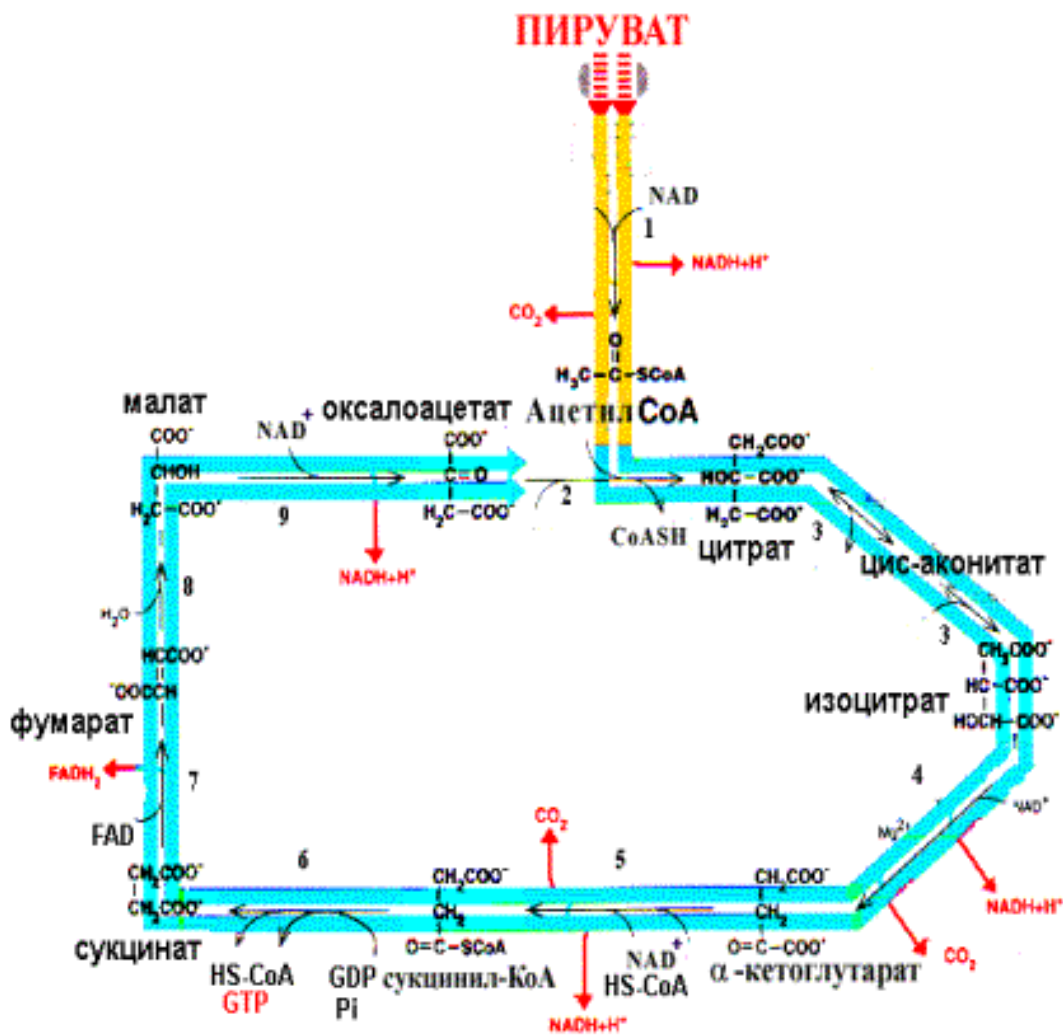


Материалы по курсу
БИОХИМИЯ

ученика 11 "Б" класса _____



СОДЕРЖАНИЕ

Занятие 1. Молекулярная организация клетки.

Химический состав клетки. Неорганические и органические соединения, входящие в состав клетки. Различие в концентрациях веществ внутри и вне клетки. Размеры и форма биомолекул.

Занятие 2. Метаболические пути.

Обмен веществ и преобразование энергии в клетке. Типы питания живых организмов. Катаболизм и анаболизм. Источники углерода. Круговорот азота. Внутриклеточная регуляция метаболических процессов.

Занятие 3. Законы биоэнергетики.

Законы химической термодинамики. Обратимые и необратимые процессы. Свободная энергия. Изменение стандартной свободной энергии. Высокоэнергетические и низкоэнергетические соединения. Запасание энергии. Энергетический цикл в клетках.

Занятие 4. Перенос электронов.

Окислительно-восстановительные реакции. Дыхательная цепь. Окислительное фосфорилирование. Химическое сопряжение в биохимических реакциях. Роль митохондрий. Проницаемость митохондриальных мембран. Системы переносчиков. Химио-осмотическая гипотеза.

Занятие 5. Контрольная 1. Углеводы (строение).

Строение моно-, ди-, три- и полисахаридов. Резервные полисахариды. Структурные полисахариды. Биосинтез углеводов. Глюконеогенез. Цикл Кальвина. Превращения глюкозы. Синтез олиго- и полисахаридов.

Занятие 6. Углеводы (окисление).

Распад углеводов. Гликолиз. Спиртовое и другие типы брожения. Энергетика брожения и дыхания.

Занятие 7. Углеводы (окисление).

Общая схема процесса дыхания. Цикл трикарбоновых кислот. Глиоксилатный и фосфоглюконатный пути.

Занятие 8. Углеводы (биосинтез).

Фотосинтез. Строение хлоропласта. Общее уравнение фотосинтеза. Световая и темновая стадии фотосинтеза.

Занятие 9. Контрольная 2. Липиды (строение).

Жирные кислоты. Нейтральные жиры. Ацилглицерины. Фосфоглицериды. Сфинголипиды и гликолипиды. Жирорастворимые витамины. Молекулярные компоненты мембран. Стадии синтеза жирных кислот. Интеграция липидного и углеводного обмена.

Занятие 10. Липиды (окисление).

Окисление жирных кислот. Окисление ненасыщенных жирных кислот. Окисление жирных кислот с нечетным числом атомов углерода. Роль витамина В12.

Занятие 11. Липиды (биосинтез).

Синтез жирных кислот. Синтез триацилглицеринов и фосфолипидов.

Занятие 12. Аминокислоты.

Заменяемые и незаменимые для человека аминокислоты. Редкие аминокислоты. Аминокислоты, не входящие в состав белков. Биосинтез заменимых и незаменимых аминокислот. Аминокислоты как предшественники других молекул. Протеолиз. Общая схема окисления аминокислот. Цикл мочевины.

Занятие 13. Контрольная 3. Белки.

Состав и размеры белков. Разнообразие белков. Конформации белков. α -спирали. Структура типа складчатого слоя. Третичная структура. Четвертичная структура. Биологическое значение субъединиц.

Занятие 14. Ферменты и кинетика ферментативных реакций.

Классификация ферментов. Кофакторы. Химическая кинетика. Уравнение Михаэлиса-Ментен. Субстратная специфичность ферментов. Кислотно-основной катализ. Саморегуляция ферментных систем.

Занятие 15. Нуклеотиды.

Нуклеозиды. Нуклеотиды. Динуклеотиды. Полинуклеотиды. Синтез нуклеотидов. ДНК. РНК. Гидролиз нуклеиновых кислот и распад мононуклеотидов. Определение нуклеотидной последовательности полинуклеотидов.

Занятие 16. Контрольная 4.

В каждую контрольную работу могут входить вопросы по *всему* пройденному материалу настоящего курса. Во время контрольной работы запрещено использование конспектов, распечаток либо учебников.

Оценки за курс выставляются по итогам 4 контрольных работ.

Список литературы для курса «Биохимия»:

- А. Ленинджер “Биохимия” (любое издание).
- Р.Марри и др. “Биохимия человека” (2 тома) 1993 г.
- Ю.Б.Филиппович “Основы биохимии” 1999 г.
- Я.Мусил и др. “Современная биохимия в схемах” 1984 г.
- Б. Албертс и др. “Молекулярная биология клетки” (любое издание).
- Л.Страйер “Биохимия” 1985 г.
- В.Л.Кретович “Биохимия растений” 1986 г.
- К.Ф. Сорвачев “Биологическая химия” 1971 г.

Занятие 1. Молекулярная организация клетки.

Пригодность органических соединений для выполнения биологических функций.

Тот факт, что живое вещество по элементарному составу резко отличается от литосферы и атмосферы, заставляет предположить, что некоторые химические элементы в большей мере, чем остальные, «пригодны» для построения молекул, входящих в состав живых организмов. Так, из 100 химических элементов, обнаруженных в земной коре, в состав живого вещества входят только 22 (причем лишь 16 из них встречаются во всех классах организмов)¹:

Таблица 1. Химические элементы, входящие в состав живых организмов

Элементы, входящие в состав органических веществ	Одноатомные ионы	Элементы, обнаруживаемые в следовых количествах	
O		Mn	Al
C	Na ⁺	Fe	V
N	K ⁺	Co	Mo
H	Mg ²⁺	Cu	I
P	Ca ²⁺	Zn	Si
S	Cl ⁻	B	

¹ Элементы, обозначенные полужирным шрифтом, найдены у всех организмов. Остальные встречаются только у некоторых видов.

Таблица 2. Относительное содержание некоторых химических элементов в земной коре и в организме человека

В земной коре		В организме человека	
элемент	содержание, ат. %	элемент	содержание, ат. %
O	62,5	H	60,3
Si	21,2	O	25,5
Al	6,47	C	10,5
Na	2,64	N	2,42
Ca	1,94	Na	0,73
Fe	1,92	Ca	0,226
Mg	1,84	P	0,134
P	1,42	S	0,132
C	0,08	K	0,036
N	0,0001	Cl	0,032

Кроме того, соотношение этих химических элементов в живых организмах иное, чем в земной коре. В живых организмах в наибольшем количестве встречаются **водород, кислород, углерод и азот**; в большинстве клеток они составляют, около 99% их массы. В то же время в земной коре самыми распространенными элементами являются кислород, кремний, алюминий и натрий (табл. 2). Относительное содержание углерода, водорода и азота в живом веществе гораздо выше, чем в земной коре. Исходя из этого, мы можем предположить, что молекулы, содержащие атомы именно этих элементов, необходимы для реализации тех процессов, которые в совокупности обеспечивают функционирование живого организма. В чем же причина того, что углерод, водород, азот и кислород так поразительно подходят для выполнения биологических функций? Эти четыре элемента обладают одним общим свойством: все они легко образуют ковалентные связи посредством спаривания электронов. Для того чтобы полностью укомплектовать свои внешние электронные оболочки и образовать таким путем стабильные ковалентные связи, водороду требуется один электрон, кислороду — два, азоту — три и углероду — четыре электрона. Эти четыре элемента могут легко реагировать друг с другом, заполняя свои внешние электронные оболочки. Помимо этого три из них (C, N и O) образуют и ординарные и двойные связи—способность, благодаря которой они могут давать самые разнообразные химические соединения. Атомы углерода способны, кроме того, образовывать тройные связи как с другими углеродными атомами, так и с атомами азота. Однако этот тип связи встречается в природе сравнительно редко.

Углерод, азот, водород и кислород оказались в высшей степени подходящими в биологическом отношении еще и потому, что среди элементов, способных образовывать ковалентные связи, они — самые легкие. Поскольку прочность ковалентной связи обратно пропорциональна атомным весам связанных с ее помощью атомов, возможно, что живые организмы выбрали именно эти элементы из-за их способности формировать прочные ковалентные связи.

Очень важна способность атомов углерода взаимодействовать друг с другом, образуя стабильные ковалентные углерод-углеродные связи. Поскольку атомы углерода могут либо присоединять, либо отдавать четыре электрона для заполнения внешнего октета, каждый углеродный атом может образовывать ковалентные связи с четырьмя атомами углерода. Ковалентно связанные атомы углерода могут образовывать каркасы бесчисленного множества различных органических молекул. Кроме того, поскольку атомы углерода легко образуют ковалентные связи с кислородом, водородом и азотом, а также с серой, в органические молекулы может включаться значительное число различных функциональных групп. Соединениям углерода свойственна еще одна отличительная особенность, которая состоит в способности спаренных электронов образовывать вокруг каждого атома углерода тетраэдрическую конфигурацию, благодаря чему различные типы органических молекул обладают различной трехмерной структурой. Никакой другой химический элемент, кроме углерода, не может создавать стабильные молекулы со столь разнообразными

конфигурациями и размерами и с таким разнообразием функциональных групп. Из других элементов только атомы кремния могут соединяться друг с другом ковалентными связями. Но несмотря на то, что кремний значительно более распространен в литосфере, чем углерод, он, очевидно, менее пригоден для живых организмов. Возможно, главная причина этого кроется в том, что в присутствии кислорода связи кремний — кремний нестабильны; в этих условиях образуются силикаты и нерастворимые полимеры двуокиси кремния, например кварц.

Органические соединения углерода, обнаруживаемые в живых организмах, находятся в сильно восстановленной или гидрированной форме, тогда как в земной коре углерод широко представлен такими соединениями, как бикарбонаты или карбонаты. Поскольку атмосфера очень богата кислородом, углерод и водород обычно стремятся окислиться соответственно до двуокиси углерода и воды — соединений стабильных и бедных энергией. В то же время восстановленные органические соединения, входящие в состав живого вещества, обладают более высоким запасом энергии, в связи с чем их построение из CO_2 и воды требует от организма затрат свободной энергии. Очевидно, что соединения углерода особенно хорошо соответствуют требованиям живых организмов, так как последние отобрали их, невзирая на относительную бедность литосферы углеродом и несмотря на тот факт, что восстановление неорганического углерода сопряжено с затратой энергии.

Иерархия молекулярной организации клеток.

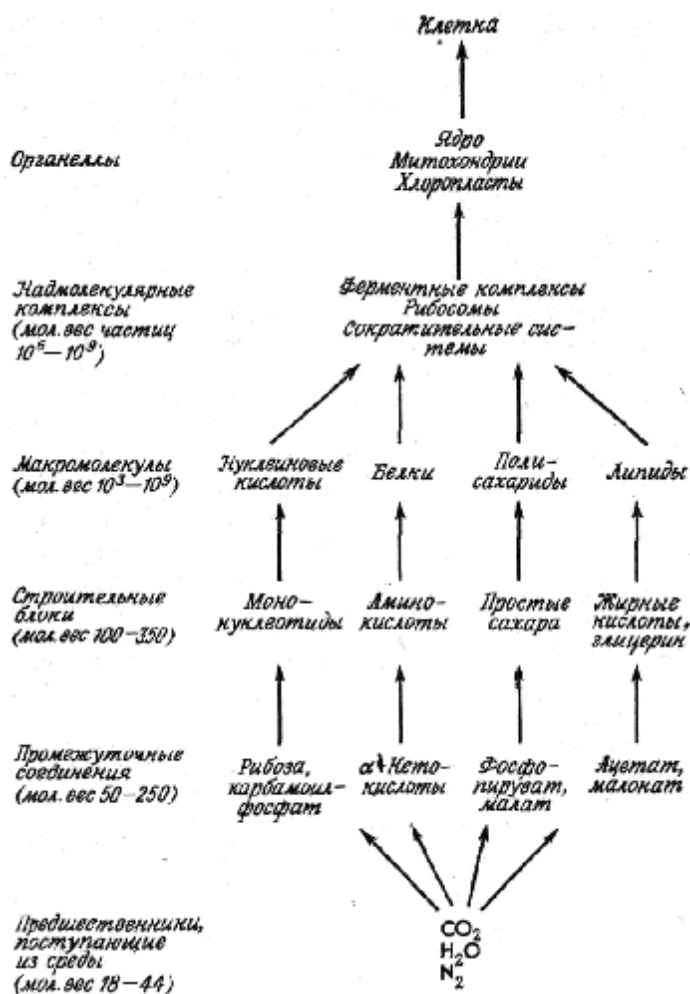
На фигуре 1 соединения, содержащиеся в живых организмах, расположены по степени возрастания сложности их молекул. Все органические биомолекулы в конечном счете происходят из очень простых низкомолекулярных предшественников, получаемых из внешней среды, а именно из двуокиси углерода, воды и атмосферного азота. Эти предшественники последовательно превращаются через ряд промежуточных продуктов метаболизма все большего молекулярного веса в биомолекулы, играющие роль строительных блоков, т. е. в органические соединения среднего молекулярного веса. В дальнейшем эти строительные блоки связываются друг с другом ковалентными связями, образуя макромолекулы, обладающие уже относительно высоким молекулярным весом.

