирование
- 4) локальный протеолиз
- 5) изменение третичной структуры

7. Установить соответствие:

- | | |
|--------------------|---------------------------|
| <i>профермент</i> | <i>активирующий агент</i> |
| 1) пепсиноген | а) пепсин |
| 2) трипсиноген | б) трипсин |
| 3) химотрипсиноген | в) соляная кислота |
| | г) энтеропептидаза |

8. Трипсин гидролизует пептидные связи, образованные:

- 1) аминокетонами аминокислотных остатков лизина и аргинина
- 2) карбоксильными группами аминокислотных остатков лизина и аргинина
- 3) аминокетонами ароматических аминокислот
- 4) карбоксигруппами ароматических аминокислот

9. Химотрипсин осуществляет гидролиз пептидных связей, образованных при участии:

- 1) карбоксигрупп алифатических аминокислот
- 2) карбоксигрупп ароматических аминокислот
- 3) аминокетонами ароматических аминокислот
- 4) аминокетонами алифатических аминокислот

10. Карбоксипептидаза А гидролизует пептидные связи, образованные C-концевыми аминокислотами:

- | | |
|------------------------|------------------------|
| 1) алифатическими | 4) глицином и аланином |
| 2) дикарбоновыми | 5) ароматическими |
| 3) лизином и аргинином | |

11. Аланинаминопептидаза гидролизует пептидную связь, образованную N-концевыми аминокислотами:

- 1) лейцином
- 2) аланином и лейцином
- 3) аланином
- 4) аланином и любыми N-концевыми аминокислотами

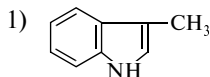
12. Расщепление пептидов до свободных аминокислот в тонком кишечнике завершают:

- | | |
|----------------|-----------------|
| 1) трипсин | 3) трипептидаза |
| 2) химотрипсин | 4) дипептидаза |

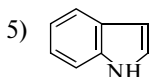
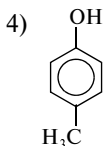
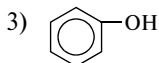
13. Установить соответствие:

продукт гниения белка в кишечнике

название



- а) крезол
- б) скатол
- в) метилмеркаптан
- г) индол
- д) фенол



14. Установить соответствие:

аминокислота

*продукт распада аминокислоты
микрофлорой кишечника*

- 1) орнитин
- 2) цистеин
- 3) тирозин
- 4) лизин
- 5) триптофан

- а) метилмеркаптан
- б) фенол
- в) скатол
- г) кадаверин
- д) индол
- е) путресцин

15. Обезвреживание токсичных продуктов гниения белков происходит при участии:

- 1) АТФ
- 2) моноаминоксидаз
- 3) 3'-фосфаденозин-5'-фосфосульфата (ФАФС)
- 4) уридиндифосфоглюкуроновой кислоты (УДФГК)

16. Транспорт аминокислот через клеточные мембраны происходит:

- 1) посредством первично-активного транспорта
- 2) пиноцитозом
- 3) при участии ферментов γ -глутамильного цикла
- 4) путем простой диффузии
- 5) посредством вторично-активного транспорта

17. Глутатион является трипептидом:

- 1) γ -глутамил-серил-цистеин
- 2) γ -глутамил-цистеинил-глицин
- 3) глицил-цистеинил-аланин
- 4) глицил-глутамил-цистеин

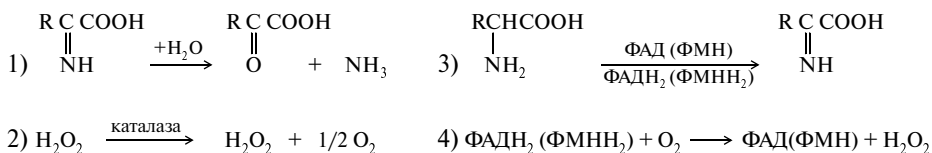
18. Фермент γ -глутамильного цикла γ -глутамилтрансфераза катализирует процесс:

- 1) распада комплекса γ -глутамиламиноокислота
- 2) переноса транспортируемой аминокислоты на γ -глутамильную группу глутатиона
- 3) регенерации глутатиона

19. На ресинтез глутатиона в γ -глутамильном цикле затрачивается количество молекул АТФ:

- 1) 2
- 2) 1
- 3) 4
- 4) 5
- 5) 3

20. Установить последовательность реакций в процессе окислительного дезаминирования аминокислот:



21. Активно в физиологических условиях у млекопитающих протекает окислительное дезаминирование только:

- 1) D-аланина
- 2) L-серина
- 3) L-аспарагиновой кислоты
- 4) L-глутаминовой кислоты
- 5) L-треонина

22. Установить соответствие:

тип дезаминирования

- 1) прямое окислительное
- 2) трансдезаминирование
- 3) неокислительное дезаминирование

аминокислота

- а) валин
- б) цистеин
- в) серин
- г) глутаминовая кислота
- д) аланин

23. Для глутаминовой кислоты нехарактерно:

- 1) дезаминируется активной при pH 7,3 глутаматдегидрогеназой
- 2) является универсальным донором аминогрупп в реакциях трансаминирования
- 3) подвергается неокислительному дезаминированию
- 4) участвует в нейтрализации аммиака
- 5) участвует в трансдезаминировании других аминокислот

24. Процесс неокислительного дезаминирования характерен для:

- 1) серина
- 2) аланина
- 3) тирозина
- 4) глутаминовой кислоты
- 5) цистеина

25. Продуктами неокислительного дезаминирования цистеина являются:

- 1) пируват
- 2) H_2O
- 3) H_2S
- 4) лактат
- 5) NH_3
- 6) CO_2

26. При внутримолекулярном дезаминировании аминокислот образуются:

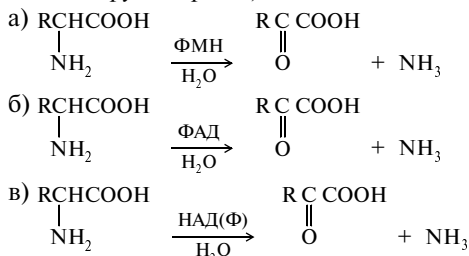
- 1) предельные кислоты
- 2) непредельные кислоты
- 3) гидроксикислоты
- 4) кетокислоты

27. Установить соответствие:

фермент

- 1) L-оксидаза аминокислот
- 2) глутаматдегидрогеназа
- 3) D-оксидаза аминокислот

катализируемая реакция



28. Трансаминирование — процесс межмолекулярного переноса аминогруппы от:

- 1) α -аминокислоты на α -кетокислоту
- 2) α -аминокислоты на α -гидроксикислоту
- 3) амина на α -кетокислоту
- 4) амина на α -гидроксикислоту

29. В пиридоксальфосфатзависимых ферментах пиридоксальфосфат связан карбонильной группой с апобелком фермента через:

- 1) имидазольное кольцо гистидина
- 2) ϵ -аминогруппу лизина
- 3) гуанидиновую группу аргинина
- 4) β -карбоксигруппу аспарагиновой кислоты
- 5) сульфгидрильную группу цистеина

30. Для аминотрансфераз нехарактерно:

- 1) катализируют необратимую реакцию
- 2) содержат в качестве кофермента пиридоксальфосфат
- 3) используют АТФ как источник энергии
- 4) локализованы в цитозоле и митохондриях
- 5) в процессе реакции образуют с субстратом шиффово основание

31. Аминотрансферазы играют роль:

- 1) в синтезе заменимых аминокислот
- 2) в трансмембранном переносе аминокислот
- 3) в синтезе незаменимых аминокислот
- 4) в дезаминировании аминокислот

32. Пиридоксальфосфат не входит в состав фермента, катализирующего процесс:

- 1) трансаминирования аминокислот
- 2) рацемации оптически активных аминокислот
- 3) декарбоксилирования аминокислот
- 4) окислительного дезаминирования L-аминокислот
- 5) α , β -элиминации серина
- 6) синтеза триптофана из индолил-3-фосфоглицерата

33. Непрямое дезаминирование аминокислоты катализируется ферментами:

- | | |
|----------------------|------------------------------|
| 1) аминотрансферазой | 3) α -декарбоксилазой |
| 2) L-оксидазой | 4) глутаматдегидрогеназой |

34. Биогенные амины образуются из аминокислот в результате реакции:

- 1) ω -декарбоксилирования
- 2) α -декарбоксилирования
- 3) декарбоксилирования, сочетанного с реакцией трансаминирования
- 4) декарбоксилирования, сочетанного с реакцией конденсации
- 5) γ -декарбоксилирования

35. Установить соответствие:

аминокислота

продукт ее α -декарбоксилирования

- | | |
|-------------------------|------------------------------------|
| 1) гистидин | а) тирамин |
| 2) тирозин | б) γ -аминомасляная кислота |
| 3) орнитин | в) путресцин |
| 4) глутаминовая кислота | г) гистамин |
| 5) 5-окситриптофан | д) серотонин |

36. Установить соответствие:

*продукт декарбоксилирования
аминокислот*

- 1) серотонин
- 2) дофамин
- 3) α -аминомасляная кислота
- 4) гистамин

физиологические функции:

- а) тормозной медиатор
- б) медиатор воспаления, аллергических реакций
- в) регулирует артериальное давление
- г) предшественник эpineфрина и норэpineфрина

37. Инактивацию биогенных аминов осуществляют:

- 1) глутаматдегидрогеназа
- 2) моноаминоксидаза
- 3) L-оксидаза аминокислот
- 4) D-оксидаза аминокислот

38. Коферментом фермента, участвующего в распаде биогенных аминов, является:

- 1) НАД⁺
- 2) НАДФ⁺
- 3) пиридоксальфосфат
- 4) HS-CoA
- 5) ФАД

39. В лечении заболеваний ЦНС используется декарбоксилированное производное:

- 1) тирозина
- 2) фенилаланина
- 3) глутаминовой кислоты
- 4) аспарагиновой кислоты
- 5) аргинина

40. Установить соответствие:

*форма выведения
из организма азота*

- 1) свободный аммиак
- 2) мочевины
- 3) мочевины

виды организмов

- а) урикотелические: птицы, змеи, ящерицы
- б) уреотелические: наземные позвоночные, человек
- в) аммонотелические: водные позвоночные (костистые рыбы)

41. Источником аммиака в организме не являются:

- 1) аминокислоты
- 2) мочевины
- 3) биогенные амины
- 4) пуриновые основания
- 5) цитозин

42. Установить соответствие:

фермент

- 1) глутаматдегидрогеназа
- 2) глутаминсинтетаза
- 3) глутаминаза
- 4) аланинаминотрансфераза
- 5) карбамоилсинтетаза I

функция в обмене аммиака

- а) синтез мочевины
- б) утилизация NH_3 -аминокислот в мышцах (синтез аланина)
- в) освобождение аммиака из глутамина в печени и почках
- г) нейтрализация аммиака путем восстановительного аминирования α -кетоглутарата
- д) нейтрализация аммиака путем синтеза глутамина

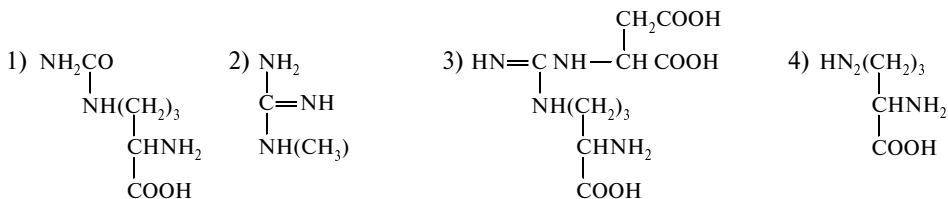
43. Аммиакзависимая карбамоилфосфатсинтетаза локализована:

- 1) в митохондриях
- 2) в лизосомах
- 3) в цитоплазме
- 4) в комплексе Гольджи
- 5) в эндоплазматическом ретикулуме

44. Аммиакзависимая карбамоилфосфатсинтетаза катализирует реакцию:

- 1) $\text{NH}_3 + \text{CO}_2 + 2 \text{ АТФ} + \text{H}_2\text{O} \longrightarrow \text{H}_2\text{N-CO} \sim \text{PO}_3\text{H}_2 + 2 \text{ АДФ} + \text{H}^+$
- 2) L-глутамин + $\text{CO}_2 + \text{АТФ} + \text{H}_2\text{O} \longrightarrow \text{H}_2\text{N-CO} \sim \text{PO}_3\text{H}_2 + \text{L-глутамат} + \text{АДФ}$
- 3) $\text{NH}_3 + \text{CO}_2 + \text{АТФ} \longrightarrow \text{H}_2\text{N-CO} \sim \text{PO}_3\text{H}_2 + \text{АДФ}$

45. Продуктом конденсации карбамоилфосфата и орнитина является:



46. Регенерация орнитина в цикле синтеза мочевины происходит в реакции, катализируемой:

- 1) аргининсукцинатсинтетазой
- 2) аргининсукцинатлиазой
- 3) аргиназой
- 4) орнитинкарбамоилтрансферазой

47. Установить последовательность этапов в орнитиновом цикле мочевинообразования:

- 1) синтез карбамоилфосфата
- 2) синтез аргинина
- 3) синтез аргининосукцината
- 4) образование мочевины
- 5) синтез цитруллина

48. Донорами атомов азота в молекуле мочевины в процессе ее биосинтеза в организме являются:

- 1) аммиак
- 2) цитруллин
- 3) орнитин
- 4) аспарат
- 5) аргинин

49. Реакции орнитинового цикла синтеза мочевины, протекающие в цитозоле, катализируются ферментами:

- 1) карбамоилфосфатсинтетазой
- 2) аргининосукцинатсинтетазой
- 3) орнитинкарбамоилфосфаттрансферазой
- 4) аргиназой
- 5) аргининосукцинатлиазой

50. Регуляторными ферментами орнитинового цикла синтеза мочевины являются:

- 1) аргиназа
- 2) орнитинкарбамоилтрансфераза
- 3) карбамоилсинтетаза I
- 4) аргининосукцинатлиаза
- 5) аргининосукцинатсинтетаза

51. Ингибиторами регуляторных ферментов орнитинового цикла являются:

- 1) глутамин
- 2) лизин
- 3) аргинин
- 4) глутаминовая кислота
- 5) орнитин

52. Установить соответствие:

| аминокислоты | название |
|-----------------------------|----------------|
| 1) гликогенные | а) лейцин |
| 2) кетогенные | б) фенилаланин |
| 3) гликогенные и кетогенные | в) пролин |
| | г) треонин |
| | д) лизин |

53. Установить соответствие:

процесс

- 1) глюконеогенеза
- 2) кетогенеза

аминокислота, включающаяся в процесс

- а) глицин
- б) лейцин
- в) аспарагиновая кислота
- г) изолейцин
- д) аланин

54. В процессах биосинтеза аминокислот глутаминовая кислота выполняет функции:

- 1) донора аминогрупп
- 2) донора карбоксигрупп
- 3) переносчика аминогрупп
- 4) поставщика углеродного скелета

55. Установить соответствие:

аминокислота

- 1) аланин
- 2) глутаминовая кислота
- 3) аспарагиновая кислота
- 4) серин

предшественник

- а) α -кетоглутарат
- б) пируват
- в) оксалоацетат
- г) 3-фосфоглицерат

56. Глицин и формальдегид образуются при альдольном расщеплении аминокислоты:

- 1) валин
- 2) аланин
- 3) треонин
- 4) серин
- 5) глутамат
- 6) лейцин

57. Высокая потребность у млекопитающих в фенилаланине обусловлена использованием его в синтезе:

- 1) адреналина
- 2) триптофана
- 3) гистидина
- 4) метионина
- 5) тирозина

58. Реакции метилирования осуществляются при участии незаменимой аминокислоты:

- 1) валина
- 2) лизина
- 3) метионина
- 4) изолейцина
- 5) треонина

59. Заменимые аминокислоты у млекопитающих могут синтезироваться из:

- 1) продуктов распада гема
- 2) метаболитов цикла трикарбоновых кислот
- 3) промежуточных продуктов распада пуринов
- 4) ацетил КоА

60. Пролин синтезируется из:

- 1) лизина
- 2) аргинина
- 3) глутаминовой кислоты
- 4) аспарагиновой кислоты
- 5) лейцина
- 6) валина

61. Лизин синтезируется в результате реакции конденсации пирувата:

- 1) с аспарагином
- 2) с глицином
- 3) аспаратом
- 4) с глутаматом
- 5) с валином

62. Общим метаболитом в синтезе метионина и треонина является:

- 1) серин
- 2) гомосерин
- 3) гомоцистеин
- 4) цистеин
- 5) цистатион

63. Установить соответствие:

реакции трансаминирования

продукты реакций

- 1) пируват и глутамат
- 2) пируват и аспартат
- 3) оксалоацетат и глутамат

- а) аспартат и α -кетоглутарат
- б) аланин и α -кетоглутарат
- в) аланин и оксалоацетат

64. В синтезе цистеина принимают участие:

- 1) метионин
- 2) гомоцистеин
- 3) аргинин

- 4) триптофан
- 5) серин

65. В практической медицине применяются препараты гидролизата белков:

- 1) альбумин
- 2) церебрализин
- 3) γ -глобулин

- 4) гистамин
- 5) интерферон
- 6) аминокептид

66. Незаменимой аминокислотой, применяемой при лечении язвенной болезни, атеросклероза, белковой недостаточности, является:

- 1) лейцин
- 2) лизин
- 3) метионин

- 4) фенилаланин
- 5) гистидин
- 6) валин

Глава 25

1. Установить соответствие:

продукт катаболизма гемоглобина

последующий путь превращения

- 1) глобин
- 2) протопорфин IX
- 3) железо

- а) распадается до аминокислот
- б) депонируется в печени
- в) необратимо распадается до образования желчных пигментов

2. При разрыве α -метинового мостика порфиринового кольца гемоглобина образуется:

- 1) биливердин
- 2) вердоглобин

- 3) билирубин
- 4) мезобилирубин

3. Первым желчным пигментом, образующимся при катаболизме порфириновой структуры, является:

- 1) уробилин
- 2) билирубин

- 3) биливердин
- 4) стеркобилин

4. Превращение биливердина в билирубин катализирует фермент:

- 1) билирубинредуктаза
- 2) биливердинредуктаза
- 3) гемоксигеназа

5. Установить соответствие:

билирубин крови

характеристика

- 1) прямой
- 2) непрямой

- а) образует комплекс с альбуминами крови
- б) дает прямую реакцию с диазореактивом
- в) продукт конденсации с глюконовой кислотой

6. В составе желчи билирубин секретируется в кишечник в виде:
 - 1) свободного билирубина
 - 2) непрямого билирубина
 - 3) билирубиндиглюкуронида
 - 4) стеркобилиногена
7. В процессе восстановления билирубина микрофлорой кишечника не образуется:
 - 1) мезобилирубиноген
 - 2) стеркобилиноген
 - 3) биливердин
 - 4) стеркобилин
8. Обезвреживание билирубина в печени происходит при участии фермента:
 - 1) билирубинредуктазы
 - 2) УДФ-глюкуронилтрансферазы
 - 3) цитохрома Р-450
 - 4) сульфотрансферазы
9. В моче человека содержится желчный пигмент:
 - 1) билирубин
 - 2) биливердин
 - 3) стеркобилиноген
 - 4) мезобилиноген
10. Установить последовательность основных этапов синтеза гема:
 - 1) синтез порфобилиногена
 - 2) конденсация порфобилиногенов
 - 3) синтез δ -аминолевулиновой кислоты
 - 4) синтез уропорфириногена III
 - 5) синтез протопорфириногена III
 - 6) синтез копропорфириногена III
 - 7) синтез протопорфина IX
 - 8) присоединение Fe феррохелатазой
11. δ -Аминолевулиновая кислота образуется при конденсации:
 - 1) глицина и α -кетоглутарата
 - 2) глицина и оксалоацетата
 - 3) глицина и сукцинил-SКоА
 - 4) глутамата и сукцинил-SКоА
 - 5) аланина и ацетил-SКоА
12. Установить соответствие:

| | |
|---|---|
| <p><i>порфин</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1) этиопорфин 2) мезопорфин 3) протопорфин 4) копропорфин | <p><i>замещающие группы в положениях C₁—C₈ порфина</i></p> <ol style="list-style-type: none"> а) 4 метильные, 2 винильные, 2 карбоксиэтильные б) 4 метильные, 4 карбоксиэтильные в) 4 метильные, 4 этильные г) 4 метильные, 2 этильные, 2 карбоксивинильные |
|---|---|
13. Установить соответствие:

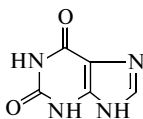
| | |
|---|---|
| <p><i>стадия синтеза гема</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1) синтез δ-аминолевулината 2) синтез порфобилиногена 3) синтез уропорфириногена 4) синтез протопорфина IX 5) включение железа в протопорфин IX | <p><i>локализация реакции</i></p> <ol style="list-style-type: none"> а) цитозоль б) митохондрии |
|---|---|
14. Коферментом δ -аминолевулинат-синтазы является:
 - 1) пиридоксальфосфат
 - 2) ФАД
 - 3) НАД⁺
 - 4) биотин
 - 5) HS-КоА
15. Источником железа в феррохелатазной реакции является:
 - 1) трансферрин
 - 2) ферритин
 - 3) гемосидерин
 - 4) лактоферрин

16. Избыток железа в ретикулоэндотелиальных клетках печени и селезенки депонируется в:
- 1) ферритине
 - 2) церулоплазмине
 - 3) трансферрине
 - 4) гемосидерине
17. В наибольших количествах ферритин откладывается:
- 1) в печени
 - 2) в жировой ткани
 - 3) в мышцах
 - 4) в селезенке
 - 5) в костном мозге
18. Транспорт железа кровью в гемосинтезирующие клетки происходит в комплексе с белком:
- 1) ферритином
 - 2) церулоплазмином
 - 3) трансферрином
 - 4) гемосидерином
19. Синтез регуляторного фермента δ -аминолевулинсинтазы в ретикулоцитах регулируется:
- 1) глобином
 - 2) железочувствительным белком
 - 3) гемом
 - 4) гемоглобином
20. Ингибитором δ -аминолевулинатсинтазы является:
- 1) гем
 - 2) железо
 - 3) стероиды
 - 4) протопорфирин IX
 - 5) уропорфириноген III
21. Порфирии характеризуются повышенным содержанием:
- 1) билирубина
 - 2) копропорфиринов
 - 3) гемоглобина
 - 4) уропорфиринов

Глава 26

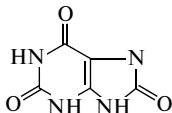
1. Нуклеиновые кислоты расщепляются ферментами:
- 1) пептидазами
 - 2) липазами
 - 3) нуклеазами
 - 4) глюкозидазами
 - 5) полинуклеотидфосфорилазами
2. Нуклеотиды расщепляются ферментами:
- 1) нуклеазами
 - 2) нуклеотидазами
 - 3) нуклеозидазами
 - 4) нуклеозидфосфорилазами
3. Нуклеозиды расщепляются ферментами:
- 1) нуклеазами
 - 2) нуклеотидазами
 - 3) нуклеозидазами
 - 4) нуклеозидфосфорилазами
4. Установить соответствие:
- | | |
|---|--|
| <i>конечный продукт деградации пурина</i> | <i>виды организмов</i> |
| 1) аллантаин | а) приматы, птицы, рептилии, насекомые |
| 2) аллантаиновая кислота | б) некоторые наземные животные |
| 3) мочевая кислота | в) амфибии и рыбы |
| 4) глиоксилат и мочевины | г) микроорганизмы |

5. Назвать основание



- 1) гипоксантин
- 2) ксантин
- 3) мочевая кислота
- 4) мочеви́на
- 5) глиоксиловая кислота

6. Назвать основание



- 1) ксантин
- 2) аллантииновая кислота
- 3) мочевая кислота
- 4) инозин
- 5) гуанин

7. Установить соответствие:

фермент

катализируемая реакция

- 1) адениндезаминаза
- 2) гуаниндезаминаза
- 3) нуклеозидфосфорилаза
- 4) ксантиноксидаза

- а) реакция окисления пуринов
- б) фосфоролитический распад *N*-гликозидной связи
- в) дезаминирование гуанина
- г) дезаминирование аденина

8. При дезаминировании аденина образуется:

- | | |
|----------------|--------------------|
| 1) гуанин | 4) мочевая кислота |
| 2) гипоксантин | 5) урацил |
| 3) ксантин | |

9. При дезаминировании гуанина образуется:

- | | |
|----------------|------------|
| 1) аденин | 4) тимин |
| 2) гипоксантин | 5) цитозин |
| 3) ксантин | |

10. Ксантиноксидаза катализирует реакции:

- | | |
|------------------------------|------------------------------------|
| 1) окисления мочевой кислоты | 4) окисления ксантина |
| 2) окисления гипоксантина | 5) окисления аллантииновой кислоты |
| 3) гидролиза аллантиина | |

11. Конечными продуктами катаболизма пиримидиновых оснований являются:

- | | |
|----------------------------------|-------------------------|
| 1) мочевая кислота | 4) глиоксиловая кислота |
| 2) β-аланин | 5) дигидротимин |
| 3) NH_3 , CO_2 | |

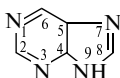
12. Синтез пуриновых нуклеотидов при реутилизации азотистых оснований происходит с участием ферментов:

- 1) карбамоилфосфатсинтетазы
- 2) нуклеозиддифосфокиназы
- 3) аденинфосфорибозилтрансферазы
- 4) гипоксантингуанинфосфорибозилтрансферазы

13. Установить соответствие:

пурин

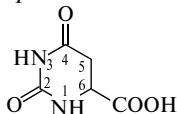
соединения — источники атомов пурина



- а) глицин
- б) глутамин
- в) CO_2
- г) аспартат
- д) метилтетрагидрофолат
- е) формилтетрагидрофолат

14. Установить соответствие:

оротовая кислота



*соединение — источник атомов
оротовой кислоты*

- а) CO_2
- б) глутамин
- в) аспарат

15. Установить соответствие:

ферменты

синтеза карбамоилфосфата

- 1) карбамоилфосфатсинтетаза I
- 2) карбамоилфосфатсинтетаза II

свойства и функции

- а) донором азота в реакции является глутамин
- б) донором азота в реакции является аммиак
- в) локализована в цитозоле
- г) локализована в митохондриях
- д) фермент процесса синтеза мочевины
- е) фермент процесса синтеза пиримидиновых оснований

16. Установить соответствие:

*фермент синтеза пиримидиновых
нуклеотидов*

- 1) ЦТФ-синтетаза
- 2) оротоидинмонофосфатдекарбо-
ксилаза
- 3) нуклеотидмонофосфат-
трансфераза
- 4) оротатфосфорибозил-
трансфераза

катализируемая реакция

- а) фосфорилирование нуклеотидмонофосфата
- б) аминирование УТФ амидной группой глутамина
- в) синтез нуклеотида из оротовой кислоты пФРПФ
- г) образование УМФ из ОМФ

17. Установить соответствие:

реакция

- 1) УМФ \longrightarrow ЦМФ
- 2) дТМФ \longrightarrow дТДФ
- 3) дУМФ \longrightarrow дТМФ
- 4) ЦДФ \longrightarrow дЦДФ

тип превращения

- а) фосфорилирование
- б) метилирование
- в) восстановление
- г) аминирование

18. 5-Фосфорибозил-1-пирофосфат необходим для биосинтеза:

- 1) пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов
- 2) только пиримидиновых нуклеотидов
- 3) только пуриновых нуклеотидов

19. Адениловая кислота синтезируется в реакции взаимодействия инозин-5'-фосфата:

- 1) с NH_3
- 2) с НАД^+ , глутамином и АТФ
- 3) с ГТФ и аспарагиновой кислотой

20. Гуаниловая кислота синтезируется в реакции взаимодействия инозин-5'-фосфата:

- 1) с NH_3
- 2) с НАД^+ , глутамином и АТФ
- 3) с ГТФ и аспарагиновой кислотой

21. **Уридин-5'-фосфат образуется из:**
 - 1) цитидиловой кислоты
 - 2) оротовой кислоты
 - 3) тимидиловой кислоты
22. **Инозиновая кислота является предшественником:**
 - 1) урацила и тимина
 - 2) уридиновой и цитидиловой кислот
 - 3) пуриновых и пиримидиновых оснований
 - 4) оротовой кислоты
 - 5) адениловой и гуаниловой кислот
23. **Карбамоилфосфат, образующийся в биосинтезе пиримидиновых нуклеотидов, синтезируется из:**
 - 1) глутамина, CO_2 и 2 АТФ
 - 2) NH_3 , аспартата и АТФ
 - 3) рибозо-5-фосфата и АТФ
24. **5-Фосфорибозил-1-пирофосфат образуется из:**
 - 1) рибозы и АТФ
 - 2) рибозо-5-фосфата и АТФ
 - 3) глюкозо-5-фосфата и АТФ
25. **Реакцию синтеза 5-фосфорибозил-1-пирофосфата катализирует фермент:**
 - 1) ФРПФ-синтетаза
 - 2) инозинкиназа
 - 3) гексокиназа
 - 4) нуклеозиддифосфаткиназа
26. **Ферменты нуклеозидмонофосфаткиназы катализируют реакции:**
 - 1) ЦДФ \longrightarrow дЦДФ
 - 2) дУМФ \longrightarrow дТМФ
 - 3) ГМФ \longrightarrow ГДФ
 - 4) ЦМФ \longrightarrow ЦДФ
27. **В реакциях восстановления рибонуклеотидов в дезоксирибонуклеотиды непосредственным донором водорода является:**
 - 1) НАДН
 - 2) ФАДН₂
 - 3) тиоредоксин
 - 4) липоевая кислота
28. **Для превращения дУМФ в дТМФ необходимы:**
 - 1) нуклеотидтрансфераза
 - 2) ^5N - ^{10}N -метилен-ТГФ
 - 3) фосфатаза
 - 4) НАДФН
 - 5) тимидилатсинтаза
29. **В состав рибонуклеотидредуктазного комплекса, участвующего в восстановлении гидроксильной группы в положении С₂ рибозы, не входит:**
 - 1) тиоредоксин
 - 2) НАДФН
 - 3) ФАДН₂
 - 4) тиоредоксинредуктаза
 - 5) рибонуклеотидредуктаза
30. **Донором метильных групп в реакции превращения дУМФ в дТМФ является:**
 - 1) холин
 - 2) S-аденозилметионин
 - 3) метилен-тетрагидрофолат
31. **Регуляторными ферментами синтеза инозинмонофосфата является:**
 - 1) гексокиназа
 - 2) фосфорибозилпирофосфатамидотрансфераза
 - 3) пируваткарбоксилаза
 - 4) ксантиноксидаза
 - 5) фосфорибозилпирофосфатсинтетаза

32. Регуляторными ферментами синтеза пиримидиновых нуклеотидов являются:

- | | |
|--------------------------------|--------------------------------|
| 1) ксантиноксидаза | 4) карбамоилфосфатсинтетаза II |
| 2) аспараткарбамоилтрансфераза | 5) аденилосукцинатсинтетаза |
| 3) пирофосфокиназа | |

33. Аллостерическими ингибиторами регуляторных ферментов синтеза пиримидиновых нуклеотидов являются:

- | | | | | |
|--------|--------|--------|---------|--------|
| 1) АТФ | 2) ГТФ | 3) УТФ | 4) дТТФ | 5) ЦТФ |
|--------|--------|--------|---------|--------|

34. Установить соответствие:

| | |
|---|------------------|
| <i>регуляторный фермент синтеза пуриновых нуклеотидов</i> | <i>ингибитор</i> |
|---|------------------|

- | | |
|---|--------|
| 1) фосфорибозилпирофосфатсинтетаза | а) ГМФ |
| 2) фосфорибозилпирофосфатамидотрансфераза | б) ГДФ |
| 3) аденилосукцинатсинтетаза | в) АМФ |
| 4) инозинмонофосфатдегидрогеназа | |

35. Причиной развития оротоцидурии могут стать следующие биохимические нарушения:

- 1) избыточная ферментативная активность карбамоилфосфатсинтетазы
- 2) избыточная ферментативная активность оротатфосфорибозилтрансферазы
- 3) подавление активности фермента оротидинмонофосфатдекарбоксилазы
- 4) подавление активности фермента оротатфосфорибозилтрансферазы

36. Причиной развития подагры могут стать следующие биохимические нарушения:

- 1) активация синтеза пуриновых нуклеотидов
- 2) активация синтеза пиримидиновых нуклеотидов
- 3) подавление реутилизации пуриновых нуклеотидов
- 4) подавление реутилизации пиримидиновых нуклеотидов

37. Для лечения гиперурикемии применяют препарат аллопуринол, который является конкурентным ингибитором фермента:

- | | |
|----------------------|-------------------------------|
| 1) аденозиндеаминазы | 4) аллантаоказы |
| 2) ксантиноксидазы | 5) дигидрооротатдегидрогеназы |
| 3) цитидиндеаминазы | |

Главы 28—29

1. Центральный постулат молекулярной генетики сформулирован:

- | | |
|------------------|-----------------------|
| 1) С. Очоа | 4) Ф. Криком |
| 2) А. Корнбергом | 5) А. Е. Браунштейном |
| 3) Э. Фишером | |

2. Молекула ДНК выполняет функции:

- 1) хранения генетической информации
- 2) переноса генетической информации из ядра в цитоплазму
- 3) воспроизведения генетической информации
- 4) передачи генетической информации в процессе трансляции

3. Установить соответствие:

| | |
|--|----------------|
| <i>этап переноса генетической информации</i> | <i>матрица</i> |
|--|----------------|

- | | |
|-----------------|------------------|
| 1) репликация | а) мРНК |
| 2) транскрипция | б) одна цепь ДНК |
| 3) трансляция | в) две цепи ДНК |

4. Основным типом репликации, характерным для живой природы, является:

- 1) консервативная 2) полуконсервативная 3) дисперсивная

5. Установить соответствие:

особенности протекания

процесс

- | | |
|--|-----------------|
| 1) матрицей является одна из нитей ДНК | а) репликация |
| 2) матрицей являются обе нити ДНК | б) репарация |
| 3) субстратами служат дезоксинуклеозидтрифосфаты | в) транскрипция |

6. Расплетаются белками молекулы ДНК являются:

- | | |
|-------------------|------------------|
| 1) РНК-полимераза | 4) ДНК-лигаза |
| 2) ДНК-полимераза | 5) топоизомераза |
| 3) ДНК-хеликаза | |

7. Указать, какие белки не принимают участие в образовании репликативной вилки:

- | | |
|--------------------------|------------------|
| 1) рибонуклеазы Н | 3) ДНК-хеликазы |
| 2) ДНК-связывающие белки | 4) топоизомеразы |

8. В инициации репликации принимают участие ферменты:

- | | |
|--|-----------------|
| 1) РНК-зависимая РНК-полимераза | 4) ДНК-лигаза |
| 2) ДНК-зависимая РНК-полимераза (ДНК-праймаза) | 5) ДНК-хеликаза |
| 3) ДНК-полимераза I | |

9. ДНК-хеликаза осуществляет:

- 1) отрицательную спирализацию ДНК
- 2) стабилизацию раскрученных цепей ДНК
- 3) образование затравочных цепей РНК
- 4) разрыв водородных связей между комплементарными парами оснований ДНК
- 5) метилирование молекулы ДНК

10. Образование РНК-затравок со свободным 3'-концом происходит с помощью фермента:

- | | |
|----------------------|-----------------------|
| 1) топоизомеразы | 4) ДНК-полимеразы III |
| 2) ДНК-полимеразы I | 5) праймазы |
| 3) ДНК-полимеразы II | |

11. Синтез лидирующей цепи ДНК осуществляет:

- | | |
|----------------------|-----------------------|
| 1) ДНК-лигаза | 4) ДНК-полимераза III |
| 2) ДНК-полимераза I | 5) РНК-полимераза |
| 3) ДНК-полимераза II | |

12. Установить соответствие:

фермент

функция

- | | |
|-----------------------|---|
| 1) ДНК-полимераза I | а) удаляет РНК затравки и заполняет бреши |
| 2) ДНК-полимераза III | б) осуществляет синтез ведущей и отстающей цепей |
| 3) ДНК-лигаза | в) образует затравочные цепи праймера со свободным 3'-ОН-концом |
| 4) ДНК-праймаза | г) сшивает фрагменты Оказаки между 3'- и 5'-концами на расстоянии одного нуклеотида |
| 5) ДНК-хеликаза | д) расплетает суперспирализованную ДНК |
| 6) топоизомераза | е) разрывает водородные связи между комплементарными основаниями ДНК |

13. Синтез нуклеиновых кислот происходит из:

- 1) нуклеозидмонофосфатов
- 2) нуклеозиддифосфатов
- 3) нуклеозидтрифосфатов

14. Процесс транскрипции осуществляет фермент:

- 1) ДНК-полимераза III
- 2) рибонуклеаза Н
- 3) РНК-полимераза
- 4) пептидил-трансфераза
- 5) ДНК-праймаза

15. Фермент РНК-полимераза состоит из субъединиц:

- 1) одной
- 2) двух
- 3) трех
- 4) четырех
- 5) пяти

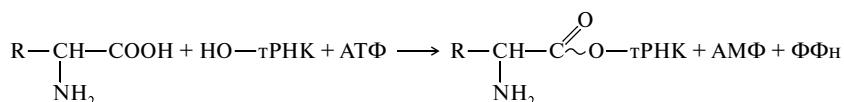
16. Прокариотический ρ-фактор принимает участие в транскрипции на этапе:

- 1) инициации
- 2) элонгации
- 3) терминации

17. Терминирующим кодоном не является:

- 1) УУУ
- 2) УГА
- 3) УАГ
- 4) УАА

18. Реакцию



катализирует фермент:

- 1) ДНК-лигаза
- 2) аминоксил-тРНК-синтаза
- 3) РНК-полимераза
- 4) топоизомераза
- 5) ДНК-полимераза III

19. Аминоксил-тРНК синтаза не имеет центров связывания для:

- 1) мРНК
- 2) тРНК
- 3) рРНК
- 4) аминокислоты

20. тРНК присоединяет аминокислоту:

- 1) к 2'-ОН-концу
- 2) к 3'-ОН-концу
- 3) к 5'-ОН-концу

21. Аминоксил-тРНК, иницирующие транскрипцию у прокариот, являются:

- 1) аланил-тРНК
- 2) метионил-тРНК
- 3) треонил-тРНК
- 4) формилметионил-тРНК
- 5) лейцил-тРНК

22. Фермент пептидил-трансфераза участвует:

- 1) в транслокации рибосомы по мРНК
- 2) в замыкании пептидной связи между аминокислотами
- 3) в связывании аминокислот с тРНК

23. Процессы трансляции протекают при участии макроэргов:

- 1) УТФ
- 2) ЦТФ
- 3) ТТФ
- 4) ГТФ

24. К посттрансляционной модификации белков не относится:

- 1) ковалентное присоединение простетической группы
- 2) образование мультиферментных комплексов
- 3) удаление сигнальной последовательности
- 4) превращение проферментов в ферменты

- 25. Промотор — это участок молекулы прокариотической ДНК:**
 1) к которому присоединяются белки-регуляторы
 2) который кодирует определенные белки
 3) к которому присоединяется σ -субъединица РНК-полимеразы
- 26. Кодрующие фрагменты генома эукариот:**
 1) интроны
 2) экзоны
 3) оператор
 4) промотор
 5) терминатор
- 27. Оператор — это участок молекулы прокариотической ДНК, отвечающий в транскрипции за:**
 1) инициацию
 2) регуляцию
 3) элонгацию
 4) терминацию
- 28. Синтез белка усиливают:**
 1) тестостерон
 2) адреналин
 3) оротат калия
 4) глюкоза
 5) жирные кислоты
- 29. Антибиотик тетрациклин обладает следующим механизмом действия:**
 1) ингибирует фермент пептидил-трансферазу
 2) конкурирует с аминоацил-тРНК за связывание с аминоацильным центром рибосомы
 3) ингибирует инициацию трансляции, соединяясь с 30S-субъединицей рибосомы
 4) образует неактивный комплекс с факторами терминации трансляции
 5) ингибирует фермент РНК-полимеразу
- 30. Антибиотик хлорамфеникол обладает следующим механизмом действия:**
 1) ингибирует фермент пептидил-транслоказу
 2) искажает РНК-матрицу
 3) ингибирует фермент пептидил-трансферазу
 4) блокирует терминацию трансляции
 5) блокирует инициацию трансляции
- 31. Антибиотик эритромицин обладает следующим механизмом действия:**
 1) инактивирует фактор инициации IF_2
 2) блокирует элонгацию транскрипции
 3) блокирует инициацию транскрипции
 4) ингибирует фермент пептидил-транслоказу
 5) ингибирует фермент пептидил-трансферазу
- 32. Антибиотик стрептомицин является ингибитором стадии трансляции:**
 1) инициации 2) элонгации 3) терминации
- 33. Установить соответствие:**
- | | |
|--|---|
| <i>ингибитор транскрипции эукариот</i> | <i>механизм действия</i> |
| 1) актиномицин | а) включается в мРНК вместо природного азотистого основания |
| 2) винбластин | б) ингибирует РНК-полимеразу II |
| 3) α -аманитин | в) связывается с ДНК, мешая работе РНК-полимеразы |
| 4) 5-фторурацил | г) внедряется между основаниями ДНК |

34. Рибозимы:

- 1) вырезают экзоны из цепи РНК
- 2) вырезают интроны из цепи РНК
- 3) участвуют в терминации транскрипции

35. Аттenuация представляет собой:

- 1) увеличение скорости транскрипции
- 2) уменьшение скорости транскрипции
- 3) уменьшение скорости трансляции

36. Энхансеры:

- 1) увеличивают генную активность
- 2) уменьшают генную активность
- 3) ингибируют РНК-полимеразу

Глава 30

1. Типы иммунного ответа:

- | | |
|------------------|-----------------|
| 1) гуморальный | 4) молекулярный |
| 2) организменный | 5) межклеточный |
| 3) клеточный | |

2. Реализацию реакций иммунитета обеспечивают:

- 1) тучные клетки, макрофаги, В-лимфоциты
- 2) макрофаги, В-лимфоциты, Т-лимфоциты
- 3) эритроциты, Т-лимфоциты, макрофаги

3. Иммуноглобулины или антитела являются:

- | | |
|------------------------|--------------------|
| 1) липопротеинами | 4) гликопротеинами |
| 2) гликолипидами | 5) полисахаридами |
| 3) гликолипопротеинами | |

4. N-Концевые последовательности L- и H-цепей иммуноглобулинов называются:

- 1) константными областями
- 2) переменными областями
- 3) шарнирной областью

5. C-Концевые участки L- и H-цепей иммуноглобулинов называются:

- 1) переменными областями
- 2) константными областями — центрами этих молекул
- 3) антигенсвязывающими

6. Область между F_{ab} - и F_c -областями молекулы иммуноглобулинов называется:

- | | |
|--------------------|-----------------------|
| 1) константной | 4) антигенсвязывающей |
| 2) переменной | 5) шарнирной |
| 3) гиперпеременной | |

7. Установить соответствие:

класс иммуноглобулинов

соответствующий тип H-цепей

- | | |
|---------|---------------|
| 1) Ig M | а) γ |
| 2) Ig D | б) α |
| 3) Ig G | в) μ |
| 4) Ig E | г) δ |
| 5) Ig A | д) ϵ |

8. **Вариабельная область легких цепей кодируется следующими фрагментами ДНК:**
1) C_L 2) V_L 3) J_L 4) D_H 5) C_H
9. **В результате перегруппировки минигенов, кодирующих вариабельную область легких цепей, формируется общий ген:**
1) $(V_H-D_H-J_H)$ 2) $(V_L-J_L-C_L)$ 3) (V_L-J_L)
10. **Сборка иммуноглобулинов класса А и М в ди-, тетра- и пентамеры происходит:**
1) в цистернах ЭПР 3) в цитоплазме
2) в аппарате Гольджи 4) в плазматической мембране
11. **C_H -Перестройка минигенов приводит к появлению:**
1) моноспецифических антител разных классов
2) антител с различной антигенной специфичностью
3) антител с высокой антибактериальной активностью
12. **Трансляция легких и тяжелых цепей иммуноглобулинов осуществляется:**
1) на мембранно-связанных полирибосомах ЭПР
2) на свободных полирибосомах
3) независимо друг от друга на различных полирибосомах ЭПР
13. **Образование четырехсубъединичной молекулы иммуноглобулинов происходит:**
1) в аппарате Гольджи
2) в цитоплазме
3) в цистернах ЭПР
14. **Образующийся в результате первой перестройки клеточного генома В-клеток $(V_H-D_H-J_H)$ — общий ген несет информацию:**
1) о вариабельных областях легких цепей
2) о константных областях тяжелых цепей
3) о вариабельных областях тяжелых цепей
4) о константных областях легких цепей
5) о μ -типе тяжелых цепей
15. **Захват и фрагментацию чужеродного материала (антигена) главным образом осуществляют:**
1) лимфоциты 4) эритроциты
2) макрофаги 5) базофилы
3) тучные клетки
16. **Процессированная антигенная детерминанта выводится на поверхность мембраны специфических антигенпредставляющих клеток и вступает в ассоциацию:**
1) с набором липопротеинов клеточных мембран
2) с набором гликолипопротеинов клеточных мембран
3) с белками главного комплекса гистосовместимости
4) с аденилатциклазным комплексом
5) с АТФ-азой
17. **Молекулы белков главного комплекса гистосовместимости имеются на поверхности:**
1) почти всех соматических клеток эукариот 4) В-лимфоцитов
2) эритроцитов 5) митохондрий
3) макрофагов

18. Активация системы комплемента происходит по типу:

- 1) ограниченного протеолиза
- 2) белок-белкового взаимодействия
- 3) аллостерической регуляции
- 4) химической нековалентной модификации

19. Активация системы комплемента приводит к возникновению:

- 1) специфических ингибиторов в сыворотке крови
- 2) моноспецифических антител
- 3) активного мембраноатакующего комплекса

20. Решающим моментом иммунного ответа является взаимодействие:

- 1) макрофагов и нейтрофилов
- 2) лимфоцитов и системы комплемента
- 3) нейтрофилов и системы комплемента
- 4) В- и Т-лимфоцитов
- 5) макрофагов, В- и Т-лимфоцитов

21. Интерлейкины 2, 3, 4, 5 и 6 секретируются:

- | | |
|------------------|-------------------|
| 1) В-лимфоцитами | 4) Т-киллерами |
| 2) плазмócитами | 5) Т-супрессорами |
| 3) Т-хелперами | |

22. Установить соответствие:

Т-лимфоциты

функции

- 1) цитотоксические Т-клетки
- 2) Т-хелперы
- 3) Т-супрессоры

- а) выделяют химические медиаторы, которые активизируют В-клетки и макрофаги
- б) способны непосредственно убивать клетки, инфицированные вирусами
- в) в основном подавляют реакцию Т-хелперов

23. СПИД характеризуется:

- 1) снижением продукции интерлейкина-2 и γ -интерферона
- 2) повышением продукции интерлейкина-2 и γ -интерферона

24. Установить соответствие:

факторы регуляции иммунного ответа

биологическое действие

- 1) антибиотики
- 2) тимусные факторы
- 3) лимфокины
- 4) кортикостероиды
- 5) интерферон

- а) иммунодепрессанты
- б) иммуномодуляторы

25. Большинство иммунодепрессантов в большей степени подавляют иммунитет:

- | | |
|----------------|-----------------|
| 1) гуморальный | 3) межклеточный |
| 2) клеточный | 4) молекулярный |

26. Иммунодепрессанты воздействуют на биосинтез:

- | | |
|-------------------------------|-----------------------------|
| 1) белков, липидов, углеводов | 4) катехоламинов, углеводов |
| 2) белков, нуклеиновых кислот | 5) простагландинов, липидов |
| 3) простагландинов, стероидов | |

Глава 31

1. Моноклональные антитела получают в результате слияния:

- 1) эпителиальных клеток
- 2) клеток лимфоидной ткани
- 3) клеток лимфоидной ткани и злокачественных клеток

2. В результате гибридизации выживают:

- 1) все клетки
- 2) миеломные
- 3) лимфоидные
- 4) гибридные

3. Моноклональные антитела используются для:

- 1) идентификации клеточных рецепторов
- 2) связывания антигенов
- 3) обезвреживания микроорганизмов
- 4) диагностики заболеваний

4. Каллус представляет собой:

- 1) сообщество недифференцированных клеток
- 2) суспензию клеток
- 3) фрагмент интактного растения

5. При переводе растительных клеток в культуру их биосинтетическая способность:

- 1) не изменяется
- 2) увеличивается
- 3) уменьшается

6. Протопласты получают посредством:

- 1) дезинтеграции клеток
- 2) разрушения клеточных стенок
- 3) разрушения клеточных стенок и цитоплазматических мембран

7. Фитопатогены преимущественно:

- 1) подавляют клеточный синтез
- 2) усиливают клеточный синтез
- 3) не влияют на биосинтетическую активность растительных клеток

8. Растения-регенераты образуются в результате:

- 1) шокового воздействия
- 2) слияния протопластов
- 3) воздействия ионизирующего излучения на растительные клетки

9. Для проведения генно-инженерных процедур необходимо:

- 1) секвенирование ДНК
- 2) секвенирование РНК
- 3) определение первичной структуры белка

10. Введение генов в компетентные клетки осуществляется при помощи:

- 1) специальных белков
- 2) низкомолекулярных РНК
- 3) вирусов
- 4) плазмид

11. Для трансформации чаще всего используют:

- 1) дрожжевые клетки
- 2) животные клетки
- 3) *E. coli*
- 4) клетки миеломы

12. При производстве генно-инженерного соматотропина его ген был получен:

- 1) химическим синтезом
- 2) химико-ферментативным синтезом
- 3) комбинированным методом с использованием обратной транскриптазы

13. В промышленных условиях продуцентом генно-инженерного интерферона являются:
- 1) растительные клетки
 - 2) *E. coli*
 - 3) животные клетки
 - 4) дрожжевые клетки
14. Образование растительных опухолей происходит в результате внедрения в клетку:
- 1) вируса SV-40
 - 2) T_i-плазмиды
 - 3) R_i-плазмиды
15. При помощи трансформации растительных клеток можно:
- 1) защитить растения от развития опухолевого процесса
 - 2) увеличить скорость метаболических процессов в клетке
 - 3) получить азотфиксирующие растения
16. Трансформация растительных клеток возможна:
- 1) в результате теплового воздействия
 - 2) в результате химического воздействия
 - 3) в результате облучения протопластов ультрафиолетовыми лучами
 - 4) при помощи микроорганизма *Agrobacterium*
17. Трансформацию животных клеток проводят при помощи:
- 1) вирусной ДНК
 - 2) вирусной РНК
 - 3) микробных белков
18. Трансгенных животных получают в результате:
- 1) трансформации сперматозоидов
 - 2) трансформации яйцеклеток
 - 3) модификации генома плода
19. Ферментативный метод получения генов заключается в следующем:
- 1) образование ДНК из мононуклеотидов под действием соответствующего фермента
 - 2) синтез гена на матрице мРНК при помощи обратной транскриптазы
 - 3) вырезание соответствующего участка ДНК при помощи рестриктаз
20. Моноклональные антитела подавляют рост опухолевых клеток за счет взаимодействия:
- 1) с ядерными структурами опухолевой клетки
 - 2) с рецепторами опухолевой клетки
 - 3) с кровеносными сосудами, питающими раковые клетки
21. Генно-инженерную технологию используют для производства:
- 1) инсулина
 - 2) пепсина
 - 3) химотрипсина
 - 4) гемоглобина
 - 5) интерферонов

Глава 32

1. Фармацевтическая биохимия изучает:
- 1) молекулярные механизмы действия гормонов
 - 2) биохимические основы технологии лекарственных форм
 - 3) молекулярные основы переноса генетической информации
 - 4) генно-инженерную биотехнологию лекарственных средств
 - 5) механизмы действия ферментов
2. Биохимические методы используются при стандартизации и контроле качества:
- 1) белково-пептидных гормонов
 - 2) гликозидов
 - 3) ферментов
 - 4) сульфаниламидов
 - 5) антибиотиков

3. **Высокая специфичность иммуноферментного анализа обеспечивается применением:**
 - 1) индикаторного фермента с высокой молярной активностью
 - 2) особо чистых реактивов
 - 3) моноклональных антител
 - 4) поликлональной антисыворотки
4. **Каталитическая активность ферментов при иммобилизации чаще всего:**
 - 1) возрастает
 - 2) уменьшается
 - 3) не изменяется
5. **Стабильность ферментов при иммобилизации:**
 - 1) возрастает
 - 2) уменьшается
 - 3) не изменяется
6. **Липосомальные лекарственные формы проникают в клетку путем:**
 - 1) простой диффузии
 - 2) облегченной диффузии
 - 3) эндоцитоза
 - 4) активного транспорта
7. **Биогенными лекарственными препаратами являются:**
 - 1) антибиотики
 - 2) гормоны
 - 3) сердечные гликозиды
 - 4) алкалоиды
8. **Реакции биотрансформации гидрофобных ксенобиотиков направлены на:**
 - 1) увеличение полярности молекул
 - 2) увеличение растворимости в липидах
9. **Терапевтическое действие барбитуратов при их биотрансформации в организме:**
 - 1) увеличивается
 - 2) снижается
 - 3) не меняется
10. **В организме основные метаболические превращения лекарств-ксенобиотиков протекают:**
 - 1) в желудке
 - 2) в кишечнике
 - 3) в печени
 - 4) в крови
 - 5) в мышцах
11. **Участие гидролитических ферментов желудочно-кишечного тракта в биотрансформации лекарств объясняется их:**
 - 1) абсолютной специфичностью
 - 2) относительной групповой специфичностью
 - 3) стереоспецифичностью
12. **В клетках печени наиболее эффективная ферментная система метаболизма ксенобиотиков локализована:**
 - 1) в митохондриях
 - 2) в лизосомах
 - 3) в эндоплазматическом ретикулуме
 - 4) в цитозоле
 - 5) в пероксисомах
13. **Скорость окислительной биотрансформации ксенобиотиков возрастает при совместном приеме их с фенobarбиталом, который:**
 - 1) повышает активность функционирующего цитохрома Р-450
 - 2) активирует НАДФН: цитохром Р-450 редуктазу
 - 3) индуцирует синтез цитохрома Р-450
14. **Реакции микросомального гидроксилирования протекают с участием:**
 - 1) цитохрома Р-450
 - 2) ФП (НАДФН: цитохрома Р-450-оксидоредуктазы)
 - 3) цитохромоксидазы
 - 4) НАДН-дегидрогеназы
 - 5) цитохрома с

15. Первая фаза биотрансформации включает все перечисленные реакции, кроме:

- 1) гидролиза
- 2) деалкилирования
- 3) конъюгации
- 4) восстановления
- 5) окисления

16. Реакции II фазы метаболизма, как правило, приводят:

- 1) к появлению тератогенной активности
- 2) к полной потере биологической активности
- 3) к возрастанию мутагенности
- 4) к фармакологической активации

17. Липотропные фармакопрепараты метаболизируют преимущественно с участием ферментов:

- 1) микросомальных монооксигеназ
- 2) лизосомальных гидролаз
- 3) цитозольных оксидоредуктаз
- 4) микросомальных трансфераз

18. При гипоальбуминемии дозы лекарственных препаратов должны быть:

- 1) уменьшены
- 2) увеличены
- 3) оставлены без изменения

19. Индукторы типа фенobarбитала индуцируют синтез:

- 1) цитохрома P-450
- 2) цитохрома P-448
- 3) глюкуронилтрансферазы
- 4) сульфотрансферазы
- 5) ариламинацетилтрансферазы

20. Индукторы типа метилхолантрена ускоряют метаболизм:

- 1) бензопирена
- 2) бензантрацена
- 3) циклопентанпергидрофенантрена
- 4) барбитуратов
- 5) аминазина

21. Скорость реакций окислительного деалкилирования фармакопрепаратов на фоне введения фенobarбитала:

- 1) увеличивается
- 2) уменьшается
- 3) не изменяется

22. Окислительное N-деалкилирование наркотиков приводит:

- 1) к снижению их токсичности
- 2) к повышению их токсичности
- 3) не изменяет токсичность

23. Продуктами окислительного деалкилирования фенаcetина являются:

- 1) N-ацетил-n-аминофенол и формальдегид
- 2) парацетамол и ацетальдегид
- 3) n-этоксанилин и уксусная кислота

24. Метаболит никотина  образуется в результате его:

- 1) окислительного деалкилирования
- 2) окислительного дезаминирования
- 3) N-окисления

25. Люминал  в эндоплазматическом ретикулуме печени может подвергаться:

- 1) ароматическому гидроксированию
 - 2) окислительному дезаминированию
 - 3) алифатическому гидроксированию
 - 4) окислительному деалкилированию
 - 5) *N*-окислению
26. Указать, какие реакции не относятся к цитохром Р-450-зависимым реакциям биотрансформации ксенобиотиков:
- 1) окислительного деалкилирования
 - 2) ароматического гидроксирования
 - 3) *S*-окисления
 - 4) метилирования
 - 5) десульфирования
27. Барбитураты в организме человека подвергаются:
- 1) ароматическому гидроксированию
 - 2) алифатическому гидроксированию
 - 3) *N*-окислению
 - 4) окислительному дезаминированию
 - 5) окислительному деалкилированию
28. Ксентобиотики, содержащие свободную аминогруппу у ароматического кольца, преимущественно подвергаются:
- 1) глюкуронированию
 - 2) ацетилированию
 - 3) сульфированию
 - 4) метилированию
29. В биосинтезе кофермента глюкуронилтрансферазы принимает участие:
- 1) АТФ
 - 2) ГТФ
 - 3) УТФ
 - 4) ЦТФ
30. Ацетильной конъюгации подвергаются лекарственные вещества и (или) их метаболиты, имеющие свободную группу:
- 1) $-\text{NH}_2$
 - 2) $-\text{OH}$
 - 3) $-\text{SH}$
 - 4) $-\text{COOH}$
31. Указать, какие виды не относятся к реакциям конъюгации:
- 1) глюкуронидный
 - 2) глициновый
 - 3) сульфатный
 - 4) фосфатный
32. Реакции конъюгации ксенобиотиков катализируют ферменты класса:
- 1) лигаз
 - 2) лиаз
 - 3) трансфераз
33. Ариламиноацетилтрансферазы, катализирующие реакции ацетильной конъюгации, локализованы:
- 1) в цитозоле
 - 2) в эндоплазматическом ретикулуме
 - 3) в митохондриях
 - 4) в аппарате Гольджи
 - 5) в плазматической мембране

ОТВЕТЫ НА ТЕСТЫ ДЛЯ ПРОВЕРКИ БИОХИМИЧЕСКИХ ЗНАНИЙ

Глава 2

1. 3. 2. 2. 3. 1. 4. 4. 5. 3. 6. 1—д; 2—а; 3—б; 4—в; 5—г. 7. 4. 8. 1. 9. 4. 10. 3. 11. 1—б; 2—г; 3—а; 4—в. 12. 1—а; 2—в; 3—б; 4—г. 13. 3. 14. 3, 5. 15. 2, 4. 16. 2, 5. 17. 1—б; 2—а; 3—в. 18. 2. 19. 3.

Главы 3—4

1. 3. 2. 3. 3. 1. 4. 1—г; 2—а; 3—д; 4—в; 5—б. 5. 1—б; 2—а. 6. 1. 7. 3. 8. 2. 9. 2, 5. 10. 1—б; 2—в; 3—а; 4—г. 11. 3. 12. 4. 13. 2, 3. 14. 3. 15. 2. 16. 2. 17. 2. 18. 2. 19. 3. 20. 2. 21. 1, 2. 22. 1. 23. 1, 2. 24. 3. 25. 2. 26. 3. 27. 1. 28. 2, 3. 29. 3. 30. 1. 31. 3. 32. 1. 33. 4. 34. 3. 35. 4. 36. 2. 37. 3. 38. 4, 5. 39. 2, 3. 40. 1, 2. 41. 3, 5. 42. 1—г; 2—а; 3—б; 4—в; 5—д. 43. 4. 44. 3, 4. 45. 2. 46. 3, 4. 47. 1, 3. 48. 2, 4. 49. 2. 50. 4. 51. 3, 4. 52. 2. 53. 4. 54. 3. 55. 3. 56. 3. 57. 4. 58. 2, 3.

Главы 5—7

1. 2. 2. 1—д; 2—а; 3—в; 4—б; 5—г. 3. 3. 4. 1. 5. 1, 4. 6. 1. 7. 2. 8. 2, 4. 9. 3. 10. 1—в; 2—а; 3—д; 4—б; 5—е; 6—г. 11. 2. 12. 3. 13. 1. 14. 2. 15. 2. 16. 3. 17. 3. 18. 1. 19. 1. 20. 3. 21. 3. 22. 4. 23. 3. 24. 3. 25. 3. 26. 2. 27. 2. 28. 2. 29. 2. 30. 1—в; 2—а; 3—б; 4—г. 31. 3. 32. 3. 33. 1. 34. 2. 35. 1. 36. 3. 37. 2. 38. 3. 39. 2. 40. 2. 41. 4. 42. 2, 4. 43. 2. 44. 2. 45. 1. 46. 1, 3. 47. 2. 48. 2. 49. 2. 50. 3. 51. 1. 52. 2. 53. 4. 54. 2. 55. 2. 56. 2. 57. 2. 58. 3. 59. 4. 60. 1—д; 2—в; 3—б; 4—г; 5—а.

Главы 8—10

1. 4. 2. 1. 3. 2, 4. 4. 1. 5. 2. 6. 1, 2. 7. 2, 3. 8. 3. 9. 1—г; 2—в; 3—а; 4—д; 5—б. 10. 2. 11. 5. 12. 1. 13. 3. 14. 3. 15. 1. 16. 2. 17. 1, 4. 18. 4. 19. 5. 20. 4. 21. 3. 22. 4. 23. 3. 24. 2. 25. 1—б; 2—в; 3—г; 4—а; 5—д. 26. 1—г; 2—а; 3—б; 4—в. 27. 5. 28. 4. 29. 1—г; 2—а; 3—д; 4—б; 5—в. 30. 1. 31. 1. 32. 1—в; 2—а; 3—б. 33. 2. 34. 4. 35. 3. 36. 2, 3. 37. 2. 38. 2. 39. 1, 5. 40. 5.

Главы 11—13

1. 2. 2. 4. 3. 1. 4. 3. 5. 3. 6. 4. 7. 4. 8. 2. 9. 1. 10. 2, 5. 11. 3. 12. 1, 2. 13. 3, 4. 14. 4. 15. 2, 4. 16. 2. 17. 1. 18. 1. 19. 2. 20. 2. 21. 1. 22. 3. 23. 2. 24. 4. 25. 2. 26. 1. 27. 3. 28. 1—а; 2—б; 3—г; 4—д; 5—в. 29. 1. 30. 1—б; 2—б; 3—а; 4—а. 31. 2. 32. 2. 33. 2. 34. 3. 35. 1, 4. 36. 1, 2. 37. 1—г; 2—а; 3—б; 4—в. 38. 3. 39. 1.

Глава 14

1. 1, 3. 2. 3. 3. 2. 4. 3. 5. 3. 6. 4. 7. 1—д; 2—г; 3—в; 4—а; 5—б. 8. 3. 9. 1. 10. 4. 11. 2. 12. 3. 13. 2. 14. 3. 15. 4. 16. 4, 5. 17. 2, 5. 18. 1. 19. 2. 20. 1, 4. 21. 3. 22. 3. 23. 3. 24. 2. 25. 2. 26. 2, 5. 27. 4, 5. 28. 2. 29. 3. 30. 2. 31. 2. 32. 2. 33. 3. 34. 3. 35. 2. 36. 3. 37. 2. 38. 2. 39. 3. 40. 2. 41. 3. 42. 2.

Глава 15

1. 1—б; 2—а. 2. 3. 3. 1. 4. 2, 4, 5. 5. 4. 6. 4. 7. 3. 8. 3. 9. 1—б; 2—а; 3—в; 4—г. 10. 2. 11. 2. 12. 3. 13. 1. 14. 2. 15. 2. 16. 5, 3. 17. 2, 3. 18. 1, 3. 19. 3. 20. 3. 21. 2. 22. 1. 23. 2. 24. 1—в; 2—б;

3—г; 4—а; 5—д. **25.** 3. **26.** 3. **27.** 2, 3. **28.** 2. **29.** 3. **30.** 2. **31.** 3. **32.** 3. **33.** 1—б; 2—а. **34.** 2. **35.** 2. **36.** 1. **37.** 1—б; 2—а. **38.** 2, 4, 5. **39.** 4. **40.** 2, 5. **41.** 4, 5. **42.** 3. **43.** 3. **44.** 3. **45.** 3. **46.** 2. **47.** 1—б; 2—а. **48.** 2, 3. **49.** 2. **50.** 4. **51.** 1, 2. **52.** 3. **53.** 1, 3. **54.** 1. **55.** 4. **56.** 1, 4. **57.** 1—в; 2—б; 3—а. **58.** 5.

Глава 16

1. 2, 4. **2.** 1. **3.** 3. **4.** 3. **5.** 2, 4. **6.** 2. **7.** 1. **8.** 1—б, г; 2—а, в. **9.** 3. **10.** 2. **11.** 1—а; 2—б. **12.** 1. **13.** 4. **14.** 2. **15.** 3. **16.** 3. **17.** 3. **18.** 1. **19.** 1—а; 2—б. **20.** 4. **21.** 1—а; 2—б. **22.** 3. **23.** 3. **24.** 1, 2, 5—а; 3, 4—б. **25.** 3. **26.** 3. **27.** 4. **28.** 1—б; 2—а. **29.** 2. **30.** 2. **31.** 1. **32.** 2. **33.** 3. **34.** 4. **35.** 2.

Глава 17

1. 5. **2.** 2. **3.** 3. **4.** 1, 2. **5.** 2. **6.** 2. **7.** 1—а, г, д; 2—б, в. **8.** 3. **9.** 4. **10.** 5. **11.** 2. **12.** 4. **13.** 1. **14.** 2. **15.** 3. **16.** 4. **17.** 1—в; 2—а; 3—б. **18.** 1—в; 2—а; 3—б. **19.** 3. **20.** 3. **21.** 1. **22.** 2. **23.** 2. **24.** 3. **25.** 3. **26.** 3. **27.** 3. **28.** 2. **29.** 1, 3, 4—а; 2, 5—б. **30.** 3. **31.** 1, 5. **32.** 1. **33.** 1. **34.** 2. **35.** 2. **36.** 3.

Глава 18

1. 3. **2.** 1, 5. **3.** 3. **4.** 3. **5.** 1, 4. **6.** 1—б, в, г, д; 2—а, г, д. **7.** 1—б; 2—в; 3—а. **8.** 1—в; 2—б; 3—а. **9.** 1—в; 2—а; 3—б. **10.** 2, 3, 5. **11.** 4. **12.** 1. **13.** 2, 3. **14.** 1, 2. **15.** 1. **16.** 1. **17.** 6. **18.** 4. **19.** 1. **20.** 4. **21.** 1—б; 2—а; 3—в. **22.** 1—в; 2—б. **23.** 1, 5. **24.** 1. **25.** 3, 4. **26.** 3. **27.** 4. **28.** 4. **29.** 3. **30.** 2. **31.** 3, 4, 5. **32.** 1, 3, 4. **33.** 4. **34.** 1, 2. **35.** 3. **36.** 4. **37.** 1—в; 2—а; 3—б; 4—г. **38.** 2. **39.** 3. **40.** 2.

Глава 19

1. 2, 4. **2.** 4. **3.** 2. **4.** 1—в; 2—а; 3—б. **5.** 4. **6.** 3. **7.** 1—б, г, е; 2—а, в, д, ж. **8.** 1. **9.** 2. **10.** 3. **11.** 1—в; 2—б; 3—г; 4—а; 5—д. **12.** 4. **13.** 1. **14.** 2. **15.** 2, 3. **16.** 2, 3, 4, 5. **17.** 3, 5. **18.** 1—в; 2—а; 3—б; 4—д; 5—г. **19.** 1—а; 2—г; 3—б; 4—в. **20.** 5. **21.** 3. **22.** 1—г; 2—а; 3—б; 4—в; 5—д. **23.** 2, 4, 5. **24.** 2, 4. **25.** 3.

Глава 20

1. 3. **2.** 1, 3. **3.** 2, 4. **4.** 1, 4. **5.** 2. **6.** 5. **7.** 3. **8.** 3. **9.** 3, 5. **10.** 2. **11.** 2. **12.** 3, 5. **13.** 4. **14.** 1, 3. **15.** 3. **16.** 1, 4. **17.** 1, 3, 4. **18.** 3, 5. **19.** 5. **20.** 1. **21.** 3. **22.** 1—а, в; 2—б, г. **23.** 2, 4. **24.** 1—в; 2—б; 3—г; 4—а. **25.** 2, 3, 5. **26.** 4.

Глава 21

1. 2, 4. **2.** 2. **3.** 3. **4.** 3. **5.** 1—б; 2—в; 3—а; 4—д; 5—г. **6.** 3. **7.** 4. **8.** 5. **9.** 2. **10.** 1—в; 2—а; 3—д; 4—б; 5—г. **11.** 1—б; 2—а, в, г, д. **12.** 4. **13.** 2. **14.** 2. **15.** 5. **16.** 3. **17.** 4. **18.** 1—а, в; 2—б, г. **19.** 2. **20.** 3. **21.** 4. **22.** 2. **23.** 3. **24.** 1—г; 2—б; 3—в; 4—а. **25.** 5. **26.** 2. **27.** 5. **28.** 2. **29.** 3. **30.** 1—д; 2—г; 3—а; 4—в; 5—б.

Глава 22

1. 2. **2.** 1—в; 2—а; 3—д; 4—б; 5—г. **3.** 2, 3. **4.** 1—в; 2—а; 3—б; 4—г. **5.** 3. **6.** 1—в; 2—а; 3—б. **7.** 3. **8.** 2. **9.** 4. **10.** 1. **11.** 1. **12.** 4. **13.** 3, 4, 5. **14.** 2, 4, 5. **15.** 5. **16.** 1—в; 2—а; 3—б. **17.** 1, 4. **18.** 1, 3. **19.** 3, 5. **20.** 3. **21.** 2. **22.** 2. **23.** 1. **24.** 2. **25.** 3. **26.** 2. **27.** 2. **28.** 1, 2. **29.** 2, 3, 4. **30.** 2. **31.** 1—б; 2—г; 3—а; 4—в; 5—д. **32.** 1—в; 2—а; 3—г; 4—б. **33.** 1, 2, 5. **34.** 3. **35.** 1—б; 2—г; 3—в; 4—а. **36.** 3.

Глава 23

1. 4. **2.** 3. **3.** 1—б; 2—в; 3—а; 4—г. **4.** 1, 4. **5.** 3, 5. **6.** 1—б, г, е; 2—а, в, д. **7.** 3. **8.** 1. **9.** 4. **10.** 1—б, г, з, д; 2—а, в, е, ж. **11.** 1—б, в; 2—а, г. **12.** 2, 4, 5. **13.** 1—а; 2—г; 3—б; 4—д. **14.** 4, 3, 2, 1, 6, 5. **15.** 2, 4. **16.** 4. **17.** 3. **18.** 2. **19.** 1. **20.** 4, 2, 5, 3, 1. **21.** 4. **22.** 1—б; 2—а;

3—в. 23. 1—б, г; 2—а, в. 24. 2. 25. 3. 26. 1. 27. 2, 4. 28. 2, 4. 29. 3. 30. 3. 31. 2. 32. 2, 4. 33. 3. 34. 2, 3. 35. 4. 36. 1. 37. 2, 4. 38. 2, 5, 1, 6, 3, 4. 39. 2. 40. 5. 41. 5. 42. 3. 43. 1—а, б, в, д; 2—е, г. 44. 4. 45. 3. 46. 5. 47. 3, 4. 48. 4. 49. 3, 4, 5. 50. 2. 51. 3. 52. 3. 53. 4. 54. 2. 55. 1—в; 2—б; 3—г; 4—а. 56. 3. 57. 4. 58. 2. 59. 3. 60. 4. 61. 1, 3.

Глава 24

1. 2, 3. 2. 1—б, д; 2—а, б; 3—г. 3. 1—б, д; 2—а, в, г, е. 4. 2, 3. 5. 1, 3, 5. 6. 4, 5. 7. 1—а, в; 2—г, б; 3—б. 8. 2. 9. 2. 10. 5. 11. 3. 12. 3, 4. 13. 1—б; 2—в; 3—д; 4—а; 5—г. 14. 1—е; 2—а; 3—б, в; 4—г; 5—д. 15. 3, 4. 16. 3, 5. 17. 2. 18. 2. 19. 5. 20. 3, 1, 4, 2. 21. 4. 22. 1—г; 2—д, г; 3—б, в. 23. 3. 24. 1, 5. 25. 1, 3, 5. 26. 2. 27. 1—а; 2—в; 3—б. 28. 1. 29. 2. 30. 1, 3. 31. 1, 3, 4. 32. 4. 33. 1, 4. 34. 2. 35. 1—г; 2—а; 3—в; 4—б; 5—д. 36. 1—в; 2—г; 3—а; 4—б. 37. 2. 38. 5. 39. 3. 40. 1—в; 2—б; 3—а. 41. 2. 42. 1—г; 2—д; 3—в; 4—б; 5—а. 43. 1. 44. 1. 45. 1. 46. 3. 47. 1, 5, 3, 2, 4. 48. 1, 4. 49. 2, 4, 5. 50. 1, 3. 51. 2, 3, 5. 52. 1—в, г; 2—а; 3—б, д. 53. 1—а, в, д; 2—б, г. 54. 1, 4. 55. 1—б; 2—а; 3—в; 4—г. 56. 4. 57. 5. 58. 3. 59. 2. 60. 3. 61. 3. 62. 2. 63. 1—б; 2—в; 3—а. 64. 2, 5. 65. 2, 6. 66. 3.