Например, аминокислоты — это строительные блоки, из которых образуются белки; мононуклеотиды служат строительными блоками нуклеиновых кислот, моносахариды — строительными блоками полисахаридов, а жирные кислоты — строительными блоками большинства липидов.

На следующем, более высоком уровне организации макромолекулы, относящиеся к различным группам, объединяются друг с другом, образуя надмолекулярные комплексы, например липопротейды, представляющие собой комплексы липидов и белков, или рибосомы — комплексы нуклеиновых кислот и белков. Однако на этом этапе проявляется четкое различие в способе сборки компонентов. В надмолекулярных комплексах составляющие их макромолекулы не связываются ковалентно друг с другом. Например, между нуклеиновыми кислотами и белками в рибосоме не образуется ковалентная связь; они «удерживаются вместе» при помощи слабых нековалентных сил — ионных взаимодействий, водородных связей, гидрофобных взаимодействий и вандерваальсовых сил. Тем не менее нековалентное связывание макромолекул в надмолекулярные комплексы очень специфично и, как правило, весьма стабильно вследствие тщательной геометрической «подгонки» или комплементарности отдельных частей комплекса.

На высшем уровне организации в иерархии клеточной структуры различные надмолекулярные комплексы объединяются в органеллы, например ядра, митохондрии, хлоропласты, или в другие тельца и включения — лизосомы и вакуоли. Насколько известно, различные компоненты всех этих структур также объединяются в основном при помощи нековалентных взаимодействий.

Распределение четырех основных типов биомолекул в клетках *Escherichia coli* показано в табл. 3. Ясно, что из всех макромолекул белки встречаются в наибольших количествах, причем это справедливо для всех типов клеток. Фактически все четыре основных типа биологических макромолекул в разных клетках встречаются приблизительно в одних и тех же пропорциях, разумеется, если не считать «неживые» части живых организмов — наружный скелет,



Фиг. 1. Иерархия молекулярной организации клетки.

Таблица 3. Молекулярные компоненты клетки *E. coli*

	Содержание, % общего веса	Число молекул каждого вида
Вода	70	
Белки	15	~3000
ДНК	1	1
РНК	6	~1000
Углеводы	3	~50
Жиры	2	~40
Строительные блоки и промежуточные соединения	2	~500
Неорганические ионы	1	12

минеральные компоненты кости, внеклеточные образования (волосы, перья), а также инертные запасные вещества, например крахмал и жир, содержание которых сильно варьирует у разных организмов.

Функции четырех главных классов биомолекул во всех клетках также оказались идентичными. Универсальная функция нуклеиновых кислот состоит в хранении и передаче генетической информации. Белки являются непосредственными продуктами, а также «реали-зоторами» действия генов, в которых заключена генетическая информация. Большинство белков наделено специфической каталитической активностью и функционирует в качестве ферментов; остальные белки служат структурными элементами. Вообще при помощи белков, которые по своим свойствам являются наиболее многосторонними из всех биомолекул, осуществляется еще много других биологических функций.

Полисахариды выполняют две основные функции: некоторые из них например крахмал, служат формой, в которой хранится «горючее», необходимое для жизнедеятельности клетки, а другие, например целлюлоза, образуют внеклеточные структурные компоненты. Что касается липидов, то они служат, во-первых, главными структурными компонентами мембран и, во-вторых, запасной формой богатой энергией «горючего».

Между нуклеиновыми кислотами и белками, с одной стороны, и полисахаридами и липидами, с другой, существует фундаментальное различие. Нуклеиновые кислоты и белки являются в силу особенностей своей структуры *информационными макромолекулами*. Каждая молекула нуклеиновой кислоты построена из четырех (или более) типов мононуклеотидов, расположенных в специфической последовательности, несущей определенную информацию. Точно так же каждая белковая молекула представляет собой последовательность приблизительно 20 различных аминокислот, несущую специфическую информацию. Полисахариды никакой информации не несут; они построены либо из совершенно идентичных повторяющихся строительных блоков (например, крахмал представляет собой полимер D-глюкозы), либо из чередующихся блоков двух типов. Липиды не являются информационными молекулами, так как их компоненты—жирные кислоты — построены из повторяющихся идентичных двууглеродных единиц.

Занятие 2. Метаболические пути.

Под *промежуточным метаболизмом* часто понимают просто всю совокупность ферментативных реакций, происходящих в клетке. Такое определение не является, вообще говоря, неправильным, однако его нельзя считать исчерпывающим, так как оно не отражает тот важный факт, что метаболизм представляет собой высокоинтегрированный и целенаправленный процесс, в котором участвует целый ряд мультиферментных систем, обеспечивающих обмен веществом и энергией между клеткой и средой. Метаболизм выполняет четыре специфические функции: 1) извлечение энергии из окружающей среды (либо в форме химической энергии органических веществ, либо в форме энергии солнечного света); 2) превращение экзогенных веществ в «строительные блоки», т. е. в предшественники макромолекулярных компонентов клетки; 3) сборку белков, нуклеиновых кислот, жиров и других клеточных компонентов из этих строительных блоков; 4) синтез и разрушение тех биомолекул, которые необходимы для выполнения различных специфических функций данной клетки.

Последовательности метаболических реакций удивительно сходны у всех живых форм, особенно в той части, которая составляет так называемые *центральные метаболические пути*. Хотя метаболизм включает в себя сотни различных ферментативных реакций, так что изображающие их схемы, или *метаболические карты*, кажутся просто безнадежно запутанными, форму, структуру и функцию центральных метаболических путей понять не трудно. В этой обзорной главе мы рассмотрим источники веществ и энергии, которыми располагает живая клетка, основные пути синтеза и разрушения клеточных компонентов, пути превращения энергии в клетке и, в заключение, те экспериментальные подходы, которые используются при изучении метаболизма.

Источники углерода и энергии для жизнедеятельности клетки

Все клетки можно разделить на две большие группы в зависимости от того, в какой химической форме они получают из окружающей среды углерод. *Автотрофные клетки* («сами себя питающие») могут использовать в качестве единственного источника углерода двуокись углерода, из которой они способны строить все свои углеродсодержащие компоненты. *Гетеротрофные клетки* («питающиеся за счет других») не способны усваивать CO₂ и должны получать углерод в виде достаточно сложных восстановленных органических соединений, таких, как глюкоза. Автотрофы сами себя обеспечивают, тогда как гетеротрофы с их потребностью в определенных формах углеродных соединений должны питаться продуктами жизнедеятельности других клеток. Все фотосинтезирующие клетки и некоторые бактерии ведут автотрофный образ жизни; клетки же высших животных и большинство микроорганизмов — гетеротрофы.

Второй признак, на основе которого классифицируют клетки,— это их отношение к источникам энергии. Клетки, использующие в качестве источника энергии свет, называются *фототрофными*, а клетки, получающие энергию в результате окислительно-восстановительных реакций,— *хемотрофными*. Обе эти категории в свою очередь подразделяются на группы в зависимости от природы доноров электронов, которые они используют для получения энергии. Напомним, что в ходе окислительно-восстановительной реакции электроны переносятся от донора (восстановителя) к акцептору (окислителю). Хемотрофы, у которых донорами электронов могут служить только сложные органические молекулы (например, глюкоза), называются *хемотрофами*. Организмы, способные использовать в качестве доноров электронов молекулярный водород, серу или какие-либо простые неорганические соединения, такие, как сероводород и аммиак, относятся к *хемотрофам* (от *зреч.* «литое» — камень). В **таблице 1** приведена классификация, в которой различные организмы отнесены к одной из четырех больших групп (хемотрофы, фототрофы, фотохемотрофы и фотолитотрофы) на основании рассмотренных выше признаков.

Подавляющее большинство организмов относится либо к фотолитотрофам, либо к хемотрофам. Две другие группы охватывают сравнительно немного видов. Однако эти немногие виды распространены в природе достаточно широко. Некоторые из них играют в биосфере исключительно важную роль. Таковы, в частности, почвенные микроорганизмы, которые Солнечный свет — первичный источник всей клеточной энергии. Глюкоза и другие продукты фотосинтеза используются как растениями, так и животными для извлечения энергии, необходимой для жизнедеятельности клеток. В конечном счете солнечная энергия рассеивается, переходя в форму, в которой она уже более не может быть использована.

фиксируют молекулярный азот и окисляют аммиак до нитратов. Напомним, что примерно половину живого вещества на Земле составляют микроорганизмы и что большинство их обитает в почве и в морях.

Таблица 1. Классификация организмов на основе источников углерода, источников энергии и природы доноров электронов

Тип организма	Источник углерода	Источник энергии	Доноры электронов	Примеры
1. Фотолитотрофы	CO ₂	Свет	Неорганические соединения (H ₂ O, H ₂ S, S)	Зеленые клетки высших растений, сине-зеленые водоросли, фотосинтезирующие бактерии
2. Фооорганотрофы	Органические соединения) и CO ₂)	Свет	Органические соединения	Несерные пурпурные бактерии
3. Хемолитотрофы	CO ₂	Окислительно-восстановительные реакции	Неорганические соединения) (H ₂ , S, H ₂ S, Fe ²⁺ , NH ₃)	Водородные, серные, железные и денитрифицирующие бактерии
4. Хемоорганотрофы	Органические соединения	Окислительно-восстановительные реакции	Органические соединения (глюкоза)	Все высшие животные, большая часть микроорганизмов, нефотосинтезирующие клетки растений

Хемоорганотрофы, чаще называемые *гетеротрофами*, в свою очередь можно разделить на два больших класса. *Аэробы*, используют в качестве конечного акцептора электронов молекулярный кислород, а *анаэробы* — какие-нибудь другие вещества. Многие клетки могут существовать как в аэробных, так и в анаэробных условиях, т. е. могут использовать в качестве акцептора электронов либо кислород, либо органические вещества. Такие клетки называются *факультативными анаэробами*. Анаэробы, не способные использовать кислород, называются *облигатными анаэробами*; кислород для них даже ядовит. Большинство гетеротрофных клеток, в особенности клетки высших организмов, — факультативные анаэробы; при наличии кислорода они используют именно его.

Важно отметить, что не все клетки, принадлежащие одному организму, являются представителями одного и того же класса, а также то, что некоторые типы клеток обладают большой метаболической гибкостью. Например, у высших растений зеленые (содержащие хлорофилл) клетки — автотрофы, живущие за счет фотосинтеза, тогда как клетки корня — гетеротрофы. Более того, на свету почти все клетки зеленого листа ведут себя как автотрофы, а в темноте — как гетеротрофы.

Круговорот углерода и энергетический цикл. Синтрофия

Все живые организмы в природе так или иначе связаны друг с другом в смысле питания. Рассматривая биосферу в целом, можно заметить, что фотосинтезирующие и гетеротрофные клетки взаимно питают друг друга. Первые образуют из атмосферной двуокиси углерода органические вещества, например глюкозу, и выделяют при этом кислород; вторые используют кислород и глюкозу, образуемые фотосинтезирующими клетками, и вновь возвращают CO₂ в атмосферу (**Рис. 1**). Круговорот углерода в биосфере связан с энергетическим циклом. Солнечная энергия, трансформированная в процессе фотосинтеза в химическую энергию глюкозы и других продуктов фотовосстановления, используется гетеротрофами для удовлетворения их энергетических потребностей (**Рис. 2**). Ясно, таким образом, что солнечный свет является в конечном счете источником энергии для всех клеток, как автотрофных, так и гетеротрофных. Однако в конце концов биологическая энергия рассеивается в окружающей среде, тем самым увеличивая ее энтропию.

В биологический круговорот вовлекается огромное количество энергии. За год на земном шаре улавливается в процессе фотосинтеза около 10²¹ кал солнечной энергии, а ежегодный круговорот углерода измеряется величиной порядка 33 • 10⁹ т. В сравнении с этим потоком энергии общее количество энергии, которое используют все машины, созданные руками человека, представляется ничтожным. Взаимная зависимость всех живых существ в природе в отношении питания (мы рассмотрели ее здесь на примере круговорота углерода и энергии) носит название *синтрофии* («совместное питание»). Синтрофия характерна для любого уровня биосферы, начиная от глобального, о котором говорится здесь, и кончая микроскопическим; это свойство всех экологических систем.

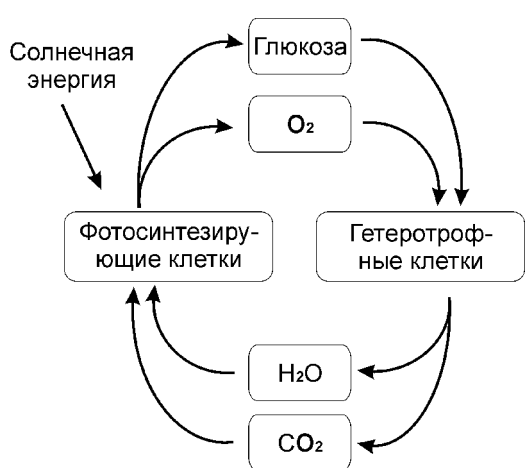


Рис. 1. Круговорот углерода и кислорода в биосфере.

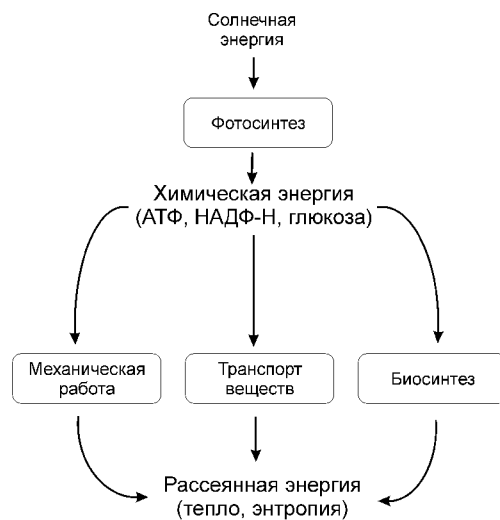


Рис. 2. Поток энергии в биосфере.

Круговорот азота

Другим важным элементом, круговорот которого в живых организмах совершается путем синтрофии, является азот, необходимый для синтеза белков и нуклеиновых кислот. Хотя молекулярный азот (N_2) в огромных количествах содержится в атмосфере, большинство организмов не способно его использовать из-за его химической инертности. Все эти организмы должны получать азот из окружающей среды в какой-либо связанной форме — в виде аммиака, нитратов или более сложных соединений, например аминокислот. Однако количество связанного азота в воде и почве сравнительно невелико, и весь он совершает непрерывный круговорот (Рис. 3). Растения получают большую часть азота из почвы в виде нитратов, которые они восстанавливают до аммиака, аминокислот и некоторых других продуктов. Затем эти соединения азота попадают в организм животных, питающихся растительной пищей. В конечном счете они вновь возвращаются в почву, все еще в восстановленной форме. Здесь почвенные микроорганизмы вновь окисляют аммиак до нитритов и нитратов, которые затем снова используются растениями. Пополнение запасов связанного азота осуществляется азотфиксирующими бактериями, способными восстанавливать молекулярный азот.