Глава 25

1. 1—а; 2—в; 3—б. 2. 2. 3. 3. 4. 2. 5. 1—б, в; 2—а. 6. 3. 7. 3. 8. 2. 9. 3. 10. 3, 1, 2, 4, 6, 5, 7, 8. 11. 3. 12. 1—в; 2—г; 3—а; 4—б. 13. 1—а; 2—б; 3—б; 4—а; 5—а. 14. 1. 15. 2. 16. 4. 17. 1, 4. 5. 18. 3. 19. 2. 20. 1. 21. 2, 4.

Глава 26

1. 3, 5. 2. 2. 3. 3, 4. 4. 1—б; 2—в; 3—а; 4—г. 5. 2. 6. 3. 7. 1—г; 2—в; 3—б; 4—а. 8. 2. 9. 3. 10. 2, 4. 11. 2, 3. 12. 3, 4. 13. 1—г; 2—е; 3, 9—б; 4, 5, 7—а; 6—в; 8—д. 14. 1, 4, 5, 6—в; 2—а; 3—б. 15. 1—б, д, г; 2—а, в, е. 16. 1—б; 2—г; 3—а; 4—в. 17. 1—г; 2—а; 3—б; 4—в. 18. 1. 19. 3. 20. 2. 21. 2. 22. 5. 23. 1. 24. 2. 25. 1. 26. 3, 4. 27. 3. 28. 2, 4, 5. 29. 3. 30. 3. 31. 2, 5. 32. 2, 4. 33. 3, 5. 34. 1—в; 2—б; 3—в; 4—а. 35. 1, 3, 4. 36. 1, 3. 37. 2.

Главы 28—29

1. 2. 2. 1. 3. 1—в; 2—б; 3—а. 4. 2. 5. 1—в; 2—а; 3—б. 6. 3, 5. 7. 1. 8. 2, 5. 9. 4. 10. 5. 11. 4. 12. 1—а; 2—б; 3—г; 4—в; 5—е; 6—д. 13. 3. 14. 3. 15. 5. 16. 3. 17. 1. 18. 2. 19. 1, 3. 20. 2. 21. 4. 22. 2. 23. 4. 24. 2. 25. 3. 26. 2. 27. 2. 28. 1. 29. 2. 30. 3. 31. 4. 32. 1. 33. 1—г; 2—в; 3—б; 4—а. 34. 2. 35. 2. 36. 1.

Глава 30

1. 1, 3. 2. 2. 3. 4. 4. 2. 5. 2. 6. 5. 7. 1—в; 2—г; 3—а; 4—д; 5—б. 8. 2. 9. 2. 10. 2. 11. 2. 12. 1. 13. 1. 14. 3. 15. 2. 16. 3. 17. 3. 18. 1. 19. 3. 20. 5. 21. 3. 22. 1—б; 2—а; 3—в. 23. 1. 24. 1—а; 2—б; 3—б; 4—а; 5—б. 25. 2. 26. 2.

Глава 31

1. 3. 2. 4. 3. 1, 4. 4. 1. 5. 3. 6. 2. 7. 2. 8. 2. 9. 1. 10. 3, 4. 11. 1, 3. 12. 3. 13. 4. 14. 2. 15. 3. 16. 4. 17. 1. 18. 2. 19. 2. 20. 2. 21. 1, 5.

Глава 32

1. 2; 4. 2. 1; 3. 3. 3. 4. 2. 5. 1. 6. 3. 7. 2. 8. 1. 9. 2. 10. 3. 11. 2. 12. 3. 13. 3. 14. 1, 2. 15. 3. 16. 2. 17. 1. 18. 1. 19. 1. 20. 2. 21. 1. 22. 3. 23. 1. 24. 3. 25. 1. 26. 4. 27. 1. 28. 2. 29. 3. 30. 1. 31. 4. 32. 3. 33. 1.

- Авитаминоз 93, 100, 109, 121
 Автотрофы 210
 Агликоны 229, 230
 Аденилатная система 207
 Аденилатциклаза 135, 136
 S-аденозилметионин 402, 522
 Аденозиндифосфат (АДФ) 175
 Аденозинмонофосфат (АМФ) 175, 190
 Аденозинтрифосфат (АТФ) 175, 190, 191
 Адреналин 154—157
 Азотистый баланс 361
 — — положительный 361
 — — отрицательный 361
 Азотистое равновесие 361
 Азотемия 408
 — — продукционная 409
 — — ретенционная 409
 Азотофиксация 394
 Азоферредоксин 397
 Аконитаза 79, 265
 Аланин 2, 18, 374
 Алкагольдегидрогеназа 71, 254
 Алкаптонурия 410
 Аллантоин 428
 Альбинизм 410
 Альбумины 47, 58, 224
 Аллоза 224
 Альдаровые кислоты 227
 Альдимин 374
 Альдозы 224
 Альдолаза 244
 Альдоновые кислоты 228
 Альдостерон 158
 Альдуруновые кислоты 228
 Альтроза 224
 Амилазы 79, 240
 Амилодекстрины 240
 Амилоза 233
 Амилопектины 233
 Амнирование восстановительное 398
 Аминоациладенилат 464
 Аминоацил-тРНК 464
 Аминоацил-тРНК-синтетаза 464
 n-Аминобензойная кислота 77
 Аминокислоты 17
 — активированные 464
 — активность оптическая 17—19
 — ароматические 18
 — всасывание 366
 — в промышленности и медицине 26
 — гликогенные 378, 379
 — дезаминирование 371
 — — восстановительное 371
 — — внутримолекулярное 371
 — — гидролитическое 371
 — — окислительное 372—374
 — — не прямое 377
 — заменимые 360, 399
 — изомеры 17
 — изоэлектрическая точка 20
 — катаболизм 370
 — кетогенные 378, 379
 — классификация 18
 — минорные 17
 — нарушение обмена 409
 — незаменимые 360, 402
 — превращения 311
 — свойства 19
 — серосодержащие 18
 — синтез микробиологический 23
 — синтез ферментативный 23
 — синтез химический 21—23
 — стереохимия 17—19
 — транспорт через мембраны 366—368
 — химические реакции 20
 δ-Аминолевулиновая кислота 414
 γ-Аминомасляная кислота (ГАМК) 26, 385
 Аминопептидазы 364
 Аминосахара 230, 235
 Аминотрансферазы 374
 Амины биогенные 365, 384
 Аммиак нейтрализация 388
 Аммонителические животные 388
 Анаболизм 189, 190
 Аномеры 226
 Антибиотики 15
 — пептидные 25
 Антивитамины 107, 113, 114, 117, 119
 Антигены 477, 482, 483
 Антикодон 462, 467, 186
 Антиоксиданты 208
 Антипорт 314
 Антитела 484—489
 — биосинтез 486—489
 — процессинг 489
 — структура 484—485
 Антраниловая кислота 126—129
 Апорепрессор 472
 Апофермент 62, 63
 Арабиноза 224
 Арахидоновая кислота 287
 Аргинин 18, 391
 Аскорбиновая кислота 126—129
 Аспарагин 18, 86, 390

- Аспарат 27, 390
Ассимиляция аммиака 398
— первичная 390
Аттенуатор 472, 473
АТФ-азный комплекс 204
H⁺-АТФ-синтетаза 204, 215
Na⁺/K⁺-АТФ-аза 311
Аубазидан 238
Ацетальдегид 254
N-Ацетилглюкозаамин 230
Ацетил-КоА 264, 443
N-Ацетилмурамовая кислота 230
N-Ацетилнейраминавая кислота 230
Ацилглицерол 290
Ацетоуксусная кислота 334
Ацидоз 390
Ацилпереносящий белок (АПБ) 342
Ацилтрансферазы 342
- Бактериохлорофилл 212**
Белки 28—59
— аномальные 88
— биосинтез 462—469
— — вторичная структура 30
— — ингибиторы 475—476
— — инициация 464—466, 468
— — регуляция 470—475
— — терминация 467, 468
— — элонгация 467
— выделение 54
— гидролиз 41, 42
— глобула расплавленная 36
— глобулярные 35—47
— денатурация 53
— домены 33, 34
— β-изгиб 33
— железосерные 197
— классификация 46
— мембранные 305
— — интегральные 305
— — перефирические 305
— молекулярная масса 44
— обмен 358
— олигомерные 39
— первичная структура 29
— плазмы крови 407—408
— полноценные 360
— растворимость 53
— расщепление в ЖКТ 361—363
— ренатурация 36, 37
— самосборка 37
— сверхвторичные структуры 33
— складчатые структуры 33
— сложные 48
— сократительные 46
— α-спираль 30
— β-структура 31
— субъединицы 39
— третичная структура 35—39
— фибриллярные 47
— функции 45—46
— четвертичная структура 39
Бензантрацен 519
- Биливердин 418
Билирубин 418
— диглюкоурионид 419
Биомембраны 301
— жидкостно-мозаичная модель 303
— свойства 306
— функции 301, 302
Биотин 130—132, 341
Брадикинин 26, 370
Брожение 252
— гетероферментативное 253
— гомоферментативное 253
— спиртовое 254
- Вазопрессин 149, 150
Валин 18, 27
Ванилин 229
Вердоглобин 418
Взаимодействия
— гидрофобные 35—39
— ионные 35
— ковалентные 29, 30
Витамины 92
Внутренний фактор Касла 119—121
Вода 10
— внеклеточная 10
— внутриклеточная 11
— роль 10—11
Водородные связи 35, 39, 179
Воска 291
Вращение оптическое, удельное 227
- Галактоза 88, 191
Галактозаамин 230
Галактоземия 284
Галактозилцерамид 297
Ганглиозиды 298
Гаптены 476
Гастрин 363
Гастрины 363, 170
Гексозы 224, 225
Гексокиназа 88, 241, 244
Гем 49, 411
Гемин 411
Гемоглобин 34—44, 413
— обмен 413—420
— свойства 51, 412
— связывание кислорода 51
— — углекислого газа 51
Гемоглобинопатия 88, 420
Гемоксигеназа 418
Гемосидерин 412
Гены 471—475
— индукция 471
— репрессия 471—472
— структурные 471—472
— экспрессия 471
— — механизмы 471, 473
— — регуляция 473—475
Ген-регулятор 471
Генетическая инженерия 499—508
Генетический код 462—463
— вырожденность 462

- универсальность 463
- Генистан 475
- Гепарин 237
- Геранилпирофосфат 353
- Гетерополисахариды 233
- Гетеротрофы 189
- Гиалуроновая кислота 235
- Гиббереллины 141
- Гидролазы 66—67
- Гидрохинон 208
- Гидролиз локальный 362
- Гипербилирубинемия 420
- Гипервитаминоз 407
- Гипергликемия 283
- Гиперпротенемия 407
 - абсолютная 470
- Гиповитаминозы 93
- Гипоксантин 173
- Гипопротенемия 407
- Гипотеза
 - индуцированного соответствия 69
 - качаний 462
 - конформационная 206
 - хемиосмотическая 203, 204
 - химическая 203
- Гипотиреоз 152
- Гипоталамус 142
- Гипофиз 144
- Гистамин 385
- Гистидин 18, 385
- Гистоны 182, 48, 473
- Гликоген 234
 - биосинтез 278, 279
 - депонирование 279
 - мобилизация 249
- Гликогенозы 284
- Гликогенолиз 249
- Гликогенсинтаза 278—280, 156
- Гликогенфосфорилаза 156, 249, 251
- Гликозидазы 240
- Гликозиды 231
- Гликолиз 242
- Гликолипиды 297
- Гликопротеины 48
- Глиоксилат 277
- Глицеральдегид-трифосфат 245
- Глицерол 290
- Глицерофосфолипиды 293, 347
- Глицин 18, 27
- Глобин 49, 50
- Глобулины 48, 58
- Глутаматдегидрогеназа 374, 385
- Глутаматдекарбоксилаза 26, 385
- Глутамин 389
- Глутаминовая кислота 26, 374, 385, 400
- Глутаминсинтаза 389
- Глутатион 366, 25
- Глутарат 266
- Глюкагон 166, 167
- Глюкаровая кислота 228
- Глюкоза 7, 224
 - катаболизм 242, 254
 - уровень в крови 283
- фосфорилирование 241
- Глюкозамин 230
- Глюкозидазы см. мальтаза
- Глюкозо-6-фосфат 241
- Глюкозо-6-фосфатаза 275
- Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа 255
- Глюкозурия 283
- Глюкокиназа 212
- Глюкокортикоиды 492
- Глюконеогенез 271
- Глюконовая кислота 89, 228
- Глюконолактоназа 255
- Глюкопираноза 226
- Глюкуроновая кислота 228, 519, 520
- Глютелины 46
- Гомеостаз 449
- Гомогенность 54
- Гомополисахариды 233
- Гомосерин 403
- Гомоцистеин 387, 403
- Гормон адrenокортикотропный 143—146, 356
- Грана 211
- Гранзимы 480
- Гуанилатциклаза 137—138
- Гуанин 172
- Гуанозиндифосфат 176
- Гуанозинтрифосфат 176
- Гулоза 224
- Гуттаперча 354
- Дегидрогеназы
 - НАД(Ф)-зависимые 193
 - ФАД-, ФМН-зависимые 194
- Дегидролипоилдегидрогеназа 261
- Дегидролипоилтрансацилаза 262
- Дезоксикортикостерон 158
- Дезоксирибоза 230, 436
- Дезоксирибонуклеазы (ДНК-азы) 86, 423
- Дезоксирибонуклеопротеины 175
- Дезоксинуклеозиды 174
- ДНК
 - антипараллельность цепей 179
 - биосинтез на ДНК-матрице 450
 - вторичная структура 179
 - двойная спираль 180, 452
 - депуринизация 454
 - клонирование 501
 - кольцевая 182, 500, 501
 - кроссинговер 456
 - липкие концы 500
 - мутации 455—456
 - первичная структура 177
 - рекомбинации 456
 - репарации 453, 454
 - — SOS 454, 455
 - — тиминовые димеры 453
 - репликации 450
 - третичная структура 182
 - транспозоны 456
 - физико-химические свойства 183
 - химические модификации 454
- ДНК-азы см. дезоксинуклеазы
- ДНК-геликазы 450, 451
- ДНК-лигазы 451, 499

- ДНК-метилазы 499
ДНК-полимеразы 4, 450
Декарбоксилирование 261, 382
Декстрины 240
Денитрификация 396
Десатураза 344
Диабет 167, 357, 283
Диаминопимелиновая кислота 404
Диастереомеры 228, 229
Диацилглицерол 210
Дигидроксиацетон *см.* кетоза
Дигидроацетонфосфат 245
Дигидросфингозин 297
Дигидроурацил 428
Дигидроуридин 427
Динитрофенол 201
Диоксигеназы 206
Дипептидазы 362
Дисахариды 231
Диспротеинемия 408
Домены 33, 34, 69
ДОФА 155, 384
ДОФА-декарбоксилаза 156, 384
Дофамин 155, 384
Дыхание 5
Дыхательная цепь 198, 199, 204
Дыхательный контроль 202
- Еноил — АПБ-редуктаза 343
Енолаза 246
- Железа** паразитовидная 153
— поджелудочная 163
— щитовидная 151
Железо
— геминное 49, 211, 411
— двухвалентное 50, 411
— негемовое 197
Железо-серные белки 197
Желчь 317
Желчные кислоты 317
— — биосинтез 318
— — вторичные 319
— — первичные 319
— — функции 318
Желчные пигменты 417
— — образование 418
— — детоксикация 419
— — выведение 420
Жирные кислоты 286, 328
— — активация 328
— — баланс энергии 333
— — биосинтез 338
— — окисление 328
— — свойства 286
— — применение 289
- Заменимые аминокислоты 360
Защитные белки 45—46
Зимогены 362
- Идоза** 224
Изоаллоксазин 194
Изолейцин 18
- Изолимонная кислота *см.* изоцитрат
Изомальтоза 240
Изомеразы 67, 333
Изомеры оптические 17, 223
Изопентилпирофосфат 353
Изоферменты (изоэнзимы) 83
Изоцитрат 266
Изоцитратдегидрогеназы 266
Изоцитратлиаза 27
Изоэлектрическая точка 52
Иминокислоты 18
Иммобилизация клеток 91
Иммобилизация ферментов 84, 85
Иммунитет 476
— гумморальный 481—483
— клеточный 477—481
Иммуноглобулины *см.* антитела
Иммунокомпетентные клетки 476
Иммунология 476
Иммунологическая память 484
Иммунный ответ 477, 481
Ингибирование 76
— бесконкурентное 77
— конкурентное 76
— неконкурентное 77
— по принципу обратной связи 81, 82
Ингибиторы
— синтеза белка 475, 476
— ферментов 476—478
Индикан 229
Индол 365
Индолилуксусная кислота 365
Индукционное соответствие 69
Индуктор 472
Инженерия генетическая 499
Инженерия клеточная 494
Инициация
— репликации 450
— транскрипции 458, 459
— трансляции 465, 466
Инозин 425
Инозинмонофосфат 430
Инсулин 40, 164—166, 501, 502
— аминокислотный состав 165
— генно-инженерный 501—502
— синтез и процессинг 165
Интегральные белки 305
Интерлейкины 480, 481
Интерферон 491
Интроны 461
Информомеры 462
Ионообменная хроматография 55, 57
Иодное число 291
- Кадаверин 364
Казеин 49
Калий 34
Кальмодулин 138, 252
Кальций 138
Кальцитонин 154
Карбангидраза 32
Карбамоилфосфат 392, 430
Карбамоилфосфатсинтаза 397, 430

- Карбоксилирование 275, 341
Карбоксипептидаза 363
Кардиолипин 296
Карнитин 328
Каротины 95, 213
Каротиноиды 95
Катаболизм 189, 190
Катал 62
Каталаза 40, 205
Катализ 68, 70
Катализаторы биологические 68—71
Катепсины 369
Катехоламины 154—156
Квантосома 213
Кератансульфаты 235
Кетимин 374
 α -Кетобутират 387
 α -Кетоглутарат 266
 α -Кетоглутаратдегидрогеназа 267
 α -Кетокислоты 246, 377
Кетозы 225
Кетоновые тела 334
— — биосинтез 335
— — роль 337
Кетонурия 357
Кефалин 294
Киназы фосфорилазы 156
Кислород 6
Кислотное число 290
Клетчатка 235
Клетка, компартменты 11
Клеточная стенка 12
Клеточные мембраны 12—14
Клонирование генов 501
Ковалентный катализ 70
Кодоны 462
Коллаген 46
Компартментализация 11
Комплементарная ДНК (кДНК) 500
Комплементарность 179
Комплемент система 490, 491
Комплексы 14, 81
Конкурентное ингибирование 76
Константа Михаэлиса 74
Конформация
— белков 47
— нуклеиновых кислот 179
— пиранозного кольца 226
Кооперативность 51
Копропорфириноген 415
Корепрессор 471, 472
Кортизол 158
Кортизон 158
Кортиколиберин 143
Кортикостероиды 157
Кортикостерон 158
Кортикотропин 143
Кор-фермент 457
Котранспорт 313
Кофактор 78—79
Коферменты 62—64
Коэффициент Р/О 201
Коэнзим А 261
— Q 195
Крахмал 233
— биосинтез 221
Креатинфосфат 205
Крезол 365
Ксантин 172, 427
Ксантиноксидаза 79, 427
Ксерофтальмия 98
Ксенобиотики 508
Ксилоза 224
Ксилулоза 225
Ксилит 228
Кэп 459
Кэпирование 459

Лактат 247
Лактатдегидрогеназа 247
Лактоза
— гидролиз 231
Ланостерол 300, 354
Лейцин 18
Лейкотриены 289
Лецитины 293
Лиазы 67
Либерины 143
Лигазы 67
Лиганды 81
Лизин 18
Лизосомы 13
Лизофосфолипазы 294
Лизоцим 491
Ликсоза 224
В-Лимфоциты 481
Т-Лимфоциты 477
Линолевая кислота 287
Линоленовая кислота 287
Липаза 80, 85, 320, 327
Липиды 284
— биосинтез 338—349
— в комплексе с белками 323
— классификация 265
— компоненты биомембран 303
— обмен 326
— транспорт 324
— функции 284
Липкие концы 461
Липогенез 338
Липоевая кислота 462
Липолиз 146, 326—334
Липопротеины 48, 324
Липопротеинлипаза 325
Липосомы 86, 315
— получение 315
— применение 86, 316, 505
Липотропные гормоны 143, 146, 147
Лютропин 143, 149

Магний 6
Макромолекулы 9, 10
Макроэлементы 6
Макроэрги 175
Макрофаги 490

- Малат 268
- Малатдегидрогеназа 268
- митохондриальная 338
- цитоплазматическая 338
- Малатсинтаза 277
- Малик-фермент 340
- Малонил-CoA 341
- Мальтаза 240
- Мальтоза 191
- Малые ядерные РНК 184, 461
- Маннит 228
- Манноза 224
- Марганец 214, 216
- Матричная РНК (мРНК) 184, 460
- Мевалонат 351
- Мезобилирубиноген 420
- Мезопорфирин 411
- Медь 197
- Меланин 147
- Меланоцитстимулирующие гормоны (МСГ) 147
- Мембраны 301
- внутренние 302
- миелиновые 302
- митохондрий 302
- плазматические 14, 302
- сопрягающие 197
- ядерные 302
- Менахинон 103
- Метаболизм 189
- Метаболиты 189
- Метаболические пути 440
- Металлопротеины 49, 63
- Металлоферменты 79
- Метионин 27, 32
- 6-Метиладенозин 172
- Механизм челночный 270
- — аспартатмаатный 270
- — глицеролфосфатный 270
- — цитратный 339
- Микросомы 206, 511
- Микросомальное окисление 206, 511
- Микротрубочки 14
- Микрофиламенты 14
- Микроэлементы 6
- Минералокортикоиды 158
- Миоглобин 43, 51
- Миозин 46
- Мицеллы 289
- Митоз 450
- Митоптоз 209
- Митохондрии 12, 13, 197
- Михаэлиса константа K_M 74, 75, 78
- Молибден 397
- Молибдоферридоксин 396
- Моноацилглицерол 290, 320
- Монооксигеназы 206
- Моноаминоксидаза (MAO) 155, 156, 386
- Мононуклеотиды 174
- Моносахариды 223—230
- восстановление 228
- метильные производные 229
- окисление 227
- физико-химические свойства 227—230
- фосфорилирование 230, 241
- Морфин 514
- Мочевая кислота 427
- Мочевина 60
- биосинтез 391
- орнитинный цикл 392
- Мукополисахариды 235
- Мультиферментные комплексы 80—82
- Мутагены 453, 455
- Мутаротация 226
- Мыла 289
- м-яРНК (малые ядерные РНК) 461
- НАД** 114, 176, 193
- НАД-дегидрогеназы 193
- НАДФ 114, 176
- НАДФН-дегидрогеназы 193
- Надпочечники
- корковый слой 157
- мозговой слой 154
- Натрий 311
- транспорт 311
- Незаменимые аминокислоты 360
- Нейраминаовая кислота 230
- Неконкурентное ингибирование 77—78
- Нейропептиды 25
- Ненасыщенные жирные кислоты 287, 333, 344
- Неомицин 475
- Никотиновая кислота 144
- Нитратредуктаза 396
- Нитрификация 396
- Нитрогеназная система 396
- Норадреналин 155
- Нуклеазы 423
- Нуклеиновые кислоты
- — строение 171—188
- Нуклеозиды 174
- Нуклеозиддифосфаты 175
- Нуклеозидмонофосфаты 175
- Нуклеозидтрифосфаты 175
- Нуклеотидаза 423
- Нуклеотиды 174
- биосинтез 429
- пиримидиновые 174
- пуриновые 174
- распад 426, 427
- циклические 176
- Обмен** 189
- азотный 394
- белковый 358
- веществ 189
- липидов 16, 338
- углеводов 239, 259, 271
- энергетический 190
- Обратная транскриптаза 450
- Оказаки фрагменты 452
- Оксалоацетат 265, 268
- Окисление биологическое 192
- — микросомальное 206, 511
- — митохондриальное 197
- — свободное 206
- β -Окисление жирных кислот 328

- Окислительное фосфорилирование 192, 198
Оксалоацетат 265, 273
Оксигемоглобин 51
Оксигеназы 169
Оксидоредуктазы 66
Окситоцин 149, 150
Олигонуклеотиды 423
Олигомерные белки 40
Олигопептиды 25
Олигосахариды 231, 232
— биосинтез 220, 221
— номенклатура 231
— расщепление 264, 249
Оперон 471, 472
Оптические изомеры 17, 226—227
Органеллы клеточные 12, 13
Орнитин 60, 393
Орнитиндекарбоксилаза 364
Оротатфосфорибозилтрансфераза 431
Оротовая кислота 430
Основание Шиффова 375, 384
Основания минорные 172
- Пальмитиновая кислота 286
Пальмитоил-АПБ 345
Пантотеновая кислота 112—114
Парат гормон 153
Паразитовидная железа 153
Пеллагра 114—116
Пенициллин 89
Пентозо-5-фосфаты 257
Пентозы 173
Пентозофосфатный путь 254
Пепсин 362
Пепсиноген 171, 362
Пептиды 24, 25
Пептидгидролазы 361
Пептидазы 362
Пептидная связь 29
Пептидилтрансферазы 467
Первичная структура
— белка 29, 30
— нуклеиновых кислот 177
Перекись водорода 207
Перенос электронов 192
Пероксидазы 208
Пероксисомы 13, 208
Перфорины 480
Печень
— детоксикация ксенобиотиков 510, 511
— обмен липидов 326
— углеводов 273
Пигменты 211, 417
Пиноцитоз 314
Пиран 226
Пиридоксаль 116—118
Пиридоксальфосфат 375
Пиридоксамин 116—118
Пиридоксаминфосфат 375
Пиридоксол 116—118
Пируват 246
— в синтезе глюкозы 272
— декарбоксилирование 261
— пути превращения 445
Пируватдегидрогеназа 261
Пируватдекарбоксилаза 253
Пируваткиназа 246
Плазмида 12, 500, 503
Пластоциамин 215
Пластохинон 215
Подагра 439
Поджелудочная железа 163, 167
Полинуклеотиды 177
Полинуклеотидфосфоорилаза 423
Полипептиды 24—26
Полирибосома 464, 465
Полисахариды 233
— биосинтез 221
— расщепление 240, 249
Половые гормоны 160
Половые железы 161, 162
Полуацетали 225
Полукетали 226
Потенциал
— окислительно-восстановительный 198, 199
— электрохимический 205
Полярность воды 10
Порфин 411
Порфирины 422
Порфобилиноген 414
Порфобилиногенсинтаза 414
Праймаза 451
Праймер 451
Прегненолон 158
Препроинсулин 165
Прогестерон 158, 163
Проинсулин 165
Прокариоты 11
Пролактин 147, 148
Проламины 14
Пролин 18, 401
Промотор 458—460
Простагландины 168, 289
Простациклины 169
Протетическая группа 62, 64
Протамины 48
Протеиназы 61, 361
Протеины 370
Протеинкиназа 136
Протеогликаны 237
Протеолиз
— ограниченный 82
— постсинтетический 461
Протеолитические ферменты 361, 370, 369
Протонный градиент 203
Протопорфирин 415
Процессинг
— посттранскрипционный 460—462
— посттрансляционный 468, 469
Прозластаза 363
Пурины 172
— биосинтез 433
— распад 426
Путресцин 364

- Радикалы
— свободные 207
— супероксидные 207, 208
Разобшители окисления и фосфорилирования 201
Расщепление (по Эдману) 41—42
Раффиноза 232
Рацематы 223
Реакции
— эндергонические 190
— экзергонические 190
Регуляторные субъединицы ферментов 136
Регуляция
— активности ферментов 80—84
— аллостерическая 81
— биохимических процессов 201
— синтеза белка 474
— транскрипции 471—474
Рекогниция 464
Рекомбинантные ДНК 501
Ренатурация белков 54
Рентгеноструктурный анализ белков 43
Репарация 451, 451—455
Репликативная вилка 452
Репликация ДНК 450—451
Репрессоры 471, 472
Ретикулоциты 430
Рестриктазы 500
Ретиналь 97
Ретинол 96
Рецепторы гормонов 133, 134
— Т-клеток 478
Рибит 228
D-Рибоза 173
Рибоза-5-фосфат 256
Рибозимы 461
Рибонуклеаза 35, 423
Рибонуклеотиды 174
Рибосомы 464—466
— субъединицы 465
Рибофлавин 110—112
Рибулоза 225
Рибулозо-5-фосфат 256
РНК
— биосинтез 457—460
— матричная 185, 460, 462
— рибосомальная 187, 460
— транспортная 185—187, 460
— ядерная гетерогенная 460
РНК-полимераза 450, 457, 458
Родопсин 97
РНК-праймеры 451
Рибофлавин 110
Рибулозо-5-фосфат 256
Рибулозо-1,5-дифосфат 217

Сахароза 231
— биосинтез 220
Сахарозофосфатсинтаза 221
Связь(и)
— ван-дер-ваальсовы 35
— водородная 30, 35
— гидрофобные 35
— гликозидная 171, 232
— дисульфидные 164
— ионная 35
— ковалентная 29
— макроэргические 175, 191
— пептидная 29
— фосфоангидридная 191
— фосфодиэфирная 177
Седогептулозо-7-фосфат 255
Секретин 170, 363
Серин 18, 372
Серотонин 384
Сефадекс 55, 57, 58
Сиаловая кислота 230
Сигнальные последовательности 164, 469
Симпорт 313
Синигрин 229
Синтаза жирных кислот 342
Синтез белка 463
— матричный 463
— нематричный 144
— пептидов 24, 25, 40
— регуляция 470—475
Системы светособирающие 212
Ситостерол 300
Скатол 365
Сквален 352, 354
Соединительные гены (J-гены) 486, 487
Сократительные белки 46
Соли аммонийные 390
Соматолиберин 143
Соматостатин 143, 167
Сорбоза 225
Сорбит 228
Спермацет 291
Спермидин 364
Спермин 364
Специфичность ферментов
— абсолютная 60
— относительная 60, 61
— стереоспецифическая 60
 α -Спираль 30—33
Сплайсинг 460—462
— альтернативный 462, 488, 489
Спиртовое брожение 254
Стадины 143
Стеариновая кислота 287
Стереоизомеры 17, 67
Стерины 298, 299
— биосинтез 350
Стероидные гормоны 157, 492
Стеркобилин 420
Стеркобилиноген 420
Стероиды 300
Стигмастерол 299
Стрептомицин 475
Структурные белки 305
Субъединицы 50
Сукцинат 267, 268
Сукцинатдегидрогеназа 268
Сукцинат-CoQ-редуктаза 199
Сукцинил-CoA 267

- Сукцинил-КоА-синтетаза 267
Супероксиданион 207
Супероксиддисмутаза 32, 208
Сфингозин 297
Сфинголипиды 297
Сфингомиелин 297
Сфингофосфолипиды 297
- Тагалола 225
Талола 224
Таурин 385
Таутомерия 173
Тела кетоновые 334
Теория индуцированного соответствия 69
Терминация 450, 467
Терминирующие кодоны 467
Термоллабильность 64
Терпены 354
ТГФК (тетрагидрофолиевая кислота) 124
Тестостерон 160, 161
Тетрациклин 475
Тетрозы 224
Тиамин 107
Тиаминпирофосфат 262
Тилакоиды 211
Тимидилатсинтаза 437
Тимин 172
Тимус 168, 476—478
Тиолаза 332
Тиоредоксин 436
Тиреоидные гормоны 151
Тиреоглобулин 151
Тирозин 18, 155, 365
Тирозинкиназа 166
Тиоксин 151
Тиреолиберин 143, 149
Тиреотропин 143, 148, 149
Токоферол 100—102
Топоизомеразы 450
Трансальдолаза 257
Трансаминазы 374—375
Трансаминирование 374—376
Транскетолаза 257
Транскрипция 457—462
— обратная 450
Транслоказы 309
Трансляция 463—468
Транспозоны 456, 457
Транспорт активный 310
— пассивный 308
Трансферазы 66
Трансферрин 415
Трегалоза 231
Треонин 18
Третичная структура
— белка 35—39
— нуклеиновых кислот 182, 187
Триацилглицеролы
— биосинтез 346
— гидролиз 320
Триидотиронин 151
Триозофосфатизомераза 245
Триозы 224, 225, 244
- Триплеты нуклеотидов
— иницирующие 408—459, 466
— терминирующие 452, 453, 460, 467
Трипсин 41, 61, 363
Трипсиноген 363
Триптофан 18, 384
Тромбоксаны 169, 289
Тропные гормоны 144
- Убиквентин 369, 470
Убихинон 195
Углеводы 222
— биосинтез 271
— восстановление 228
— гидролиз 240
— классификация 223
— метаболизм 242—283
— образование в процессах фотосинтеза 216, 219
— окисление 227
— переваривание 239
— стереохимия 273
— функции 222
Углерод
— источники для организма 210, 222
Угольная кислота 51
УДФ-глюкоза 221
УДФ-глюкурозилтрансфераза 419
Уксусная кислота 263, 443
Унипорт 313
Уравнение
— Лайнуивера—Берка 74
— Михаэлиса—Ментен 74
Урацил 172
Уреотелические животные 338
Уридинмонофосфат (УМФ) 175
Уридиндифосфат (УДФ) 175
Уридинтрифосфат (УТФ) 175
Урикотелические организмы 388
Уробилиноген 420
Уропорфириноген 414
УФ-облучение 453
- Фагоцитоз 490
Факторы
— Касла внутренний 120
— сопрягающие 203
— трансляции 465
— — инициации 465, 468
— — терминации 467
— — элонгации 467
Фарнезилпирофосфат 353
Фенилаланин 18, 21, 381
Фенилаланин-4-монооксигеназа 382
Фенилкетонурия 382, 410
Фенол 365
Феноптоз 209
Ферменты
— активность 62
— аллостерические 81
— гемсодержащие 196
— генетические дефекты 87—89
— единицы активности 62

- изоферменты 83
- иммобилизованные 84, 85
- катализ 68—71
- кинетика реакций 72—76
- классификация 63, 65
- мембранные 135, 511
- митохондриального окисления 193—199
- микросомального окисления 206, 511
- пиридоксальные 375
- пищеварения 362, 363
- рН-оптимум 75—76
- простые 62
- протеолитические 361, 370
- репарации ДНК 453
- сложные 62—63
- формы множественные 33
- Ферредоксин 63, 214
- Ферритин 415
- Феррохелатаза 415
- Фибриллярные белки 47
- Фикобилины 211
- Фиксация азота 3
- Фикоэритробилин 213
- Филаменты 14
- Филлохинон 103
- Фитогормоны 140—142
- Фитол 211
- Фитостеролы 299
- Флавинадениндинуклеотид 110, 194
- Флавиномононуклеотид 110, 194
- Флаводоксин 31
- Флавопротеины 194
- Фолиевая кислота 123—125
- Фолликулостимулирующий гормон (ФСГ) 143, 149
- N*-Формилметионил-тРНК 465
- Фосфатидаль 295
- Фосфатидилглицерол 296
- Фосфатидилинозитол 296
- Фосфатидилсерин 295, 349
- Фосфатидилхолин 293, 349, 350
- Фосфатидная кислота 293, 346
- Фосфатидиэтаноламин 294, 349
- Фосфоаденозинфосфосульфат 365
- Фосфоглицерат 246
- Фосфоглицераткиназа 246
- Фосфоглицератмутаза 246
- Фосфоглюкомутаза 279
- Фосфодиэстераза 137, 138, 327
- Фосфоенолпируват 246
- Фосфоенолпируваткарбоксилаза 273, 274
- Фосфолипазы 322
- Фосфолипиды 293
- Фосфорилаза *a* 251
- Фосфорилаза *b* 251
- Фосфорилирование 190
- окислительное 190, 192, 200
- субстратное 190, 192
- фотосинтетическое 190, 192
- Фосфофруктокиназа 88, 244
- Фотовосстановление НАДФ⁺ 210, 214
- Фотоокисление 214
- Фотосинтез 210—219
- Фототрофы 189
- Фрагменты Оказаки 452
- 5-Фосфорибозил-1-пирофосфат (ФРПФ) 431, 433
- Фруктоза 227
- Фруктозо-1,2-дифосфат 276
- Фруктозо-1,6-дифосфат 244, 274
- Фруктозо-6-фосфат 244
- Фруктозурия 284
- Фумараза 268
- Фумарат 268
- Фуран 228
- Фуранозы 228
- Хеликаза 450
- Хемиосмотическая теория 203
- Хемотрофы 189
- Хиломикроны 323—325
- Химотрипсин 41, 61, 85, 363
- Химотрипсиноген 363
- Хинон 195
- Хиральные центры (атомы) 223, 225
- Хлор 6
- Хлоропласты 211
- Хлорофиллы 211, 212
- Холестерол 299
- биосинтез 350
- в крови 323
- в мембранах 304
- Холин 299
- Холофермент 63
- Хондроитинсульфаты 235
- Хоризмовая кислота 405
- Хроматин 183
- Хроматография 55
- адсорбционная 55
- аффинная 56
- гельпроникающая 57, 58
- ионообменная 57
- распределительная 55
- Хромопротеины 49
- Хромосома 183
- Целлобиоза 231
- Целлюлоза 235
- Цепь переноса электронов
- участки сопряжения 199
- полипептидная 29
- Центр активный 64, 65
- аллостерический 81
- аминокислотный 465
- пептидный 465
- Церамиды 297
- Цереброзиды 297
- Церолоплазмин 412, 415
- Цианкобаламин(вит. В₁₂) 118
- Цианобактерии 210
- Цикл глиоксилатный 277
- γ -глутамильный 365
- глюкозаламиновый 378
- Кальвина 217, 218
- Кори 273
- орнитиновый 391