Из всех живых клеток наиболее независимое существование ведут те виды сине-зеленых водорослей, которые способны и к фотосинтезу и к фиксации азота (эти прокариоты обитают повсюду — в почве, в пресных водах и в море). Энергию они получают от солнца, азот — из атмосферы, источником углерода служит для них CO_2 , а донором электронов для восстановления CO_2 — вода. Полагают, что первыми организмами, заселившими Землю в процессе эволюции, были сине-зеленые водоросли. Эта гипотеза подкрепляется интересным наблюдением, сделанным много лет назад. После извержения вулкана Кракатау (в 1883 г.), когда все живое на обширной территории было уничтожено, первыми вновь утвердившимися здесь организмами были сине-зеленые водоросли, способные фиксировать молекулярный азот.

Витамины.

Для существования некоторых организмов обязательным является присутствие в пище сложных органических веществ, известных под названием *витаминов*, они требуются организму в крайне незначительных количествах и этим отличаются от таких питательных веществ, как глюкоза или аминокислоты. Витамины содержатся почти во всех организмах и выполняют у них сходные функции; большинство витаминов — предшественники важных **коферментов**. Некоторые организмы не нуждаются в витаминах, так как они обладают способностью синтезировать их из более простых соединений, тогда как другие должны получать их с пищей.

Поскольку коферменты содержатся в клетке в относительно небольших количествах, следовых количеств витаминов в пище вполне достаточно. Так, например, потребность некоторых бактерий в биотине настолько мала (1 пикограмм, или 10^{-12} мг, на 1 мл питательной среды), что часто для нормального роста микроорганизма бывает достаточно ничтожных количеств биотина, присутствующих в водопроводной воде или даже в очищенной глюкозе, добавляемой в среду. В **таблице 2** перечислены наиболее важные из известных в настоящее время водорастворимых витаминов и указаны коферменты, предшественниками которых эти витамины являются. В состав большинства водорастворимых витаминов входит азот. Полагают, что группа жирорастворимых витаминов, необходимых только высшим животным, также имеет отношение к функциям коферментов; однако молекулярный механизм действия большей части витаминов этого класса пока не изучен. Ниже приведены пищевые потребности белой крысы:

Аминокислоты: аргинин, гистидин, изолейцин, лейцин, лизин, метионин, фенилаланин, треонин, триптофан, валин. *Витамины:* водорастворимые — тиамин, рибофлавин, никотиновая кислота, пантотеновая кислота, пиридоксин, биотин, витамин B_{12} , фолиевая кислота; жирорастворимые — витамины А, D, Е и К. *Прочие органические вещества:* полиненасыщенные жирные кислоты, холин, инозит.

Элементы минерального питания: Ca, Mg, Mn, P, K, Na, Fe, Si, Cl, I, Mo, Zn, Se.

В любом многоклеточном организме клетки какого-то одного типа могут зависеть от продуктов метаболизма других клеток. Синтрофия в сущности выступает как организующий принцип в эволюции многоклеточных организмов, а также тканей и органов. Вообще клеткам высших животных для роста необходимо много различных экзогенных соединений. Потребности некоторых клеток млекопитающих при культивировании их *in vitro* были установлены сравнительно недавно.

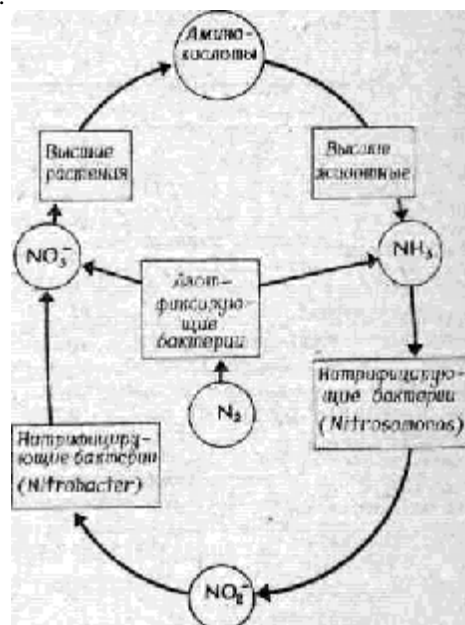


Рис. 3. Круговорот азота.

Катаболизм и анаболизм

Обмен веществ складывается из двух процессов — *катаболизма* и *анаболизма*. **Катаболизм** — это ферментативное расщепление сравнительно крупных пищевых молекул — углеводов, жиров и белков, — осуществляющееся преимущественно за счет реакций окисления (источником питательных веществ служит либо окружающая среда, либо внутриклеточные депо — запасы, отложившиеся ранее в самой клетке). В ходе окисления крупные молекулы расщепляются с образованием более мелких, например молочной кислоты, уксусной кислоты, CO_2 , аммиака или

мочевины. Катаболизм сопровождается выделением свободной энергии, заключенной в сложных структурах крупных органических молекул, и запасанием ее в форме энергии фосфатных связей аденозинтрифосфата (АТФ).

Анаболизм — это ферментативный синтез сравнительно крупных клеточных компонентов (например, полисахаридов, нуклеиновых кислот, белков или жиров) из простых предшественников. Поскольку процессы синтеза ведут к увеличению размеров молекул и к усложнению их структуры, а это означает уменьшение энтропии, процессы эти связаны с потреблением свободной энергии, которая «поставляется в форме энергии фосфатных связей АТФ. Катаболизм и анаболизм протекают в клетках одновременно.

И катаболизм и анаболизм в свою очередь слагаются из двух одновременно протекающих и взаимосвязанных процессов, каждый из которых можно рассматривать отдельно. Один из них — это та последовательность ферментативных реакций, в результате которой происходит соответственно разрушение или синтез ковалентного остова данной биомолекулы. Образующиеся при этом промежуточные продукты носят название *метаболитов*, вся же цепь превращений объединяется под названием *промежуточного метаболизма*. Второй процесс — это превращения энергии, сопутствующие каждой из ферментативных реакций промежуточного метаболизма. На некоторых этапах катаболизма химическая энергия метаболитов запасается (обычно в форме энергии фосфатных связей), а на определенных этапах анаболизма она расходуется. Эту сторону метаболизма принято называть *сопряжением энергии*. Промежуточный метаболизм и сопряжение энергии — взаимосвязанные и взаимозависимые понятия. Поэтому, изучая метаболизм, мы должны анализировать: 1) реакции, в результате которых изменяются ковалентные структуры предшественников и образуется продукт, и 2) энергетические изменения, сопровождающие эти превращения.

Таблица 2. Некоторые водорастворимые витамины и факторы, роста

Витамин	Вещество, предшественником которого является витамин, или процесс, в котором он принимает участие
Тиамин (витамин В1) -----	Тиаминпирофосфат
Рибофлавин (витамин В2) -----	Флавиновые коферменты (ФАД, ФМН)
Никотиновая кислота -----	Никотинамидные коферменты (НАД, НАДФ)
Пантотеновая кислота -----	Кофермент А
Пиридоксин (витамин В6) -----	Пиридоксальфосфат
Биотин -----	Биоцитин
Фолиевая кислота -----	ТГФК-коферменты
Кобаламин (витамин В12) -----	Кобамидные коферменты
Липолевая кислота -----	Простетическая группа дигидролипоилтрансферазы
Миоинозит -----	Незаменимые липиды (например, фосфатидилинозит)
Аскорбиновая кислота (витамин С)	Гидроксирование; окисление тирозина
Карнитин	Перенос остатков жирных кислот

Катаболические, анаболические и амфиболические пути

Ферментативное расщепление основных питательных веществ, а именно углеводов, жиров и белков, происходит в клетке через ряд последовательных ферментативных реакций. Ферменты, катализирующие отдельные этапы расщепления, и различные промежуточные продукты, образующиеся при таком ступенчатом разрушении пищевых молекул, в большинстве своем изучены хорошо. Катаболизм основных питательных веществ включает три главные стадии (**Рис. 4**). На первой стадии крупные пищевые молекулы расщепляются на составляющие их основные *строительные блоки*. Полисахариды, например, расщепляются до гексоз или пентоз, липиды — до жирных кислот, глицерина и других компонентов, белки — до аминокислот, которых имеется 20 видов. На второй стадии большое число продуктов, образовавшихся на первой стадии, превращается в более простые молекулы, число типов которых сравнительно невелико. Так, гексозы, пентозы и глицерин, разрушаясь, превращаются сначала в трехуглеродный фосфорилированный сахар — глицеральдегид-3-фосфат, а затем расщепляются далее до единственной двууглеродной формы — ацетильной группы, входящей в состав ацетил-КоА. Двадцать различных аминокислот также дают при расщеплении лишь несколько конечных продуктов, а именно ацетил-КоА, α -кетоглутарат, сукцинат, фумарат и оксалоацетат. Продукты, образовавшиеся на второй стадии, вступают в третью стадию, которая для них всех является общей и на которой они в конечном счете окисляются до CO_2 и воды.

Процесс анаболизма также включает три стадии. Исходными веществами, или строительными блоками служат для него соединения, поставляемые третьей стадией катаболизма. Таким образом, третья стадия катаболизма является в то же время первой, исходной, стадией анаболизма. Синтез белка, например, начинается на этой стадии с α -кетокислот, являющихся предшественниками α -аминокислот. На второй стадии анаболизма α -кетокислоты аминуются аминогруппой доноров с образованием α -аминокислот, а на третьей, заключительной, стадии аминокислоты объединяются в пептидные цепи (**Рис. 4**).

Катаболический и анаболический пути по своей локализации. Так, например, окисление жирных кислот до ацетата катализируется набором ферментов, локализованных в митохондриях, тогда как синтез жирных кислот из ацетата осуществляется с помощью другого набора ферментов, локализованных в цитоплазме. Благодаря разной локализации соответствующие катаболические и анаболические процессы могут протекать в клетке одновременно и независимо друг от друга. Наконец, третье различие между катаболическими и анаболическими путями касается механизмов их генетической и аллостерической регуляции. Известно, например, что процесс расщепления гликогена до молочной кислоты регулируется иными механизмами, нежели процесс превращения молочной кислоты в гликоген. Это общее правило: скорости параллельных, но противоположно направленных потоков метаболитов между данным питательным веществом и продуктом (или продуктами) его распада регулируются обычно независимо.

Однако хотя катаболический и анаболический пути неидентичны, их связывает общая стадия (стадия III на Рис. 4). Эти так называемые *центральные*, или *амфиболические*, пути (от греч. «амфи» — оба) выполняют двойную функцию. Амфиболические пути могут использоваться для катаболизма (при этом завершается разрушение относительно небольших молекул, образующихся на второй его стадии) или для анаболических процессов (при этом их роль заключается в поставке предшественников для второй стадии анаболизма).

Почти все метаболические реакции связаны между собой, поскольку продукт одной ферментативной реакции служит субстратом другой реакции, которая является следующим этапом данного процесса. Существование такой преемственности обуславливается специфическими особенностями ферментов. В ферментативных реакциях происходит отщепление определенных функциональных групп от молекул метаболитов и перенос этих групп на акцепторные молекулы. Большинство реакций промежуточного метаболизма связано со ступенчатым переносом аминных, ацетильных, фосфатных, металлических, формильных или карбоксильных групп или же атомов водорода.

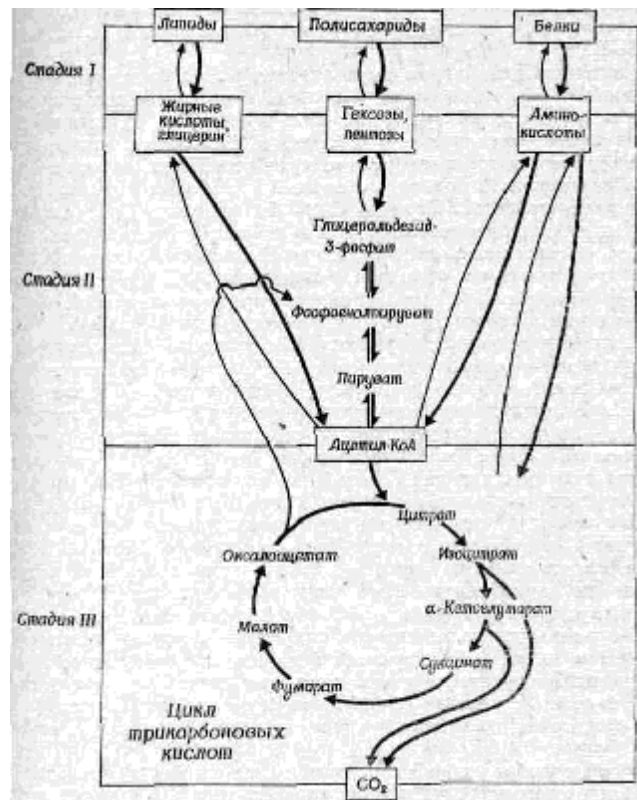


Рис. 4. Три стадии катаболизма и анаболизма. Жирные стрелки — катаболические пути, светлые — анаболические. Стадия III носит название амфиболической. На этой стадии завершается разрушение пищевых молекул до CO₂, и она же поставляет низкомолекулярные предшественники для анаболических процессов.

Занятие 3. Законы биоэнергетики. ЗАКОНЫ ХИМИЧЕСКОЙ ТЕРМОДИНАМИКИ.

При изложении физико-химических основ функционирования энергетического цикла клетки, невозможно обойтись без обзора некоторых основных понятий классической термодинамики. Анализ энергетического обмена начинается с выделения **системы**, т.е. той совокупности вещества, которая подлежит изучению. Всё лежащее за пределами интересующей нас системы называется **окружающей средой**. В процессе, который мы исследуем, энергия может переходить из системы в окружающую среду или наоборот. При анализе процесса рассматриваются **начальные** энергетические состояния системы и окружающей среды и **конечные** их состояния (т.е. состояния, возникшие после установления равновесия).

Первый закон термодинамики (закон о сохранении энергии): при любом физическом или химическом изменении общее количество энергии во Вселенной остается постоянным (энергия не появляется и не исчезает).

Второй закон термодинамики: все процессы стремятся идти в направлении возрастания общей неупорядоченности (энтропии) системы и окружающей среды.

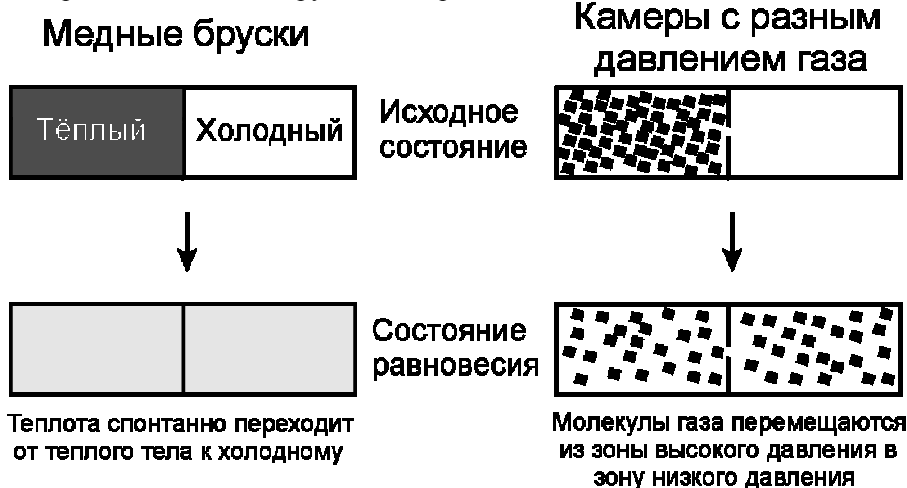


Рис.1 Увеличение энтропии в двух физических системах. Такие процессы никогда самопроизвольно не идут в обратном направлении.

Энтропия- мера неупорядоченности системы, математическая функция. Выражается в энтропийных единицах, имеющих размерность калорий/°С. **Изменение энтропии** реакционной системы обозначают знаком ΔS .

Есть два вида полезной энергии: свободная и тепловая. Свободная энергия может производить работу при постоянной температуре и постоянном давлении. Тепловая энергия может производить работу **только** при изменении температуры и давления, поэтому в биологических системах для прохождения эндергонических процессов (идущих с потреблением энергии) используется свободная энергия.