— трикарбоновых кислот 264
— — — баланс энергии 288
— — — реакции и ферменты 265—267
Циклический АМФ 176, 136
Циклопентанпергидрофенантрен 298
Цинга 129
Цинк 6
— в белках 79

Цистатионин 402
Цистеин 18, 372
Цистин 41
Цистинурия 409
Цитидиндифосфат 176
Цитидинмонофосфат 176
Цитидинтрифосфат 176
Цитозин 172
Цитозоль 14
Цитокины 479—481
Цитоскелет 14
Цитохром *a* 196
— a_3 196
— *b* 196
— *c* 196
— P-450 197, 511—513
Цитохромоксидаза 196
Цитрат 265
Цитратсинтаза 265
Цитруллин 393

Челночные механизмы 270, 339
Четвертичная структура 39, 40
Число 290
— иодное 291
— кислотное 290
— омыления 290

Шапироны 38, 39, 468
Шапиронины 38, 39
Шикимовая кислота 340
Шпильки 416, 460

Щитовидная железа 151

Эйкозаноиды 289
Экдизоны 300
Экзонуклеазы 423
Экзоны 461
Экзопептидазы 362
Экзоцитоз 314
— эндоплазматический 510
Эластаза 363
Электронпереносящие комплексы 199
Элонгация полипептидной цепи 467
— факторы 467
— цепи ДНК 452
Эмульгирование жиров 317
Энантиомеры 17, 225
Эндокринная система 132
Эндонуклеазы 423
— рестриктазы 424, 500
Эндопептидазы 362
Эндорфины 147
Эндоцитоз 314
Энергетический обмен 189, 191, 200
— — регуляция 201
Энергия активации 68, 190
— свободная стандартная 190
Энзимодиагностика 87
Энзимология 59
Энзимопатология 87—89
Энзимотерапия 85—87
Энкефалины 25
Энхансеры 474
Эпимеразы 256, 334
Эпимеры 225
Эргокальциферол 98
Эргостерол 299
Эритроза 224
Эритрозо-4-фосфат 257
Эритропоэз 413
Эритроциты 413
Эритрозула 225
 β -Эстрадиол 162
Эстрогены 162—163
Этанол 254
Этиопорфин 411

ОГЛАВЛЕНИЕ

| | |
|--|----|
| Предисловие | 3 |
| Введение | 4 |
| Глава 1. УРОВНИ ОРГАНИЗАЦИИ ЖИВОЙ МАТЕРИИ. КЛЕТОЧНЫЙ СИНТЕЗ | |
| 1.1. Молекулярные аспекты | 6 |
| 1.2. Клетка — мельчайшая структурная единица живой материи | 11 |
| 1.2.1. Классы клеток | 11 |
| 1.3. Практическое применение продуктов клеточного синтеза | 15 |
| Глава 2. АМИНОКИСЛОТЫ И ПЕПТИДЫ | |
| 2.1. Структура и классификация аминокислот | 17 |
| 2.2. Stereoхимия аминокислот | 17 |
| 2.3. Физико-химические свойства аминокислот | 19 |
| 2.4. Химические реакции, характерные для аминокислот | 20 |
| 2.5. Синтез аминокислот | 21 |
| 2.5.1. Химический синтез | 21 |
| 2.5.2. Ферментативный синтез | 23 |
| 2.5.3. Микробиологический синтез | 23 |
| 2.6. Пептиды | 24 |
| 2.6.1. Химический синтез пептидов | 24 |
| 2.6.2. Ферментативный синтез пептидов | 25 |
| 2.6.3. Природные пептиды | 25 |
| 2.7. Аминокислоты и пептиды в промышленности и медицине | 26 |
| 2.7.1. Аминокислоты как лекарственные вещества | 26 |
| Глава 3. БЕЛКИ. СТРУКТУРЫ И ФУНКЦИИ | |
| 3.1. Уровни структурной организации белковых макромолекул | 28 |
| 3.1.1. Первичная структура белков | 29 |
| 3.1.2. Вторичная структура белков | 30 |
| 3.1.3. Третичная структура белков | 35 |
| 3.1.4. Четвертичная структура белков | 39 |
| 3.2. Химический синтез и анализ белков | 40 |
| 3.2.1. Определение первичной структуры белков | 41 |
| 3.2.2. Определение вторичной структуры белков | 43 |
| 3.2.3. Определение третичной и четвертичной структур белков | 43 |
| 3.2.4. Определение молекулярной массы белков | 44 |
| 3.3. Биологические функции белков | 45 |
| 3.3.1. Каталитические белки | 45 |
| 3.3.2. Транспортные белки | 45 |
| 3.3.3. Регуляторные белки | 45 |
| 3.3.4. Защитные белки | 45 |
| 3.3.5. Сократительные белки | 46 |
| 3.3.6. Структурные белки | 46 |
| 3.3.7. Рецепторные белки | 46 |
| 3.3.8. Запасные и питательные белки | 46 |
| 3.3.9. Токсические белки | 46 |
| 3.4. Классификация белков. Отдельные представители | 46 |
| 3.4.1. Фибриллярные белки | 47 |
| 3.4.2. Глобулярные белки | 47 |
| 3.4.3. Простые и сложные белки | 47 |

Глава 4. СВОЙСТВА БЕЛКОВ. ВЫДЕЛЕНИЕ И ОЧИСТКА. ПРИМЕНЕНИЕ БЕЛКОВ

| | |
|--|----|
| 4.1. Физико-химические свойства белков | 52 |
| 4.2. Денатурация белков | 53 |
| 4.3. Выделение и очистка белков | 54 |
| 4.3.1. Хроматографические методы, применяемые на стадии концентрирования | 55 |
| 4.3.2. Хроматографические методы, применяемые на стадии тонкой очистки | 55 |
| 4.3.3. Гель-фильтрация | 57 |
| 4.4. Белки в промышленности и медицине | 58 |
| 4.4.1. Применение белков в медицинской практике | 59 |

Глава 5. ФЕРМЕНТЫ

| | |
|--|----|
| 5.1. Из истории энзимологии | 59 |
| 5.2. Свойства ферментов | 60 |
| 5.3. Определение активности ферментов | 62 |
| 5.4. Строение ферментов | 62 |
| 5.5. Активные центры ферментов | 64 |
| 5.6. Внутриклеточное распределение ферментов | 65 |
| 5.7. Классификация и номенклатура ферментов | 65 |

Глава 6. ПРИНЦИПЫ ФЕРМЕНТАТИВНОГО КАТАЛИЗА. МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ФЕРМЕНТОВ

| | |
|---|----|
| 6.1. Общая характеристика | 68 |
| 6.2. Механизм действия ферментов | 68 |
| 6.2.1. Механизм действия алкогольдегидрогеназы | 71 |
| 6.3. Основы ферментативной кинетики | 72 |
| 6.3.1. Влияние концентрации фермента | 72 |
| 6.3.2. Влияние концентрации субстрата | 72 |
| 6.3.3. Влияние температуры | 75 |
| 6.3.4. Влияние pH | 75 |
| 6.4. Ингибиторы ферментов | 76 |
| 6.4.1. Обратимые ингибиторы | 76 |
| 6.5. Активаторы ферментов | 78 |
| 6.6. Основы гетерогенного катализа. Липолитические ферменты | 79 |
| 6.7. Регуляция активности ферментов | 80 |
| 6.7.1. Аллостерические ферменты | 81 |
| 6.7.2. Мультиферментные комплексы | 81 |
| 6.7.3. Множественные молекулярные формы ферментов | 83 |

Глава 7. ПРИМЕНЕНИЕ ФЕРМЕНТОВ

| | |
|--|----|
| 7.1. Общая характеристика | 84 |
| 7.2. Иммуобилизованные ферменты | 84 |
| 7.3. Применение ферментов в медицине | 85 |
| 7.3.1. Ферменты в клинической диагностике | 87 |
| 7.3.2. Молекулярные основы энзимопатий | 87 |
| 7.4. Применение ферментов в фармацевтическом анализе | 89 |
| 7.5. Применение ферментов в производственных процессах | 90 |

Глава 8. ВИТАМИНЫ

| | |
|--|----|
| 8.1. Общая характеристика | 92 |
| 8.1.1. Классификация витаминов | 92 |
| 8.1.2. Нарушение баланса витаминов в организме | 93 |
| 8.1.3. Коферментная функция витаминов | 94 |

Глава 9. ВИТАМИНЫ, РАСТВОРИМЫЕ В ЖИРАХ

| | |
|------------------------------------|----|
| 9.1. Витамины группы А | 95 |
| 9.1.1. Общая характеристика | 95 |
| 9.1.2. Метаболизм витамина А | 96 |
| 9.1.3. Биохимические функции | 96 |

| | |
|--|-----|
| 9.1.4. Биосинтез. | 97 |
| 9.1.5. Химический синтез | 97 |
| 9.1.6. Авитаминоз | 97 |
| 9.1.7. Практическое применение | 98 |
| 9.2. Витамины группы D | 98 |
| 9.2.1. Общая характеристика. | 98 |
| 9.2.2. Метаболизм | 99 |
| 9.2.3. Биохимические функции | 99 |
| 9.2.4. Синтез. | 99 |
| 9.2.5. Авитаминоз | 100 |
| 9.2.6. Практическое применение | 100 |
| 9.3. Витамины группы E | 100 |
| 9.3.1. Общая характеристика. | 100 |
| 9.3.2. Метаболизм | 101 |
| 9.3.3. Биохимические функции | 101 |
| 9.3.4. Синтез. | 101 |
| 9.3.5. Авитаминоз | 102 |
| 9.3.6. Практическое применение | 102 |
| 9.4. Витамины группы K | 102 |
| 9.4.1. Общая характеристика. | 102 |
| 9.4.2. Метаболизм | 103 |
| 9.4.3. Биохимические функции | 104 |
| 9.4.4. Синтез. | 104 |
| 9.4.5. Авитаминоз | 104 |
| 9.4.6. Практическое применение | 105 |
| 9.5. Витамин Q (убихинон) | 105 |
| 9.5.1. Общая характеристика. | 105 |
| 9.5.2. Синтез. | 106 |
| 9.5.3. Биохимические функции | 106 |
| 9.6. Витамин F | 106 |
| 9.6.1. Общая характеристика. | 106 |
| 9.6.2. Авитаминоз | 107 |

Глава 10. ВИТАМИНЫ, РАСТВОРИМЫЕ В ВОДЕ

| | |
|--|-----|
| 10.1. Витамин B ₁ (тиамин). | 107 |
| 10.1.1. Общая характеристика | 107 |
| 10.1.2. Метаболизм | 108 |
| 10.1.3. Биохимические функции. | 108 |
| 10.1.4. Синтез | 109 |
| 10.1.5. Авитаминоз | 109 |
| 10.1.6. Практическое применение | 109 |
| 10.2. Витамин B ₂ (рибофлавин) | 110 |
| 10.2.1. Общая характеристика | 110 |
| 10.2.2. Метаболизм | 110 |
| 10.2.3. Биохимические функции. | 111 |
| 10.2.4. Синтез. | 111 |
| 10.2.5. Авитаминоз | 111 |
| 10.2.6. Практическое применение | 111 |
| 10.3. Витамин B ₃ (пантотеновая кислота). | 112 |
| 10.3.1. Общая характеристика | 112 |
| 10.3.2. Метаболизм | 113 |
| 10.3.3. Биохимические функции. | 113 |
| 10.3.4. Синтез. | 113 |
| 10.3.5. Авитаминоз | 113 |
| 10.3.6. Практическое применение | 113 |
| 10.4. Витамин B ₅ (PP, никотинамид, ниацин) | 114 |
| 10.4.1. Общая характеристика | 114 |
| 10.4.2. Метаболизм | 114 |
| 10.4.3. Биохимические функции. | 115 |

| | |
|--|-----|
| 10.4.4. Синтез | 115 |
| 10.4.5. Авитаминоз | 116 |
| 10.4.6. Практическое применение | 116 |
| 10.5. Витамин В ₆ (пиридоксин, пиридоксамин, пиридоксаль) | 116 |
| 10.5.1. Общая характеристика | 116 |
| 10.5.2. Метаболизм | 117 |
| 10.5.3. Биохимические функции | 117 |
| 10.5.4. Синтез | 118 |
| 10.5.5. Авитаминоз | 118 |
| 10.5.6. Практическое применение | 118 |
| 10.6. Витамин В ₁₂ (цианкобаламин) | 118 |
| 10.6.1. Общая характеристика | 118 |
| 10.6.2. Метаболизм | 119 |
| 10.6.3. Биохимические функции | 120 |
| 10.6.4. Синтез | 120 |
| 10.6.5. Авитаминоз | 121 |
| 10.6.6. Практическое применение | 121 |
| 10.7. Витамин В ₁₅ (пангамовая кислота) | 122 |
| 10.7.1. Биохимические функции | 122 |
| 10.7.2. Синтез | 122 |
| 10.7.3. Практическое применение | 123 |
| 10.8. Витамин В ₉ (фолиевая кислота, фолацин) | 123 |
| 10.8.1. Общая характеристика | 123 |
| 10.8.2. Метаболизм | 124 |
| 10.8.3. Биохимические функции | 124 |
| 10.8.4. Синтез | 125 |
| 10.8.5. Авитаминоз | 125 |
| 10.8.6. Практическое применение | 126 |
| 10.9. Витамин С (аскорбиновая кислота) | 126 |
| 10.9.1. Общая характеристика | 126 |
| 10.9.2. Метаболизм | 127 |
| 10.9.3. Биохимические функции | 128 |
| 10.9.4. Синтез | 128 |
| 10.9.5. Авитаминоз | 128 |
| 10.9.6. Практическое применение | 129 |
| 10.10. Витамины группы Р (биофлавоноиды) | 129 |
| 10.10.1. Общая характеристика | 129 |
| 10.10.2. Метаболизм | 129 |
| 10.10.3. Биохимические функции. Биосинтез | 130 |
| 10.10.4. Авитаминоз | 130 |
| 10.10.5. Практическое применение | 130 |
| 10.11. Витамин Н (биотин) | 130 |
| 10.11.1. Общая характеристика | 130 |
| 10.11.2. Метаболизм | 131 |
| 10.11.3. Биохимические функции | 131 |
| 10.11.4. Синтез | 132 |
| 10.11.5. Авитаминоз | 132 |

Глава 11. ГОРМОНЫ. МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ

| | |
|--|-----|
| 11.1. Общая характеристика | 132 |
| 11.2. Гормоны животных и человека | 133 |
| 11.2.1. Клетки-мишени | 133 |
| 11.2.2. Рецепторы | 133 |
| 11.2.3. Классификация гормонов | 134 |
| 11.2.4. Биологические свойства гормонов | 134 |
| 11.2.5. Механизмы действия гормонов | 134 |
| 11.3. Гормоны растений (фитогормоны) | 140 |
| 11.3.1. Практическое применение фитогормонов | 142 |

Глава 12. ГОРМОНЫ ЦЕНТРАЛЬНЫХ ЖЕЛЕЗ

| | |
|--|-----|
| 12.1. Гормоны гипоталамуса | 142 |
| 12.2. Гормоны гипофиза | 144 |
| 12.2.1. Адrenокортикотропный гормон (АКТГ) | 144 |
| 12.2.2. Липотропин | 146 |
| 12.2.3. Меланоцит-стимулирующий гормон (МСГ) | 147 |
| 12.2.4. Пролактин | 147 |
| 12.2.5. Гормон роста (соматотропин, СТГ) | 148 |
| 12.2.6. Тиреотропный гормон (ТТГ) | 148 |
| 12.2.7. Гонадотропные гормоны | 149 |
| 12.2.8. Вазопрессин и окситоцин | 150 |

Глава 13. ГОРМОНЫ ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ ЭНДОКРИННЫХ ЖЕЛЕЗ

| | |
|---|-----|
| 13.1. Общая характеристика | 151 |
| 13.2. Гормоны щитовидной железы | 151 |
| 13.3. Гормоны паращитовидной железы | 153 |
| 13.3.1. Паратгормон | 153 |
| 13.3.2. Кальцитонин (КТ) | 154 |
| 13.4. Гормоны надпочечников | 154 |
| 13.4.1. Гормоны мозгового слоя надпочечников | 154 |
| 13.4.2. Гормоны коры надпочечников | 157 |
| 13.5. Половые гормоны | 160 |
| 13.5.1. Андрогены | 160 |
| 13.5.2. Эстрогены | 162 |
| 13.6. Гормоны поджелудочной железы | 163 |
| 13.6.1. Инсулин | 164 |
| 13.6.2. Глюкагон | 166 |
| 13.6.3. Соматостатин | 167 |
| 13.6.4. Практическое применение гормонов поджелудочной железы | 167 |
| 13.7. Гормоны тимуса | 168 |
| 13.8. Простагландины | 168 |
| 13.9. Гормоны желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) | 170 |