Свободная энергия- энергия, которая при данной температуре и давлении может быть превращена в работу. **Изменение свободной энергии** реакционной системы обозначают знаком ΔG . Количественную величину ΔG выражают в килокалориях на 1 моль вещества (1 ккал=4186,8 Дж).

Изменение свободной энергии при постоянной температуре и постоянном давлении (ΔG) можно выразить через изменение **теплосодержания** (энтальпии) (ΔH) и изменение энтропии (ΔS).

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (1)$$

ΔG - изменение свободной энергии реакционной системы.

ΔH - изменение теплосодержания (энтальпии) реакционной системы.

ΔS - изменение упорядоченности (энтропии) реакционной системы.

T-температура реакционной системы (выражается в градусах Кельвина).

Для биологических систем величину изменения теплосодержания реакционной системы (ΔH) можно считать числом равной величине изменения общей энергии реакционной системы (ΔE) поскольку $\Delta H = \Delta E + \Delta PV$, а величина ΔPV (произведение изменения давления на объем) для живой клетки практически равна нулю (поскольку клетки живут при постоянном давлении).

Таким образом, для живой системы

$$\Delta G = \Delta E - T\Delta S \quad (2)$$

Истинной движущей силой любых процессов является стремление энтропии к максимуму.

Состоянию равновесия реакции соответствует максимальное значение **общей** энтропии (энтропии системы и окружающей среды) и минимальное значение свободной энергии для данных температуры и давления. За счет сильного возрастания энтропии (неупорядоченности) окружающей среды, неупорядоченность системы может уменьшаться (т.е. будет расти упорядоченность системы, энтропия системы будет уменьшаться).

Стандартная свободная энергия.

Определим **стандартную свободную энергию** данного соединения (G^0) как количество свободной энергии (определение смотри выше), способное высвободиться при полном его разрушении. **Изменением стандартной свободной энергии** химической реакции (ΔG^0) называют специфическую термодинамическую константу, характеризующую данную химическую реакцию, протекающую в стандартных условиях.

$$\Delta G^0 = -RT \ln K_1 \quad (3)$$

R-газовая постоянная ($R=1,987$ кал/моль $^{-1}$ град $^{-1}$).

T-абсолютная температура.

K_1 - константа равновесия реакции ($K_1 = \frac{[C]^c [D]^d}{[A]^a [B]^b}$ для реакции $aA + bB \leftrightarrow cC + dD$).

В качестве стандартных приняты условия: температура 298K, давление 1 атм, концентрации субстратов и продуктов 1M, pH=7,0.

Таким образом, если известна величина константы равновесия (K_1) для химической реакции, то для этой реакции можно вычислить ΔG^0 (изменение стандартной свободной энергии).

$$\Delta G^0 = -1,987 \times 298 \times \ln K_1 \quad (3-1)$$

Кроме того, изменение стандартной свободной энергии можно выразить как разность между стандартной свободной энергией исходных веществ и стандартной свободной энергией продуктов реакции.

$$\Delta G^0 = \Sigma G_p^0 - \Sigma G_r^0 \quad (4)$$

ΣG_p^0 и ΣG_r^0 - стандартные свободные энергии продуктов и субстратов реакции соответственно.

Изменение свободной энергии и изменение стандартной свободной энергии данной реакции связаны соотношением

$$\Delta G = \Delta G^0 + RT \ln K_1 \quad (5)$$

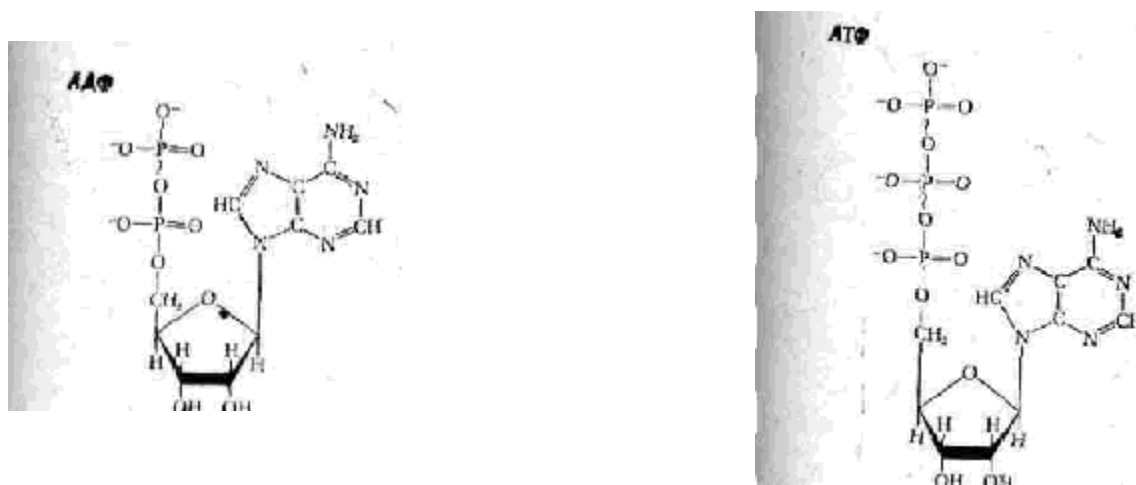
Уравнение (3) позволяет рассчитать величину ΔG^0 для любой химической реакции исходя из константы равновесия K_1 . Константу равновесия многих реакций можно измерить.

Локализация и свойства АТФ и АДФ

В ходе катаболических реакций, сопровождающихся выделением энергии, молекула АДФ (аденозиндифосфат) может присоединять фосфатную группу и образовывать АТФ (english- АТР) (аденозинтрифосфат), а в ходе сопряженных анаболических реакции, протекающих с потреблением энергии, образовавшийся АТФ может отщеплять концевую фосфатную группу с выделением энергии и вновь превращаться в АДФ. Таким образом, система АТФ — АДФ действует как **переносчик энергии**.

Впервые АТФ выделили Фиске и Суббароу из кислых экстрактов мышц в 1929 г. Несколькоими годами позже его структура была изучена методом расщепления, а затем, в 1948 г., подтверждена химическим синтезом. Почти сразу же после открытия АТФ высказывалась мысль о том, что это соединение участвует в переносе энергии при биохимических процессах; однако только в 1939—1941 гг. Липман установил, что АТФ служит **главным переносчиком химической энергии в клетке**.

АТФ, АДФ и АМФ присутствуют в клетке в довольно заметных количествах: суммарная их концентрация в водной фазе интактных (не поврежденных) клеток колеблется у разных типов клеток от 2 до 15 мМ. Как правило, концентрация АТФ значительно превышает сумму концентраций АДФ и АМФ, а концентрация АМФ бывает намного меньше концентрации АДФ (АТФ >> АДФ >> АМФ). Все эти нуклеотиды присутствуют не только в растворимой фракции цитоплазмы, но и в некоторых органеллах, в частности в митохондриях и ядрах. Вопрос о внутриклеточной локализации системы АТФ — АДФ имеет непосредственное отношение к регуляции клеточного обмена.



Фиг. XIV-1, Структурные формулы АДФ и АТФ.

При pH 7,0 АТФ и АДФ представляют собой анионы (отрицательно заряженные молекулы) с относительно высоким отрицательным зарядом. Трифосфатная группа молекулы АТФ содержит четыре ОН-группы, способные к ионизации. Дифосфатная группа молекулы АДФ содержит, соответственно, три способные к ионизации ОН-группы.

В интактной клетке лишь очень небольшое количество АТФ и АДФ присутствует в виде свободных анионов; в основном эти соединения представлены комплексами $MgATP^{2-}$ и $MgADP^{\cdot-}$, присутствующими в клетке в эквимольном соотношении (1:1). Образование таких комплексов обусловлено сильно выраженной способностью пиродифосфатных групп связываться с двухвалентными катионами, а также высокой концентрацией ионов Mg^{2+} во внутриклеточной жидкости.

В большей части ферментативных реакций, в которых АТФ играет роль донора фосфата, участвует активная форма АТФ, а именно $MgATP^{2-}$.

Высокоэнергетические и низкоэнергетические соединения.

В зависимости от величины ΔG^0 гидролиза (реакции расщепления соединения водой), содержащиеся в клетках фосфорилированные соединения принято разделять на высокоэнергетические и низкоэнергетические. Соединения, изменение стандартной свободной энергии которых близко (или превышает) по значению ΔG^0 АТФ называют высокоэнергетическими (или **макроэргическими**). Остальные соединения называют, соответственно, низкоэнергетическими.

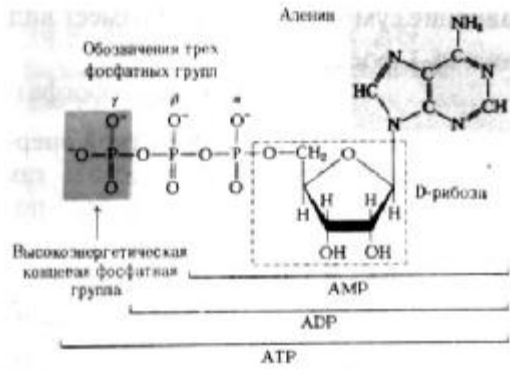


Рис.2

Фосфоенолпируват	- 14,8
3-фосфоглицерилфосфат (→ 3-фосфоглицерат + P _i)	- 11,8
Креатинфосфат	- 10,3
ADP (→ AMP + P _i)	- 7,3
ATP (→ ADP + P _i)	- 7,3
AMP (→ Аденозин + P _i)	- 3,4
Глюкозо-1-фосфат	- 5,0
Фруктозо-6-фосфат	- 3,8
Глюкозо-6-фосфат	- 3,3
Глицерол-1-фосфат	- 2,2

Рис.3

Высокое значение ΔG^0 макроэргических соединений можно объяснить несколькими причинами. Рассмотрим для примера АТФ. Первой причиной является чрезвычайно низкая молярная концентрация ионов H^+ при стандартном $pH=7,0$ ($10^{-7} M$). Следовательно, реакция



будет стремиться идти в сторону образования ионов H^+ , т.е. вправо.

Вторая причина заключается в сильном отталкивании отрицательных зарядов фосфатных групп АТФ (поскольку при $pH=7,0$ эти группы почти полностью ионизированы).

Продукты вышеприведенной реакции: ADP^{3-} и HPO_4^{2-} несут заряды одного знака и не стремятся воссоединиться вновь для образования АТФ. Кроме того, ADP^{3-} и HPO_4^{2-} являются резонансными гибридами, т.е. довольно устойчивыми соединениями, часть электронов которых обладает меньшей энергией, чем в исходном ATP^4 (это хорошие, как говорят химики, уходящие группы).

АТФ занимает промежуточное положение между высоко- и низкоэнергетическими соединениями. Эта особенность АТФ позволяет ему служить переносчиком фосфатных групп от сверхвысокоэнергетических соединений к акцепторам фосфата с низким значением ΔG^0 .

В результате переноса фосфатной группы акцепторной молекуле сообщается энергия.

Фосфорилированное таким образом соединение становится активированным и более охотно вступает в реакции.



Рис.4



Рис. 14-19. Различные нуклеозид- и дезокси-нуклеозидтрифосфаты служат теми каналами, через которые энергия АТФ направляется на биосинтез тех или иных клеточных компонентов.

Рис.5

Занятие 4. Перенос электронов.

Окислительно-восстановительные реакции.

Окислительно-восстановительными называются такие реакции, в процессе которых происходит перенос электронов от восстановителя к окислителю. Существует четыре способа передачи электронов от одной молекулы к другой:

1. Прямой перенос электронов.
2. Перенос электрона в составе атома водорода.
3. Перенос двух электронов в составе гидрид-иона.
4. Перенос электронов на кислород путем присоединения одного к молекуле-восстановителю.

Способность восстановителя отдавать электрон окислителю выражают **стандартным окислительно-восстановительным потенциалом** (E_0). Величину окислительно-восстановительного потенциала (в вольтах) конкретной окислительно-восстановительной пары определяют путем сравнения со стандартом.

Таблица 1. Стандартные восстановительные потенциалы E_0 некоторых сопряженных окислительно-восстановительных пар, играющих важную роль в окислительном метаболизме.

Окислительно-восстановительная пара	E_0
Некоторые субстратные пары:	
Ацетил-СоА + $\text{CO}_2 + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow$ Пируват+СоА	- 0,48
α -Кетоглутарат + $\text{CO}_2 + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow$ Изоцитрат	- 0,38
3-Фосфоглицерилфосфат + $2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow$ Глицеральдегид-3-фосфат+ P_i	- 0,29
Пируват + $2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow$ Лактат	- 0,19
Оксалоацетат + $2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow$ Малат	- 0,18
Фумарат + $2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow$ Сукцинат	+ 0,03
Компоненты цепи переноса электронов:	
$2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{H}_2$	- 0,41
$\text{NAD}^+ + \text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{NADH}$	- 0,32
$\text{NADP}^+ + \text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{NADPH}$	- 0,32
$\text{NADH-дегидрогеназа (FMN-форма)} + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{NADP-дегидрогеназа (FMNH}_2\text{-форма)}$	- 0,30
Убихинон+ $2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow$ Убихинол	+ 0,04
Цитохром <i>b</i> (окисл.) + $\text{e}^- \rightarrow$ Цитохром <i>b</i> (восст.)	+ 0,07
Цитохром c_1 (окисл.) + $\text{e}^- \rightarrow$ Цитохром c_1 (восст.)	+ 0,23
Цитохром <i>c</i> (окисл.) + $\text{e}^- \rightarrow$ Цитохром <i>c</i> (восст.)	+ 0,25
Цитохром <i>a</i> (окисл.) + $\text{e}^- \rightarrow$ Цитохром <i>a</i> (восст.)	+ 0,29
Цитохром a_3 (окисл.) + $\text{e}^- \rightarrow$ Цитохром a_3 (восст.)	+ 0,55
$1/2\text{O} + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{H}_2\text{O}$	+ 0,82

Чем выше величина стандартного окислительно-восстановительного потенциала некоторой окислительно-восстановительной пары, тем выше способность этой пары принимать электроны. Например, пара α -кетоглутарат/изоцитрат будет отдавать электроны паре NADH/NAD^+ .

Поток электронов всегда направлен таким образом, чтобы в результате свободная энергия системы уменьшалась. Изменение стандартной свободной энергии (ΔG^0) в реакции, связанной с переносом электронов вычисляют по формуле:

$$\Delta G^0 = -nFDE_0$$

ΔG^0 - изменение стандартной свободной энергии (в калориях).

n - число перенесенных электронов.

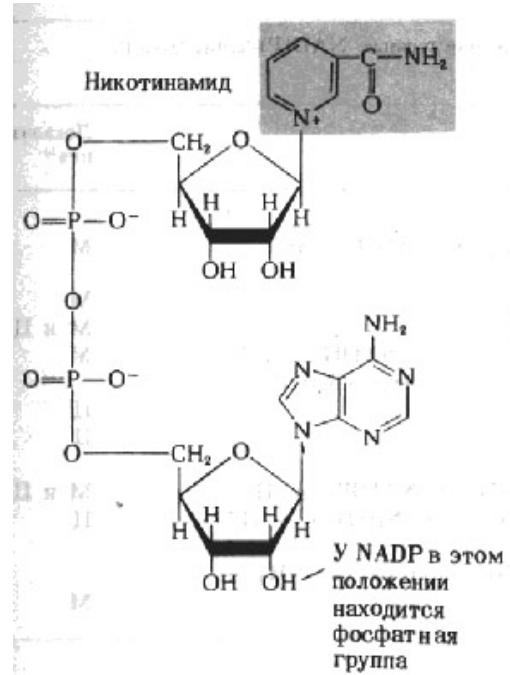
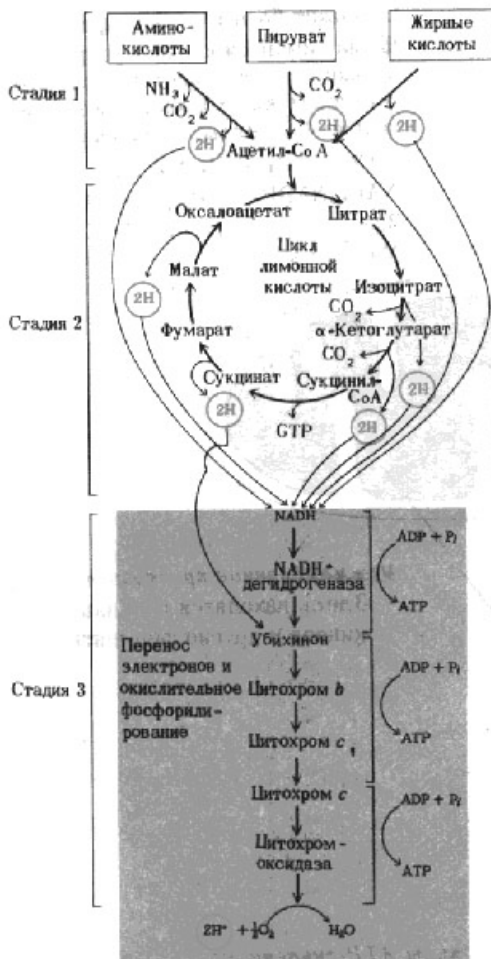
F - константа Фарадея (23062 кал/(В·моль)).

ΔE_0 - разность между стандартными окислительно-восстановительными потенциалами электронодонорной и электроноакцепторной систем. (Стандартные условия: концентрации всех компонентов 1,0 М, температура 25 °С и рН=7,0).

При переходе двух электронов от окислительно-восстановительной пары NADH/NAD^+ ($E_0=-0,32\text{В}$) к окислительно-восстановительной паре $\text{H}_2\text{O}/1/2\text{O}_2$ ($E_0=+0,82\text{В}$) изменение стандартной свободной энергии равно: $\Delta G^0=-2 \cdot 23062[0,82-(-0,32)]=-52,6$ ккал

Перенос электронов и окислительное фосфорилирование.

Весь процесс дыхания можно разделить на три стадии. На первой стадии происходит расщепление крупных молекул и образование Ацетил-кофермента А (Ацетил-СоА). Вторая стадия включает цикл ди- и трикарбоновых кислот. На третьей стадии происходит перенос электронов по дыхательной электрон-транспортной цепи от продуктов цикла ди- и трикарбоновых кислот– пиридиновых нуклеотидов– на кислород с образованием воды. Первая стадия происходит в цитозоле, вторая– внутри митохондрий, третья– на внутренней мембране митохондрий.



Рассмотрим более подробно электрон-транспортную цепь. Дыхательная цепь расположена на внутренней мембране митохондрий и состоит из ряда белков, простетические группы которых способны присоединять и отдавать электроны. Эти белки относятся к трем классам окислительно-восстановительных ферментов: пиридинзависимые дегидрогеназы, флавинозависимые дегидрогеназы и цитохромы.

Пиридинзависимые дегидрогеназы катализируют реакции обмена восстановительными эквивалентами (электронами и атомами водорода) между органическим соединением и никотинамидадениндинуклеотидом (или его фосфорилированным аналогом).

Флавинозависимые дегидрогеназы катализируют аналогичную реакцию, только вместо NAD (или NADP) в ней участвует флавинодениндинуклеотид (FAD) или флавиномононуклеотид (FMN).

Цитохромы осуществляют перенос электронов от флавинозависимых дегидрогеназ на кислород.

Пиридинзависимые дегидрогеназы являются поставщиками NADH, поступающего в дыхательную цепь. От NADH пара восстановительных эквивалентов переносится на простетическую группу фермента NADH-дегидрогеназы-флавиномононуклеотид (FMN). При этом FMN восстанавливается до FMNH₂. С молекулой NADH-дегидрогеназы связаны несколько FeS-белков, содержащих в своем составе негемовое железо (железо, не связанное в молекуле гема, см. Рис. 17-11). Через эти белки электроны передаются на следующий переносчик в дыхательной цепи- убихинон (Q).

У различных животных можно обнаружить убихиноны с разной длиной боковой изопреноидной цепи. Встречаются убихиноны с цепью из 10, 8, 6 изопреновых звеньев. На убихинон поступают восстановительные эквиваленты не только от NADH-дегидрогеназы, но, также и от других флавинозависимых дегидрогеназ, находящихся в митохондриях. Электроны с убихинона попадают на цитохром *b*, первый в ряду цитохромов дыхательной цепи.

Цитохромы- это железосодержащие белки, окрашенные в красный или коричневый цвет. Железо, входящее в состав цитохромов находится в составе гема (в отличие от железа FeS-белков).

По цепи цитохромов *b* → *c*₁ → *c* → *aa*₃ электроны передаются на кислород. На молекулу кислорода (O₂) с цитохрома *aa*₃ переносятся одновременно 4 электрона с образованием двух молекул воды. Одновременный перенос всех четырех электронов чрезвычайно важен, поскольку в случае переноса одного, двух или трех электронов образуются соединения, чрезвычайно токсичные для клетки (например H₂O₂).

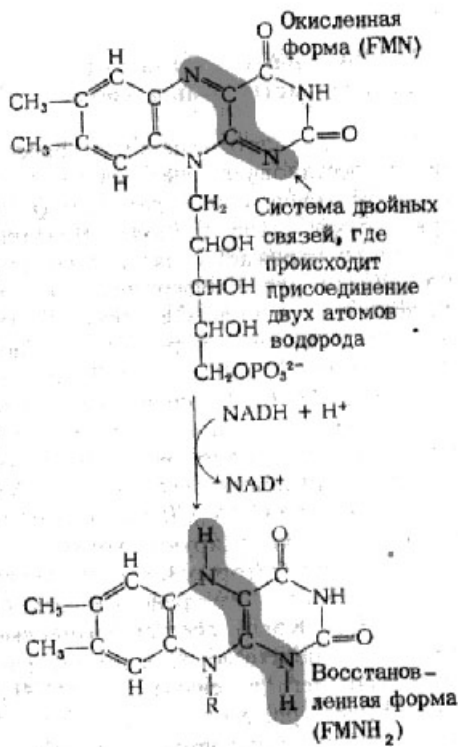


Рис. 17-8. Перенос восстановительных эквивалентов от NADH на флавинонуклеотид (FMN) – простетическую группу NADH-дегидрогеназы. R означает здесь пятиуглеродную фосфорилированную боковую цепь.

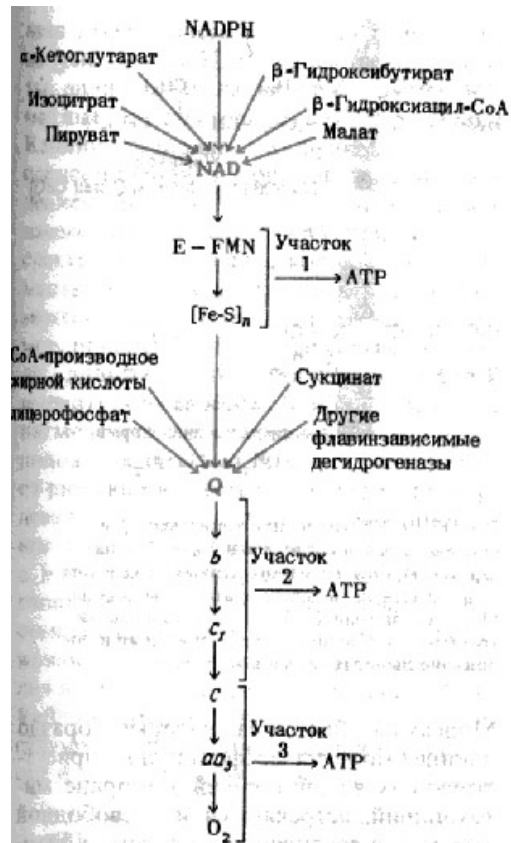


Рис. 17-7. Коллекторная функция NAD и убихинона (Q). NAD собирает восстановительные эквиваленты от многих NAD-зависимых субстратов, а также от NADPH. Убихинон собирает восстановительные эквиваленты от NADH-дегидрогеназы и от различных субстратов, на которые действуют другие флавинозависимые дегидрогеназы. Пары восстановительных эквивалентов, поставляемые большинством флавинозависимых дегидрогеназ, не проходят через первый пункт фосфорилирования, и поэтому за счет их энергии образуются только две молекулы ATP.

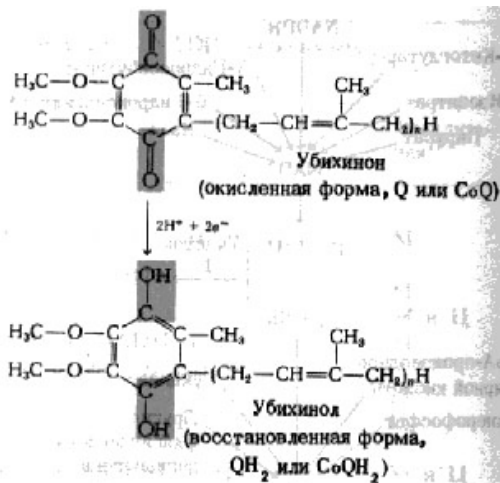


Рис. 17-10. Убихинон, или кофермент Q; n – число изопреновых звеньев в боковой цепи (см. текст). Группы, изображенные на красном фоне, участвуют в переносе атомов водорода. Обратите внимание, что при восстановлении убихинона в убихинол изменяется также и положение двойных связей в кольце.

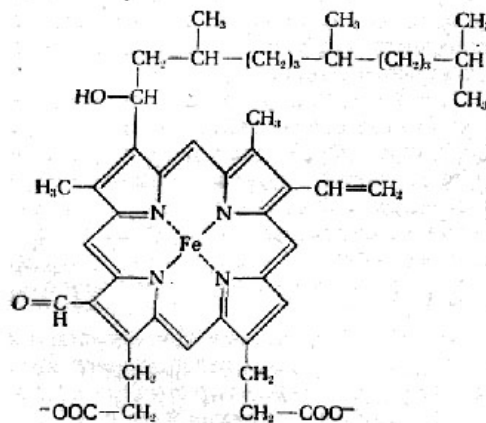


Рис. 17-11. Гем А (простетическая группа цитохромов класса А).

Образование АТФ. Химно-осмотическая гипотеза Питера Митчела.

Перенос электронов по электрон-транспортной цепи сопряжен с синтезом АТФ (на каждые 2 электрона, перенесенные от NADH к кислороду синтезируется 3 молекулы АТФ). Английский биохимик Питер Митчел предложил механизм сопряжения процессов переноса электронов и синтеза АТФ. Постулируется, что перенос электронов сопровождается выкачиванием ионов H^+ (протонов) из митохондрий, что ведет к образованию трансмембранного градиента протонов и заряда на мембране. В мембране существуют белковые комплексы (F_0F_1 -АТФазы), способные использовать градиент протонов для синтеза АТФ.

Системы переносчиков.

Внутренняя мембрана митохондрий непроницаема для большого числа соединений, в том числе практически для всех ионов. Для переноса внутрь митохондрий молекул ADP^{3-} и выведения синтезированного ATP^{4-} в цитозоль существует специальный фермент адениннуклеотид-транслоказа. Этот фермент катализирует перенос одной молекулы ADP^{3-} внутрь митохондрии с одновременным выбросом одной молекулы ATP^{4-} наружу. Для переноса внутрь митохондрий фосфатов, необходимых для синтеза ATP^{4-} существует фосфат-транслоказа.

Другая система (малат-аспартатная челночная система), состоящая из 4 ферментов переносит внутрь митохондрии внемитохондриальный NADH (образующийся в окислительных реакциях в цитозоле).

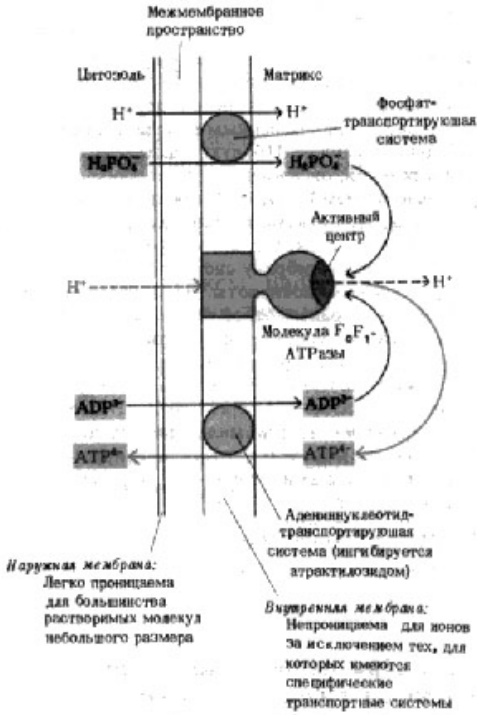


Рис. 17-14. Малат-аспартатная челночная система.

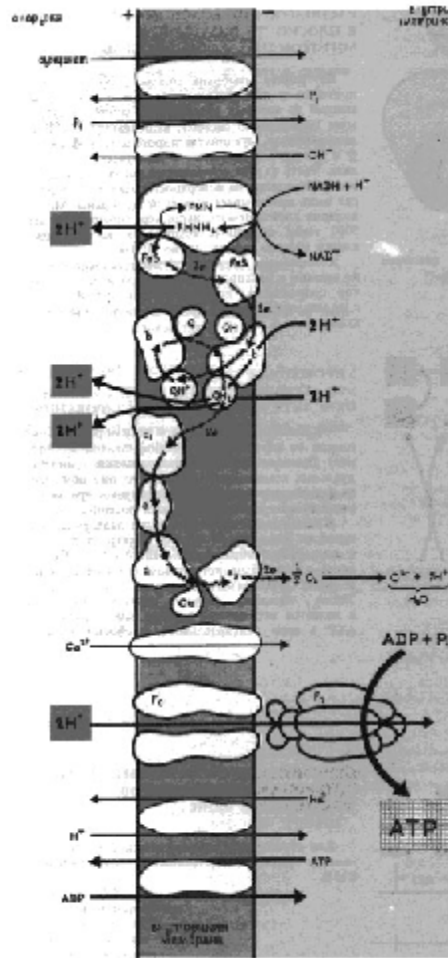


Рис. 17-12. Схема электронтранспортной цепи митохондрий.



Рис. 17-13. Система переноса протонов и АТФ.

Занятие 5. Углеводы.

Углеводами или сахарами называют полиоксиальдегиды и полиоксикетоны с общей формулой $(\text{C}_n\text{H}_m\text{O})_n$, а также производные этих соединений. *Моносахариды*, или *простые сахара*, состоят из одной полиоксиальдегидной или полиоксикетонной единицы. Наиболее распространенным моносахаридом является шестиуглеродный сахар D-глюкоза. Молекулы D-глюкозы служат главным видом клеточного топлива у большинства организмов и выступают в роли строительных блоков, или предшественников, наиболее распространенных полисахаридов.

Олигосахариды содержат от 2 до 10 моносахаридных единиц, соединенных гликозидной связью. Молекулы *полисахаридов* представляют собой очень длинные цепи, построенные из многих моносахаридных единиц; цепи могут быть как линейными, так и разветвленными. Большинство полисахаридов содержит повторяющиеся моносахаридные единицы одного и того же вида или двух чередующихся видов; поэтому они не могут выполнять роль информационных макромолекул.

В биосфере, по всей вероятности, больше углеводов, чем всех других органических соединений, вместе взятых. Объясняется это главным образом повсеместным распространением в больших количествах двух полимеров D-глюкозы, а именно целлюлозы и крахмала. Целлюлоза — главный внеклеточный структурный компонент волокнистых и одревесневших растительных тканей. Крахмал тоже содержится в растениях в чрезвычайно больших количествах; он является главной формой, в которой запасается клеточное топливо.