Глава 14. НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ. ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ, СТРУКТУРА, ФУНКЦИИ

| | |
|--|-----|
| 14.1. Общая характеристика | 171 |
| 14.2. Химический состав нуклеиновых кислот | 171 |
| 14.2.1. Азотистые основания | 172 |
| 14.2.2. Таутомерия и некоторые другие физико-химические свойства оснований | 173 |
| 14.2.3. Углеводные компоненты | 173 |
| 14.2.4. Нуклеозиды | 174 |
| 14.2.5. Нуклеотиды | 174 |
| 14.3. Природные нуклеотиды, структура, функции | 175 |
| 14.3.1. Макроэргические нуклеотидтрифосфаты | 175 |
| 14.3.2. Циклические нуклеотиды | 176 |
| 14.3.3. Нуклеотиды в составе коферментов | 176 |
| 14.3.4. Синтетические аналоги нуклеотидов, области их применения | 176 |
| 14.4. Структура нуклеиновых кислот | 177 |
| 14.4.1. Структура и функции дезоксирибонуклеиновых кислот | 177 |
| 14.4.2. Структура и функции рибонуклеиновых кислот | 184 |

Глава 15. БИОЛОГИЧЕСКОЕ ОКИСЛЕНИЕ. ОСНОВЫ БИОЭНЕРГЕТИКИ

| | |
|--|-----|
| 15.1. Общая характеристика | 189 |
| 15.2. Биологическое окисление | 192 |
| 15.2.1. Никотинамидадениндинуклеотиды | 193 |
| 15.2.2. Флавиновые ферменты | 194 |
| 15.2.3. Хиноны | 195 |
| 15.2.4. Цитохромы | 195 |
| 15.2.5. Белки, содержащие негемовое железо | 197 |

| | |
|--|-----|
| 15.3. Окислительное фосфорилирование | 197 |
| 15.3.1. Митохондрии как внутриклеточные энергетические центры | 197 |
| 15.3.2. Организация дыхательной цепи транспорта электронов | 198 |
| 15.3.3. Окислительное фосфорилирование: понятие, количественная оценка | 200 |
| 15.3.4. Регуляция митохондриального окисления | 201 |
| 15.3.5. Механизм окислительного фосфорилирования | 202 |
| 15.4. Свободное окисление | 206 |
| 15.4.1. Общая характеристика | 206 |
| 15.4.2. Генерация свободных радикалов | 207 |
| 15.4.3. Защита от активных форм кислорода (АФК) | 208 |

Глава 16. ФОТОСИНТЕЗ

| | |
|---|-----|
| 16.1. Общая характеристика | 210 |
| 16.2. Хлоропласты — клеточные органеллы фотосинтеза | 211 |
| 16.3. Световые реакции фотосинтеза | 211 |
| 16.4. Механизм световой фазы | 213 |
| 16.5. Темновая фаза фотосинтеза | 216 |
| 16.5.1. C_4 -путь фотосинтеза глюкозы | 219 |
| 16.5.2. Синтез сахарозы | 220 |
| 16.5.3. Синтез крахмала и целлюлозы | 221 |

Глава 17. УГЛЕВОДЫ. СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИИ

| | |
|--|-----|
| 17.1. Общая характеристика | 222 |
| 17.2. Функции углеводов | 222 |
| 17.3. Моносахариды: строение, номенклатура | 223 |
| 17.3.1. Физико-химические свойства моносахаридов | 227 |
| 17.4. Олигосахариды | 231 |
| 17.5. Полисахариды (гликаны) | 233 |
| 17.5.1. Резервные полисахариды | 233 |
| 17.5.2. Структурные полисахариды | 235 |
| 17.6. Практическое применение углеводов | 237 |

Глава 18. КАТАБОЛИЗМ УГЛЕВОДОВ

| | |
|---|-----|
| 18.1. Превращение углеводов в процессе пищеварения | 239 |
| 18.2. Внутриклеточный обмен углеводов | 241 |
| 18.2.1. Общая характеристика | 241 |
| 18.2.2. Гликолиз — центральный путь катаболизма глюкозы | 242 |
| 18.2.3. Гликогенолиз, его связь с гликолизом | 249 |
| 18.2.4. Энергетический баланс гликолиза и гликогенолиза | 250 |
| 18.2.5. Регуляция гликолиза и гликогенолиза | 250 |
| 18.2.6. Брожение, связь с гликолизом | 252 |
| 18.2.7. Пентозомонофосфатный путь | 254 |

Глава 19. АЭРОБНОЕ ОКИСЛЕНИЕ УГЛЕВОДОВ. ЦИКЛ ТРИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ

| | |
|---|-----|
| 19.1. Общая характеристика | 259 |
| 19.2. Окислительное декарбоксилирование пирувата (ОДП) | 261 |
| 19.3. Цикл трикарбонных кислот | 264 |
| 19.3.1. Химизм реакций цикла трикарбонных кислот (цикл ТКК) | 265 |
| 19.3.2. Баланс АТФ в ЦТК | 268 |
| 19.3.3. Регуляция цикла трикарбонных кислот | 271 |

Глава 20. АНАБОЛИЗМ УГЛЕВОДОВ

| | |
|---|-----|
| 20.1. Биосинтез глюкозы (глюконеогенез) | 271 |
| 20.1.1. Обходные реакции глюконеогенеза | 273 |
| 20.1.2. Регуляция глюконеогенеза | 276 |
| 20.2. Биосинтез углеводов из двухуглеродных соединений (ацетил-КоА) | 276 |
| 20.3. Биосинтез гликогена (гликогеногенез) | 278 |
| 20.4. Общие принципы регуляции углеводного обмена | 281 |
| 20.5. Нарушения углеводного обмена | 283 |

Глава 21. ЛИПИДЫ. СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИИ

| | |
|---|-----|
| 21.1. Общая характеристика | 284 |
| 21.2. Биологические функции липидов | 284 |
| 21.3. Классификация липидов | 285 |
| 21.4. Жирные кислоты | 286 |
| 21.5. Ацилглицеролы | 290 |
| 21.6. Воска | 291 |
| 21.7. Фосфолипиды | 292 |
| 21.7.1. Глицерофосфолипиды | 292 |
| 21.7.2. Сфингофосфолипиды | 297 |
| 21.8. Гликолипиды (гликосфинголипиды) | 297 |
| 21.9. Стероиды | 298 |
| 21.10. Амфифильные свойства сложных липидов | 300 |

Глава 22. БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕМБРАНЫ

| | |
|--|-----|
| 22.1. Общая характеристика | 301 |
| 22.2. Биологические функции мембран | 301 |
| 22.3. Строение биологических мембран | 302 |
| 22.3.1. Химический состав | 302 |
| 22.3.2. Молекулярная организация биологических мембран | 303 |
| 22.3.3. Мембранные липиды: липидный бислой | 303 |
| 22.3.4. Мембранные белки | 305 |
| 22.4. Свойства биологических мембран | 306 |
| 22.5. Механизмы мембранного транспорта | 308 |
| 22.5.1. Пассивный транспорт | 308 |
| 22.5.2. Активный транспорт | 310 |
| 22.5.3. Виды переноса веществ через мембрану | 313 |
| 22.5.4. Экзоцитоз и эндоцитоз | 314 |
| 22.6. Липосомы — модельные мембраны | 315 |

Глава 23. ОБМЕН ЛИПИДОВ

| | |
|---|-----|
| 23.1. Переваривание и всасывание липидов пищи | 316 |
| 23.1.1. Переваривание триацилглицеролов | 316 |
| 23.1.2. Переваривание, всасывание, ресинтез глицерофосфолипидов | 322 |
| 23.1.3. Переваривание и всасывание холестерина | 323 |
| 23.2. Транспорт липидов | 323 |
| 23.2.1. Липопротеины плазмы крови | 324 |
| 23.3. Внутриклеточный обмен липидов | 326 |
| 23.3.1. Катаболизм триацилглицеролов | 326 |
| 23.3.2. Окисление жирных кислот | 328 |
| 23.3.3. Окисление ненасыщенных жирных кислот | 333 |
| 23.4. Кетонные тела: биосинтез, биологическая роль | 334 |
| 23.5. Биосинтез липидов | 338 |
| 23.5.1. Биосинтез жирных кислот | 338 |
| 23.5.2. Синтез ненасыщенных жирных кислот | 344 |
| 23.5.3. Синтез триацилглицеролов и глицерофосфолипидов | 346 |
| 23.5.4. Биосинтез стероидов | 350 |
| 23.6. Регуляция липидного обмена | 355 |
| 23.7. Нарушение липидного обмена | 356 |

Глава 24. ОБМЕН БЕЛКОВ И АМИНОКИСЛОТ

| | |
|---|-----|
| 24.1. Общая характеристика | 358 |
| 24.2. Переваривание белков | 361 |
| 24.3. Транспорт аминокислот через клеточные мембраны | 366 |
| 24.3.1. Транспорт аминокислот с помощью γ -глутамильного цикла | 366 |
| 24.4. Внутриклеточный обмен аминокислот | 369 |
| 24.5. Внутриклеточный протеолиз | 369 |
| 24.6. Катаболизм аминокислот | 370 |
| 24.6.1. Дезаминирование аминокислот | 371 |
| 24.6.2. Трансаминирование аминокислот | 374 |

| | |
|---|-----|
| 24.6.3. Непрямое дезаминирование аминокислот (трансдезаминирование) | 377 |
| 24.6.4. Превращение углеродного скелета аминокислот | 378 |
| 24.6.5. Декарбоксилирование аминокислот | 382 |
| 24.6.6. Роль пиридоксальфосфата (ПФ) в белковом обмене | 386 |
| 24.7. Пути нейтрализации аммиака | 388 |
| 24.7.1. Биосинтез мочевины | 391 |
| 24.8. Биосинтез аминокислот | 395 |
| 24.8.1. Биологическая фиксация молекулярного азота. | 395 |
| 24.8.2. Первичная ассимиляция аммиака | 398 |
| 24.8.3. Биосинтез заменимых аминокислот | 399 |
| 24.8.4. Биосинтез незаменимых аминокислот | 402 |
| 24.8.5. Регуляция биосинтеза аминокислот | 406 |
| 24.9. Нарушение белкового обмена | 407 |

Глава 25. ОБМЕН ГЕМОПРОТЕИНОВ

| | |
|--|-----|
| 25.1. Общая характеристика | 410 |
| 25.2. Биосинтез гемоглобина | 413 |
| 25.2.1. Биосинтез гема | 413 |
| 25.2.2. Регуляция биосинтеза гема | 415 |
| 25.3. Распад гемоглобина. | 417 |
| 25.3.1. Образование желчных пигментов | 417 |
| 25.3.2. Транспорт билирубина кровью. | 419 |
| 25.3.3. Детоксикация билирубина в печени | 419 |
| 25.3.4. Секреция билирубина в кишечник | 420 |
| 25.3.5. Нарушение обмена гемоглобина | 420 |

Глава 26. ОБМЕН НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ И НУКЛЕОТИДОВ

| | |
|--|-----|
| 26.1. Общая характеристика | 422 |
| 26.2. Деструкция нуклеиновых кислот | 423 |
| 26.2.1. Катаболизм пуринов. | 426 |
| 26.2.2. Катаболизм пиримидинов. | 427 |
| 26.3. Биосинтез нуклеотидов | 428 |
| 26.3.1. Биосинтез пиримидиновых рибонуклеотидов. | 429 |
| 26.3.2. Биосинтез пуриновых рибонуклеотидов. | 432 |
| 26.4. Биосинтез дезоксирибонуклеотидов | 435 |
| 26.5. Регуляция биосинтеза пиримидиновых и пуриновых нуклеотидов | 437 |
| 26.6. Нарушение обмена нуклеотидов. | 439 |

Глава 27. ВЗАИМОСВЯЗЬ И РЕГУЛЯЦИЯ ОБМЕННЫХ ПРОЦЕССОВ

| | |
|---|-----|
| 27.1. Общие принципы взаимосвязи метаболических путей | 439 |
| 27.2. Центральные пути | 442 |
| 27.3. Катаболизм и анаболизм: взаимосвязь и особенности | 446 |
| 27.4. Основные аспекты регуляции метаболизма | 447 |
| 27.5. Взаимопревращение веществ в процессе метаболизма | 448 |

Глава 28. МАТРИЧНЫЙ СИНТЕЗ ДНК И РНК

| | |
|--|-----|
| 28.1. Общая характеристика | 449 |
| 28.2. Синтез ДНК (репликация). | 450 |
| 28.2.1. Инициация репликации | 450 |
| 28.2.2. Элонгация репликации | 452 |
| 28.2.3. Терминация репликации | 452 |
| 28.3. Репарация ДНК | 453 |
| 28.3.1. Репарация депуризированной ДНК | 454 |
| 28.3.2. Репарация химически модифицированных азотистых оснований | 454 |
| 28.3.3. SOS-Репарации | 454 |
| 28.4. Мутации | 455 |
| 28.4.1. Селективный мутагенез | 455 |
| 28.5. Генетические рекомбинации. | 456 |
| 28.6. Транспозоны | 456 |
| 28.7. Синтез РНК (транскрипция). | 457 |

| | |
|---|-----|
| 28.7.1. Инициация транскрипции | 458 |
| 28.7.2. Элонгация транскрипции | 459 |
| 28.7.3. Терминация транскрипции | 460 |
| Глава 29. СИНТЕЗ БЕЛКА (ТРАНСЛЯЦИЯ) | |
| 29.1. Генетический код | 462 |
| 29.2. Трансляция | 463 |
| 29.2.1. Активация и рекогниция аминокислот | 464 |
| 29.2.2. Инициация трансляции | 464 |
| 29.2.3. Элонгация трансляции | 467 |
| 29.2.4. Терминация трансляции | 467 |
| 29.3. Процессинг и транспорт полипептидных цепей | 468 |
| 29.3.1. Распад белков в клетках и тканях | 470 |
| 29.4. Регуляция синтеза белка | 470 |
| 29.5. Действие токсических и лекарственных веществ на биосинтез белка | 475 |
| Глава 30. БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ИММУНИТЕТА | |
| 30.1. Общая характеристика | 476 |
| 30.2. Центральные и периферические лимфоидные органы | 476 |
| 30.3. Т-лимфоциты. Принципы клеточного иммунитета | 477 |
| 30.4. В-лимфоциты. Принципы гуморального иммунитета | 481 |
| 30.5. Структура и функции антител | 484 |
| 30.5.1. Классы иммуноглобулинов | 485 |
| 30.5.2. Функции антител | 485 |
| 30.6. Биосинтез антител | 486 |
| 30.7. Процессинг и транспорт антител | 489 |
| 30.8. Неспецифические защитные реакции организма | 490 |
| 30.8.1. Фагоцитарная система | 490 |
| 30.8.2. Система комплемента | 490 |
| 30.9. Иммунодефициты | 491 |
| 30.9.1. Синдром приобретенного иммунодефицита (СПИД) | 492 |
| 30.10. Лекарственные вещества — иммунодепрессанты | 492 |
| Глава 31. КЛЕТОЧНЫЕ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ АСПЕКТЫ БИОИНЖЕНЕРИИ | |
| 31.1. Общая характеристика | 494 |
| 31.2. Основы клеточной инженерии | 494 |
| 31.2.1. Животные клетки | 494 |
| 31.2.2. Растительные клетки | 496 |
| 31.3. Молекулярные аспекты биоинженерии. Генная инженерия | 499 |
| 31.3.1. Общая характеристика | 499 |
| 31.3.2. Трансформация микробных клеток | 501 |
| 31.3.3. Трансформация растительных клеток | 504 |
| 31.3.4. Генетическая трансформация животных клеток | 506 |
| 31.4. Генная инженерия. Успехи и проблемы | 507 |
| Глава 32. БИОТРАНСФОРМАЦИЯ КСЕНОБИОТИКОВ ЖИВЫМИ СИСТЕМАМИ | |
| 32.1. Общая характеристика | 508 |
| 32.2. Всасывание и выведение ксенобиотиков | 509 |
| 32.3. Реакции биотрансформации ксенобиотиков | 510 |
| 32.3.1. Метаболические реакции первой фазы биотрансформации | 510 |
| 32.3.2. Влияние ксенобиотиков на активность микросомальных ферментов | 518 |
| 32.3.3. Метаболические реакции второй фазы биотрансформации | 519 |
| 32.4. Факторы, влияющие на биотрансформацию ксенобиотиков | 523 |
| Тесты для проверки биохимических знаний | 526 |
| Ответы на тесты для проверки биохимических знаний | 617 |
| Предметный указатель | 620 |

Учебное издание

Комов Вадим Петрович
Шведова Валентина Николаевна

БИОХИМИЯ

Учебник для вузов

Зав. редакцией *Т. Д. Гамбурцева*
Ответственный редактор *В. Н. Бораненкова*
Разработка серийного оформления
Т. Е. Добровинская-Владимирова
Художник *О. А. Новотоцких*
Художественный редактор *Е. П. Корсина*
Технический редактор *Н. И. Герасимова*
Компьютерная верстка *О. И. Колотова*
Корректоры *Г. И. Мосякина, Е. Е. Никулина*

Санитарно-эпидемиологическое заключение
№ 77.99.02.953.Д.006315.08.03 от 28.08.2003.

Подписано к печати 23.01.08. Формат 70×100¹/₁₆. Бумага офсетная.
Гарнитура «Ньютон». Печать офсетная. Усл. печ. л. 51,6.
Тираж 3000 экз. Заказ № .

ООО «Дрофа». 127018, Москва, Сушеvский вал, 49.

**По вопросам приобретения продукции
издательства «Дрофа» обращаться по адресу:**
127018, Москва, Сушеvский вал, 49.

Тел.: (495) 795-05-50, 795-05-51. Факс: (495) 795-05-52.

Торговый дом «Школьник».
109172, Москва, ул. Малые Каменщики, д. 6, стр. 1А.
Тел.: (495) 911-70-24, 912-15-16, 912-45-76.

Магазины «Переплетные птицы»:
127018, Москва, ул. Октябрьская, д. 89, стр. 1.
Тел.: (495) 912-45-76;

140408, Московская обл., г. Коломна, Голутвин,
ул. Октябрьской революции, 366/2.
Тел.: (495) 741-59-76.

Интернет-магазин: <http://www.drofa.ru>