Полисахариды являются также важными компонентами сравнительно жестких стенок бактериальных и растительных клеток и более мягких оболочек животных клеток.

Семейства моносахаридов

Эмпирическая формула моносахаридов $(\text{C}_n\text{H}_m\text{O})_n$, где $n = 3$ или немногим более. В неразветвленном углеродном скелете моносахаридов все атомы углерода, за исключением одного, связаны с гидроксильными группами, а оставшийся атом углерода связан с карбонильным кислородом. Если карбонильная группа находится в конце цепи, то моносахарид представляет собой альдегид и называется *альдозой*, при любом другом положении этой группы он является кетоном и называется *кетозой*. Простейшие моносахариды — это трехуглеродные *триозы* глицеральдегид и диоксиацетон (фиг. XI-1). Глицеральдегид представляет собой *альдотриозу*, а диоксиацетон — *кетотриозу*. При удлинении углеродной цепи триоз путем последовательного добавления атомов углерода получаются соответственно *тетрозы*, *пентозы*, *гексозы*, *гептозы* и *октозы*. Каждый из этих классов представлен двумя группами соединений: тетрозы подразделяются на альдотетрозы и кетотетрозы, пентозы — на альдопентозы и кетопентозы, гексозы — на альдогексозы и кетогексозы и т. д.



Фиг. XI-1. диоксиацетон и глицеральдегид.

Строение некоторых D-альдоз и D-кетоз показано на фиг. XI-2. И в той и в другой группе моносахаридов чаще встречаются гексозы. Следует, однако, отметить, что альдопентозы являются компонентами нуклеиновых кислот, а производные триоз и гептоз играют важную роль, как промежуточные продукты углеводного обмена. Все простые сахара — бесцветные кристаллические вещества, хорошо растворяющиеся в воде, но нерастворимые в неполярных растворителях. Большинство из них имеет сладкий вкус.

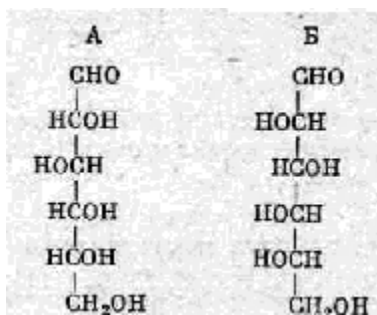
Стереоизомерия моносахаридов

Все моносахариды, за исключением диоксиацетона, содержат один или большее число асимметрических атомов углерода. Простейшая альдоза — глицеральдегид — содержит только один асимметрический атом углерода и поэтому может существовать в виде двух различных стереоизомеров.

Природные моносахариды обладают оптической активностью. Обычная форма глюкозы, встречающаяся в природе, является правовращающей ($[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +52,7^\circ$), а обычная форма фруктозы — левовращающей ($[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -92,4^\circ$). В то же время оба эти соединения принадлежат к D-ряду, поскольку их абсолютная конфигурация соответствует конфигурации D-глицеральдегида. Для сахаров, содержащих два или большее число асимметрических атомов углерода, принято соглашение, предписывающее приставки D- и L- относить к асимметрическому атому углерода, наиболее удаленному от карбонильного углерода. В настоящее время известна абсолютная конфигурация всех обычных моносахаридов.

На фиг. XI-2 показаны структуры D-альдоз. Все они имеют одну и ту же конфигурацию относительно асимметрического атома углерода, наиболее удаленного от карбонильного углерода, но, поскольку большинство из них содержит два или большее число асимметрических атомов углерода, существует целое семейство изомеров D-альдоз. С биологической точки зрения наиболее важны среди них D-глицеральдегид, D-рибоза, D-глюкоза, D-манноза и D-галактоза.

D-кетозы (фиг. XI-2), также обладающие одинаковой конфигурацией относительно асимметрического атома углерода, наиболее удаленного от карбонильной группы. Названия кетоз иногда образуют, вставляя суффикс «ул» в название соответствующей альдозы; так, например, D-рибулоза — это кетопентоза, соответствующая альдопентозе D-рибозе. Из числа D-кетоз наиболее важны в биологическом отношении диоксиацетон, D-рибулоза и D-фруктоза.



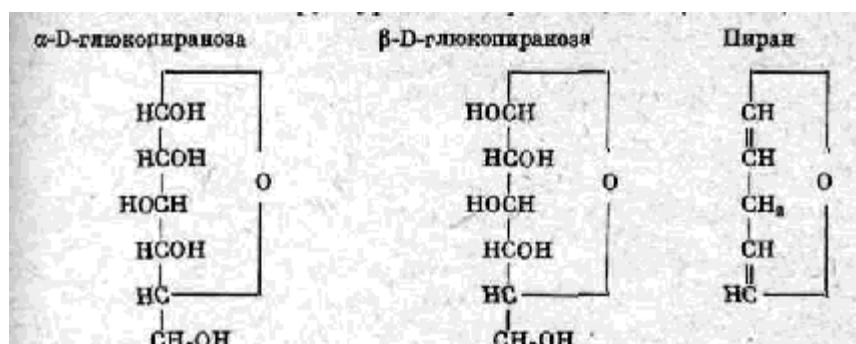
Фиг. XI-5. D-глюкоза (А) и L-глюкоза (Б).

Альдозы и кетозы L-ряда являются зеркальными отражениями своих D-партнеров, как это видно на примере D- и L-глюкозы (фиг. XI-5). L-сахара также встречаются в природе, но значительно реже. Среди наиболее важных следует назвать L-фукозу, L-рамнозу и L-сорбозу.

Два сахара, отличающихся только по конфигурации относительно одного определенного атома углерода, называются *эпимерами*. Так, D-глюкоза и D-манноза являются эпимерами по 2-му атому углерода, а D-глюкоза и D-галактоза — эпимерами по C-4

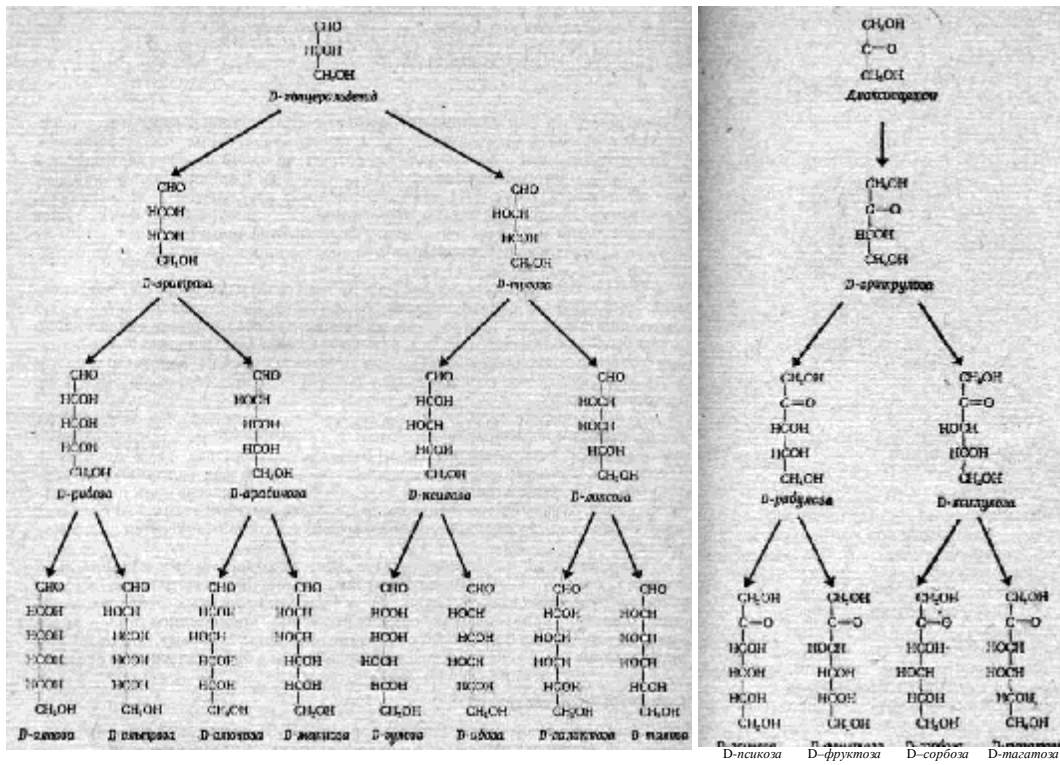
Мутаротация. Аномерные формы.

Многие моносахариды в водном растворе ведут себя так, как будто число содержащихся в них асимметрических центров больше, чем это следует из их структурных формул, соответствующих открытой цепи (фиг. XI-2 и XI-3). D-глюкоза может существовать в виде двух различных изомерных форм: α -D-глюкозы, для которой $[\alpha]_D^{20} = +112,2^\circ$, и β -D-глюкозы, для которой $[\alpha]_D^{20} = +18,7^\circ$. Оба эти соединения были выделены в чистом виде; оказалось, что они не различаются по своему элементарному составу. При растворении α - и β -изомеров D-глюкозы в воде оптическое вращение раствора постепенно меняется и в конце концов достигает равновесного значения $[\alpha]_D^{20} = +52,7^\circ$. Это явление, называемое *мутаротацией*, обусловлено образованием равновесной смеси, которая при 25° состоит примерно на одну треть из α -D-глюкозы и на две трети из β -D-глюкозы. Исходя из различных химических соображений, был сделан вывод, что эти α - и β -изомеры D-глюкозы не являются структурами с открытой цепью (такими, какие изображены на фиг. XI-2), а представляют собой замкнутые шестичленные кольца, образовавшиеся в результате реакции между спиртовой гидроксильной группой при C-5 и углеродом альдегидной группы (C-1). Такого типа шестичленные кольца сахаров называются *пиранозами*, потому что они являются производными гетероциклического соединения *пирана*. Систематическое название для кольцевой формы α -D-глюкозы будет α -D-глюкопираноза (фиг. XI-6).



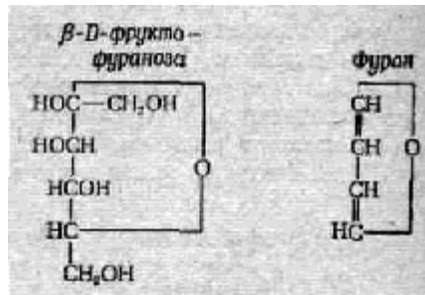
Фиг. XI-6. Производные пирана — α -D-глюкопираноза и β -D-глюкопираноза.

Образование пираноз представляет собой частный случай более общей реакции, а именно реакции между альдегидом и спиртом, при которой образуется *полуацеталь* (фиг. XI-7), содержащий асимметрический атом углерода и поэтому способный существовать в виде двух стереоизомерных форм. D-глюкопираноза — это внутримолекулярный полуацеталь, образующийся в результате реакции между свободной гидроксильной группой при C-5 и углеродом альдегидной группы, который вследствие этого становится асимметрическим атомом (Фиг. XI-9).

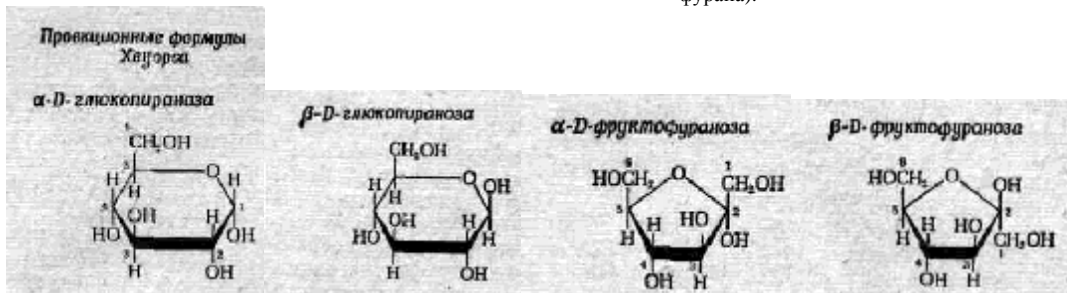


Фиг. XI-2. Семейства D-альдоз и D-кетоз, содержащих от трех до шести атомов углерода.

Из-за наличия асимметрического атома углерода D-глюкопираноза может существовать в виде двух различных стереоизомеров (их обозначают буквами α и β). Изомерные формы моносахаридов, отличающиеся друг от друга лишь по конфигурации относительно полуацетального атома углерода, называются *аномерами*, а *свп* полуацетальный атом углерода в этом случае называется *аномерным углеродом*.



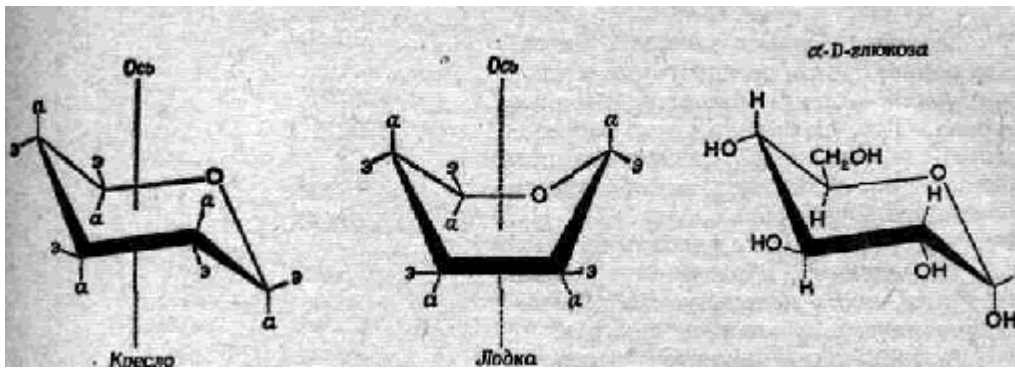
Фиг. XI-8. β -D-фруктофураноза (производное фурана).



Фиг. XI-9. Проекционные формулы Хеурса.

Образовывать устойчивые кольца и существовать в виде аномерных форм способны только моносахариды, содержащие пять или большее число атомов углерода. Тетрозы и триозы в водном растворе могут иметь лишь структуру с открытой цепью.

Кетогексозы также могут существовать в виде α - и β -аномерных форм. В этих соединениях спиртовая гидроксильная группа при C-5 реагирует с карбонильной группой при C-2, образуя пятичленное кольцо (фиг. XI-8), называемое *фуранозой* (поскольку оно является производным фурана). Альдогексозы могут существовать в виде альдофуранозных форм; однако, поскольку шестичленные альдопиранозные формы намного более устойчивы, чем фуранозные, именно они и преобладают в растворах альдогексоз. Считается, что форма с открытой цепью является промежуточным соединением, образующимся при взаимном превращении α - и β -форм гексоз в процессе мутаротации.



Фиг. XI-10. Конформации пиранозного кольца (а—аксиальная связь; э—экваториальная связь).

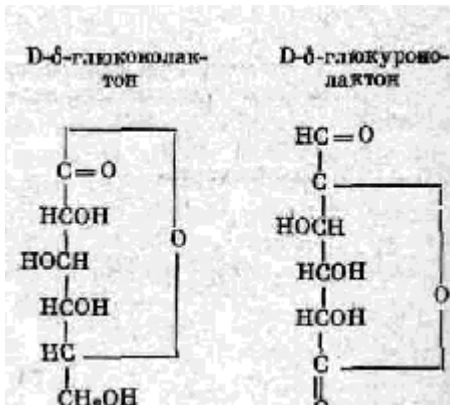
Для изображения пространственной конфигурации кольцевых форм моносахаридов обычно пользуются проекционными формулами Хеурса (фиг. XI-9). Край кольца, ближайший к читателю, изображают на этих формулах жирной линией. Такие проекции, однако, могут создать неправильное представление, будто пяти- и шестичленные фуранозные и пиранозные кольца являются плоскими, что в действительности не так. Пиранозное кольцо может принимать две конфигурации — форму *кресла* и форму *лодки*. Форма кресла значительно более устойчива; считается, что именно она преобладает в большей части природных сахаров. Замещающие группы в кольцах, имеющих форму кресла, в геометрическом и химическом отношении неэквивалентны. Различают *аксиальные* и *экваториальные* группы. Экваториальные гидроксильные группы пираноз этерифицируются гораздо легче, чем аксиальные (фиг. XI-10).

Дезоксисахара

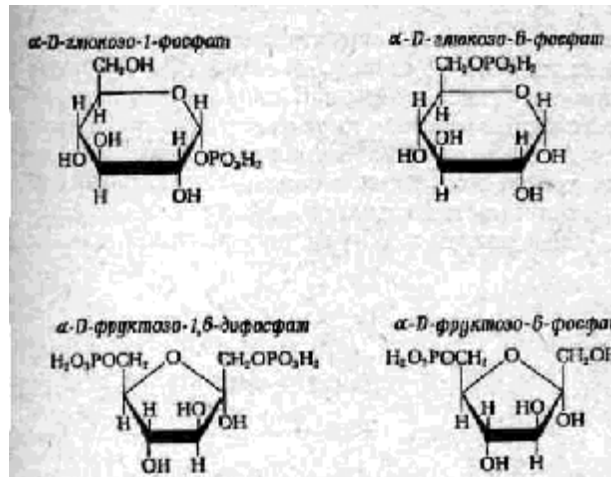
Из дезоксисахаров наиболее широко распространена в природе 2-дезоксид-*D*-рибоза — углеводный компонент дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК). *L*-рамноза (6-дезоксид-*L*-манноза) и *L*-фукоза (6-дезоксид-*L*-галактоза) являются важными компонентами клеточных стенок некоторых бактерий. На фиг. XI-22 приведены структурные формулы 2-дезоксид-*D*-рибозы, *L*-рамнозы и *L*-фукозы.

Дисахариды

Среди дисахаридов особенно широко известны мальтоза, лактоза и сахароза. *Мальтоза*, образующаяся в качестве промежуточного продукта при действии амилаз на крахмал, содержит два остатка *D*-глюкозы. Она представляет собой смешанный ацеталь аномерного углеродного атома *D*-глюкозы; при образовании его одну гидроксильную группу поставляет 5-й углеродный атом, а другую - 4-й углерод соседнего остатка *D*-глюкозы (фиг. XI-25).



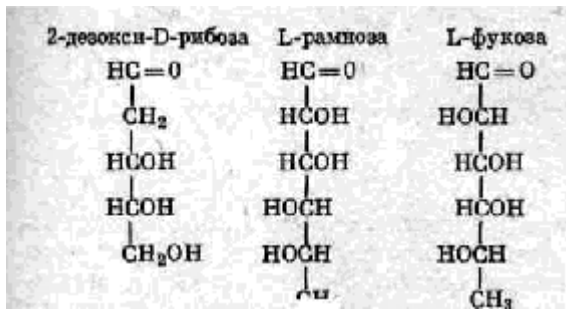
Фиг. XI-20. Лактоны.



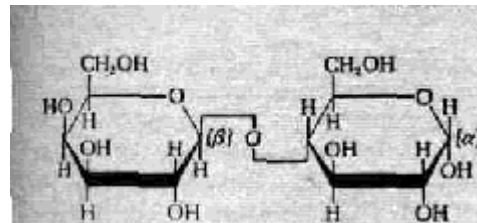
Фиг. XI-21. Эфиры фосфорной кислоты.

Обе глюкозные половины находятся в пиранозной форме, а конфигурация гликозидной связи, в образовании которой участвует аномерный атом углерода, относится к α -типу. Мальтозу можно поэтому назвать 4- α -*D*-гликопиранозил- β -*D*-гликопиранозой. У второго остатка глюкозы имеется свободный аномерный атом углерода, который может находиться как в α -, так и в β -форме (преобладает, однако, β -форма).

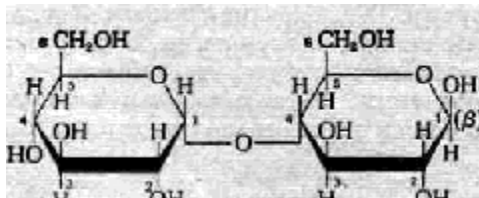
Гликозидную связь между остатками глюкозы принято изображать как $\alpha(1\rightarrow4)$ -связь. Тот факт, что гликозидная связь мальтозы образуется за счет С-1 первого остатка глюкозы и С-4 второго остатка, был доказан исчерпывающим метилированием всех свободных гидроксильных групп с последующим гидролизом гликозидной связи; при этом получается два метилированных фрагмента: 2,3,4,6-тетра-*O*-метил-*D*-глюкоза и 2,3,6-три-*O*-метил-*D*-глюкоза.



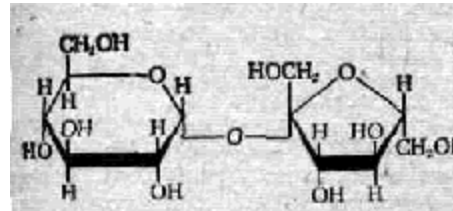
Фиг. XI-22. Дезоксисахара.



Фиг. XI-26. Структурная формула лактозы (4-0-β-D-галактозилпиранозил-α-D-глюкопиранозида).



Фиг. XI-25. Структурная формула мальтозы.



Фиг. XI-27. Структурная формула сахарозы (α-D-глюкопиранозил-β-D-фруктофуранозида).

Обе глюкозные половины находятся в пиранозной форме, а конфигурация гликозидной связи, в образовании которой участвует аномерный атом углерода, относится к α-типу. Мальтозу можно поэтому назвать 4-0-α-D-глюкопиранозил-β-D-глюкопиранозой. У второго остатка глюкозы имеется свободный аномерный атом углерода, который может находиться как в α-, так и в β-форме (преобладает, однако, β-форма).

Гликозидную связь между остатками глюкозы принято изображать как α(1→4)-связь. Тот факт, что гликозидная связь мальтозы образуется за счет С-1 первого остатка глюкозы и С-4 второго остатка, был доказан исчерпывающим метилированием всех свободных гидроксильных групп с последующим гидролизом гликозидной связи; при этом получается два метилированных фрагмента: 2,3,4,6-тетра-О-метил-D-глюкоза и 2,3,6-три-О-метил-D-глюкоза.

Широко распространены также два других дисахарида, молекула которых тоже состоит из двух остатков D-глюкозы, а именно целлобиоза и гентиобиоза. *Целлобиоза*—повторяющаяся структурная единица целлюлозы — имеет гликозидную связь β(1→4)-типа; следовательно, полное ее название будет 4-0-β-D-глюкопиранозил-О-α-глюкопираноза. В *гентиобиозе* гликозидная связь относится к β(1→6)-типу. Каждый из этих дисахаридов имеет свободный аномерный атом углерода.

Дисахарид *лактоза* содержится только в молоке; больше она в природе нигде не обнаружена. Гидролиз лактозы дает D-галактозу и D-глюкозу. Поскольку в молекуле лактозы имеется свободный аномерный атом углерода (в остатке глюкозы), она принадлежит к числу редуцирующих дисахаридов (фиг. XI-26).

Сахароза, или тростниковый сахар, представляет собой дисахарид, состоящий из остатков глюкозы и фруктозы (фиг. XI-27). Этот дисахарид чрезвычайно широко распространен в растительном мире. В отличие от большинства дисахаридов и олигосахаридов сахароза не имеет свободного аномерного атома углерода; два ее аномерных углерода связаны между собой. Таким образом, сахароза не является ни полуацеталем, ни полукеталем. Она не подвергается мутаротации, не дает с фенилгидразином озазонов и не принадлежит к числу редуцирующих сахаров. Гидролизует ее она намного легче других дисахаридов. Гидролиз сахарозы ($[\alpha]_D^{20} = +66,5^\circ$) с образованием D-глюкозы ($[\alpha]_D^{20} = +52,5^\circ$) и D-фруктозы ($[\alpha]_D^{20} = -92^\circ$) часто называют *инверсией*, поскольку он сопровождается изменением знака оптического вращения: правовращающая сахароза превращается в левовращающую смесь эквимольных количеств глюкозы и фруктозы. Эту смесь называют *инвертированным сахаром*. Благодаря явлению инверсии гидролиз сахарозы (катализируемый также ферментом *инвертазой*) можно контролировать с помощью поляриметра.

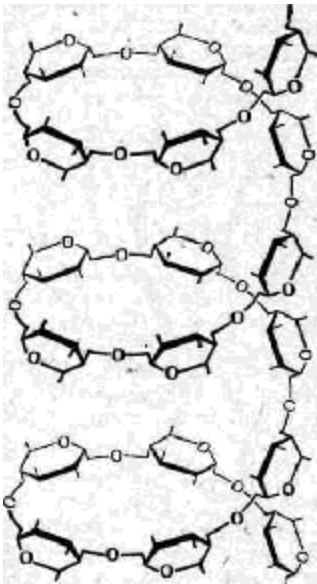
Трегалоза, состоящая из двух остатков D-глюкозы, может служить другим примером нередуцирующего дисахарида, в котором два аномерных атома углерода связаны друг с другом. Этот дисахарид — главный сахар гемолимфы многих насекомых.

Трисахариды

Ряд трисахаридов встречается в природе в свободной форме. *Рафиноза* (фруктоза, глюкоза, галактоза) содержится в больших количествах в сахарной свекле и во многих других высших растениях. *Мелецитоза* (глюкоза, фруктоза, глюкоза) обнаружена в соке некоторых хвойных деревьев.

Резервные полисахариды

Главными резервными полисахаридами растений и животных являются соответственно крахмал и гликоген, которые откладываются в цитоплазме клеток в виде крупных гранул (фиг. XI-28). Эти гранулы имеют диаметр порядка 100—400 А и состоят из большого числа тесно связанных друг с другом полисахаридных молекул. Кроме того, в них содержатся белки и в их числе — специальные ферменты, принимающие участие в процессах синтеза и распада полисахаридов (глава XXIII). Гранулы крахмала и гликогена могут быть выделены из клеточных экстрактов методом дифференциального центрифугирования. Если в клетке имеются излишки глюкозы, то ее молекулы (под действием соответствующих ферментов) присоединяются к концам цепей крахмала или гликогена; если же возникает метаболическая потребность в глюкозе, то происходит ее ферментативное отщепление от резервных полисахаридов.

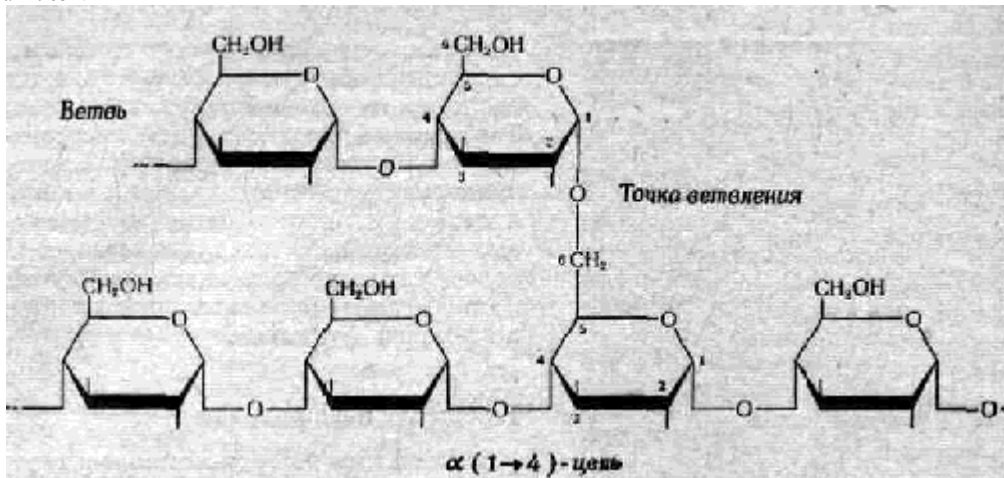


Фиг. XI-29. Спираль амилозы.

Крахмал

Крахмал существует в двух формах, а именно в форме α -амилозы и в форме амилопектина (фиг. XI-29 и XI-30). α -Амилоза состоит из длинных неразветвленных цепей, в которых все D-глюкозные единицы соединены $\alpha(1\rightarrow4)$ -связями. Цепи эти полидисперсны; их молекулярный вес варьирует от нескольких тысяч до 500 000. В воде амилоза не дает истинного раствора, но образует гидратированные мицеллы, которые при добавлении иода окрашиваются в синий цвет.

В таких мицеллах полисахаридные цепи амилозы скручены в спираль. Цепи *амилопектина* сильно разветвлены. Ветви содержат в среднем по 12 остатков глюкозы и точки ветвления образуются приблизительно у каждого 12-го остатка. Остов молекулы амилопектина имеет гликозидные связи $\alpha(1\rightarrow4)$ -типа, но связи в точках ветвления относятся к $\alpha(1\rightarrow6)$ -типу. Амилопектин также образует коллоидные или мицеллярные растворы, однако при добавлении иода эти растворы окрашиваются не в синий, а в красно-фиолетовый цвет. Молекулярный вес амилопектина может достигать 1 млн. Да.

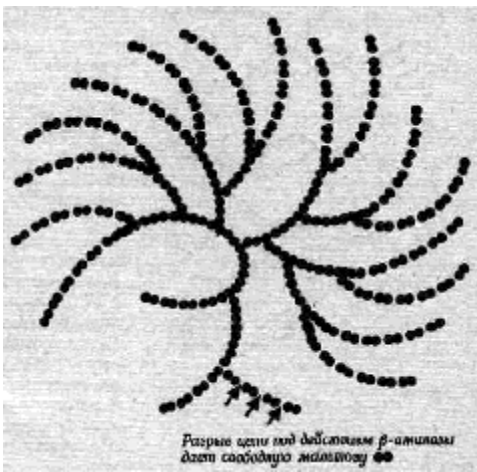


Фиг. XI-30. Точки ветвления в амилопектине.

Основные компоненты крахмала гидролизуются ферментативным путем двумя разными способами. Амилоза может быть гидролизована ферментом, известным под названием α -амилазы (более точное название: $\alpha(1\rightarrow4)$ -глюкан — 4-глюканогидролаза). Этот фермент, присутствующий в соке поджелудочной железы и в составе слюны, участвует в переваривании крахмала в желудочно-кишечном тракте. Он гидролизует $\alpha(1\rightarrow4)$ -связи амилозных цепей таким образом, что в конечном счете получается смесь глюкозы и мальтозы. Кроме того, амилоза может быть гидролизована ферментом β -амилазой (более точное название $\alpha(1\rightarrow4)$ -глюкан—мальтогидролаза). Этот фермент, содержащийся в солоде, последовательно отщепляет остатки мальтозы, начиная с нередуцирующего конца. Полисахариды с промежуточной длиной цепи, образующиеся в результате действия амилаз, называются *декстринами*. Амилопектин также гидролизует α - и β -амилазами, однако, поскольку ни та ни другая амилаза не способна расщеплять $\alpha(1\rightarrow6)$ -связи (в точках ветвления амилопектина), конечным продуктом при действии амилаз на амилопектин оказывается крупная, сильно разветвленная «сердцевина» полисахарида, называемая *остаточным декстрином* (фиг. XI-31). $\alpha(1\rightarrow6)$ -связи, находящиеся в точках ветвления, гидролизуются особыми ферментами — $\alpha(1\rightarrow6)$ -глюкозидазами. Таким образом, при совместном действии α -амилазы и $\alpha(1\rightarrow6)$ -глюкозидазы амилопектин может быть полностью расщеплен на глюкозу и мальтозу.

Гликоген

Этот резервный полисахарид содержится в животных тканях; особенно много его в печени и мышцах. Так же как и амилопектин, гликоген представляет собой полисахарид, в котором D-глюкозные единицы соединены $\alpha(1\rightarrow4)$ -связями. Однако от амилопектина он отличается значительно более высокой степенью ветвления; точки ветвления располагаются у него в среднем через каждые 8—10 остатков D-глюкозы. Связи в точках ветвления принадлежат к $\alpha(1\rightarrow6)$ -типу. Гликоген может быть выделен из животных тканей при обработке этих тканей горячим раствором KOH — в этих условиях нередуцирующие $\alpha(1\rightarrow4)$ - и $\alpha(1\rightarrow6)$ -связи не расщепляются. Гликоген легко гидролизует α - и β -амилазами, которые отщепляют от него соответственно глюкозу и мальтозу; в этом случае тоже образуется остаточный декстрин.



Фиг. XI-31. Действие β -амилазы на амилопектин. Остатки мальтозы последовательно отщепляются с тех пор, пока не встретится точка ветвления с характерной для нее $\alpha(1 \rightarrow 6)$ -связью. После гидролиза остается не поддающаяся расщеплению «сердцевина», так называемый остаточный декстрин, составляющий около 40% всей молекулы.

Другие резервные полисахариды

Декстраны также представляют собой полисахариды с разветвленными цепями, состоящими из остатков D-глюкозы, но они отличаются от крахмала и гликогена тем, что структурные единицы их остова связаны $\alpha(1 \rightarrow 6)$ -связями. Декстраны играют роль резервных полисахаридов у дрожжей и бактерий. Различные декстраны отличаются друг от друга характером точек ветвления, которые могут быть типа $1 \rightarrow 2$, $1 \rightarrow 3$ или $1 \rightarrow 4$. Студенистые растворы декстранов обладают очень высокой вязкостью.

Фруктаны и *леваны* представляют собой гомополисахариды, состоящие из остатков D-фруктозы; они содержатся во многих растениях. *Инулин*, обнаруженный в артишоках, состоит из остатков D-фруктозы, соединенных $\beta(2 \rightarrow 1)$ -связями. *Маннаны* (гомополисахариды маннозы) содержатся в бактериях, в дрожжах, в плесневых грибах и в высших растениях. *Ксиланы* и *арабинаны*, также относящиеся к гомополисахаридам, обнаружены в растительных тканях.

Структурные полисахариды

В состав *целлюлозы* (клетчатки) входит более 50% всего органического углерода биосферы. Целлюлоза — простейший и наиболее широко распространенный структурный полисахарид растительного мира. Древесина состоит из целлюлозы приблизительно на 50%, а хлопок представляет собой почти чистую целлюлозу. В организме некоторых низших беспозвоночных также обнаружена целлюлоза. Почти вся встречающаяся в природе целлюлоза принадлежит к разряду внеклеточных веществ.

При полном гидролизе целлюлозы (который может быть осуществлен при помощи концентрированных кислот) образуется только D-глюкоза, однако при частичном гидролизе образуется редуцирующий дисахарид *целлобиоза*, в котором связь между двумя остатками D-глюкозы принадлежит к $\beta(1 \rightarrow 4)$ -типу. Исчерпывающее метилирование целлюлозы с последующим гидролизом дает только 2,3,6-три-O-метилглюкозу, откуда следует, что в молекулах целлюлозы содержатся только $(1 \rightarrow 4)$ -гликозидные связи, а точки ветвления отсутствуют. У большинства млекопитающих в желудочно-кишечном тракте нет ферментов, способных гидролизовать $\beta(1 \rightarrow 4)$ -связи; поэтому целлюлоза не может служить для них продуктом питания. Однако жвачные животные, например коровы, могут питаться и целлюлозой, потому что у них в рубце (одна из частей их сложного желудка) содержатся бактерии, вырабатывающие фермент *целлюлозу*, который расщепляет целлюлозу и превращает ее в D-глюкозу.

Минимальный молекулярный вес целлюлозы варьирует от 50 000 до 500 000, что соответствует 300 и 3000 остаткам глюкозы. Согласно рентгено-структурным данным, молекулы целлюлозы соединены в пучки, или волокна, состоящие из параллельных цепей, связанных поперечными водородными связями (фиг. XI-32). Эти волокна совершенно нерастворимы в воде.

Целлюлоза служит главным структурным компонентом клеточных стенок растений. Некоторые растительные клетки, особенно клетки водных растений, должны обладать способностью противостоять действию резко гипертонической или гипотонической среды; поэтому им необходимы жесткие клеточные стенки. У других растений, главным образом у древесных пород, клеточные стенки должны еще выдерживать огромный вес. В стенках всех растительных клеток окружающие клетку целлюлозные волокна имеют правильную, почти кристаллическую упаковку. Эти волокна цементируются матриксом, состоящим из трех других полимерных материалов, а именно из *гемицеллюлозы*, *пектина* и *экстенсина*. Главными компонентами матрикса являются *гемицеллюлозы*, в структурном отношении не похожие на целлюлозу. Они являются D-ксиланами — полимерами D-ксилозы; структурные единицы в их молекулах соединены $\beta(1 \rightarrow 4)$ -связями, а роль боковых цепей играют остатки арабинозы и других сахаров. *Пектин* представляет собой полимер метил-D-галактуроната, а *экстенсин* — белок, ковалентно связанный с целлюлозными волокнами. Экстенсин в некоторых отношениях напоминает коллаген, выполняющий аналогичные функции в животных тканях; он так же, как и коллаген, отличается высоким содержанием оксипролина.

Клеточные стенки высших растений можно сравнить с железобетоном, в котором роль арматуры играют целлюлозные волокна, а роль бетона — матрикс. Такие клеточные стенки способны выдерживать чрезвычайно высокие напряжения. Древесина содержит еще одно полимерное вещество, а именно *лигнин*, на долю которого приходится приблизительно 25% ее сухого веса. Структура лигнина точно не выяснена; известно лишь, что он состоит из полимеризованных ароматических спиртов.

Полисахарид *хитин* служит главным структурным элементом твердого наружного скелета насекомых и ракообразных. Это гомополимер N-ацетил-D-глюкозамина, близкий по структуре к целлюлозе, с той разницей, что гидроксильная группа в положении 2 остатков глюкозы замещена в случае хитина на N-ацетиламиногруппу. Как и целлюлоза, хитин нерастворим в воде и его параллельные цепи также имеют кристаллическую упаковку.

К числу прочих полисахаридов, являющихся компонентами клеточных стенок, относятся: *агар* морских водорослей, содержащий частично этерифицированные серной кислотой остатки D- и L-галактозы; *альгиновая кислота* бурых и некоторых других водорослей, состоящая из остатков D-маннуроно-вой кислоты, и, наконец, *камеди*, содержащие остатки D-галактозы и D-глюкуроновой кислоты, а также остатки арабинозы и рамнозы.

Занятие 6. Углеводы.

Распад углеводов.

В зависимости от условий, в которых протекает распад углеводов, а также специфики организма, продукты распада будут различаться. Все пути распада углеводов можно разделить на два типа: *брожение* (анаэробное расщепление углеводов) и *дыхание* (аэробное расщепление). Оба типа (брожение и дыхание) включают в себя общую последовательность реакций, называемую *гликолизом*.

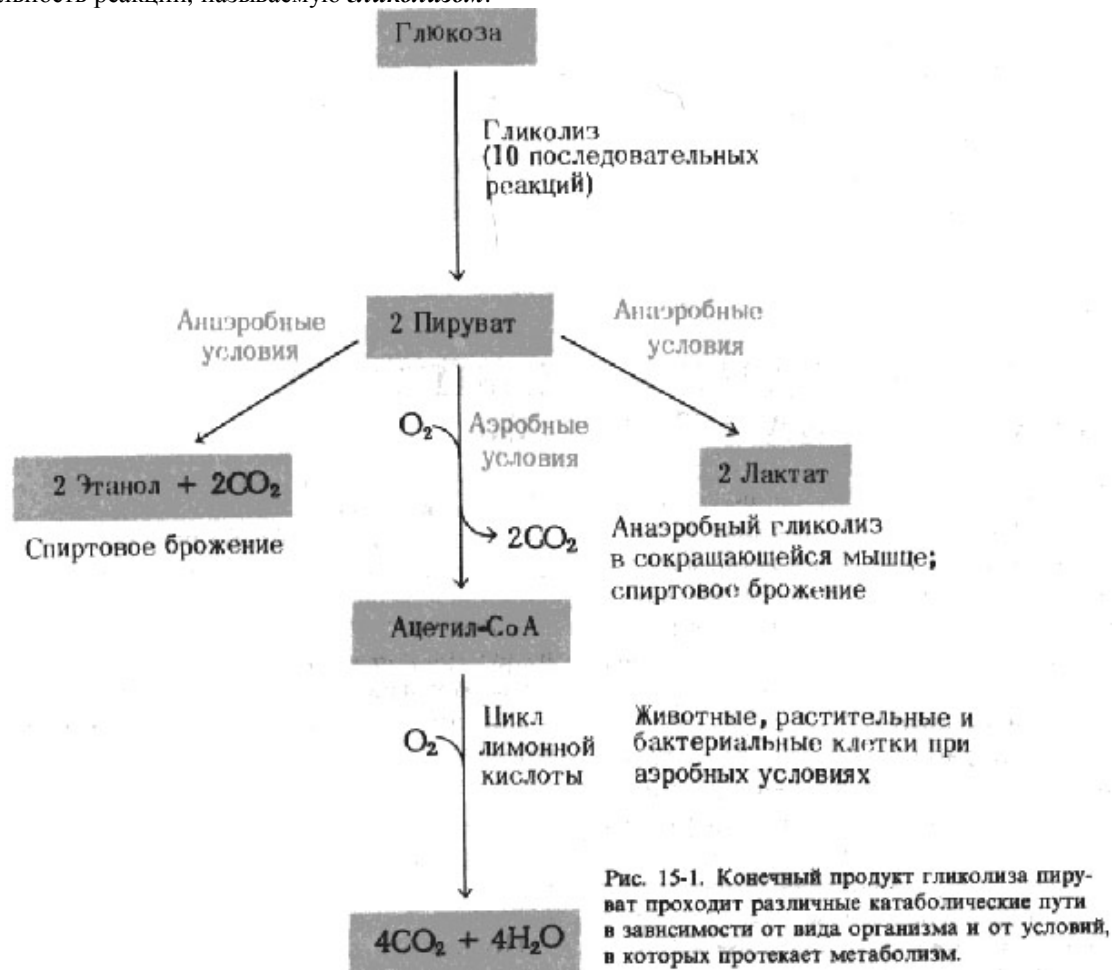


Рис. 15-1. Конечный продукт гликолиза пируват проходит различные катаболические пути в зависимости от вида организма и от условий, в которых протекает метаболизм.

Среди различных вариантов брожения мы рассмотрим два вида: *молочнокислородное брожение* (иногда его называют анаэробным гликолизом) и *спиртовое брожение*. Если продукт гликолиза- пируват- преобразуется в молочную кислоту (лактат), то весь процесс называют молочнокислым брожением. Если же пируват распадается на этанол и CO_2 , то процесс называют спиртовым брожением.

В аэробных условиях пируват преобразуется в Ацетил-КоА, который затем вовлекается в цикл Кребса (лимонной кислоты). Однако, десять последовательных реакций гликолиза, в процессе которых глюкоза окисляется до пирувата, являются универсальными практически для всех видов живых организмов.

Гликолиз.

Первой реакцией гликолиза (реакция 2 на рис.1) является реакция фосфорилирования **D-глюкозы** за счет АТФ с образованием **α-D-глюкозо-6-фосфата**. ΔG^0 реакции равно $-4,0$ ккал, поэтому большая часть свободной глюкозы в клетке находится в фосфорилированном состоянии. Этот процесс могут ускорять два различных фермента: *гексокиназа* (фосфорилирует многие гексозы) и *глюкокиназа* (фосфорилирует только глюкозу).

В следующей реакции (реакция 4 на рис.1) **α-D-глюкозо-6-фосфат** превращается в **α-D-фруктозо-6-фосфат**. Эту реакцию *изомеризации* катализирует фермент *фосфоглюкоизомераза*.

Далее **фруктозо-6-фосфат** фосфорилируется за счет еще одной молекулы АТФ до **фруктозо-1,6-дифосфата** (реакция 5 на рис.1) при участии фермента *фосфофруктокиназы*. Эта реакция является одной из точек регуляции всего процесса гликолиза. Фосфофруктокиназа может аллостерически ингибироваться молекулами АТФ и цитрата, т.е. в специальном аллостерическом центре этого фермента может связываться АТФ, приводя к его инаktivации. Таким образом, повышение концентрации АТФ в клетке приведет к замедлению процесса гликолиза. В то же время, фермент активизируется повышением концентрации АМФ.

Фруктозо-1,6-дифосфат расщепляется с образованием двух трехуглеродных молекул: **глицеральдегид-3-фосфата** и **диоксиацетонфосфата** (реакция 6 на рис.1). Эту реакцию катализирует фермент *альдолаза*.

В дальнейшие превращения вступает молекула глицеральдегид-3-фосфата, поэтому в клетке существует фермент- *триозофосфатизомераза*, осуществляющий превращение **диоксиацетонфосфата** в **глицеральдегид-3-фосфат** (реакция 7 на рис.1).

Таким образом, из одной молекулы глюкозы получается две молекулы глицеральдегид-3-фосфата, каждая из которых вступает в дальнейшие реакции пути гликолиза.

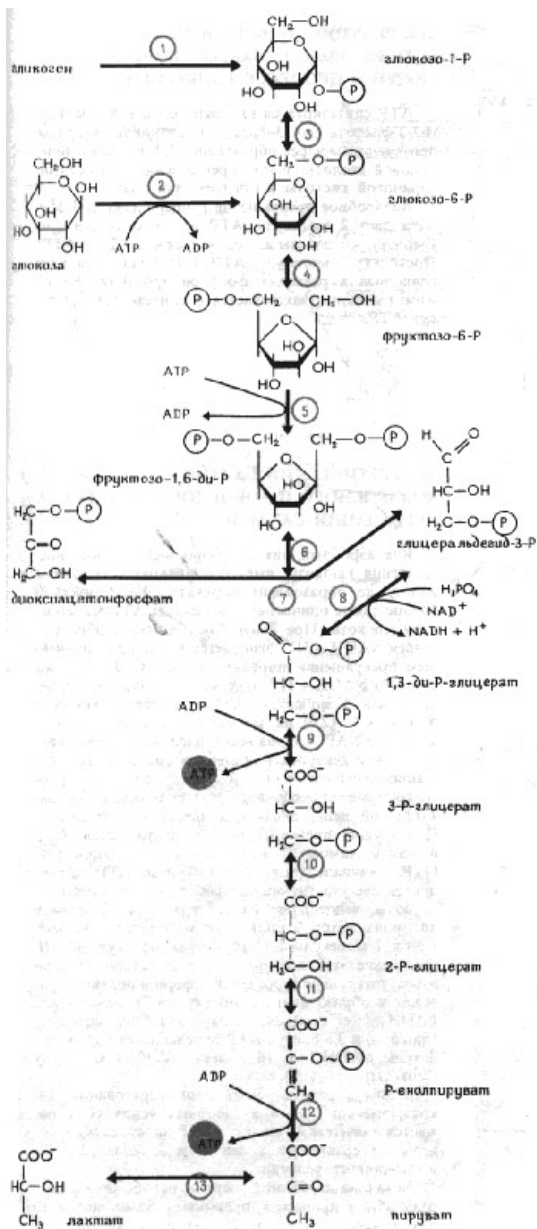


Рис.1 Схема гликолиза.

Суммарное уравнение такого процесса будет выглядеть как: глюкоза+ 2АТФ+ 2 H_2O → 2лактат+ 2АТФ+ 2 H_2O

Следующая реакция (номер 8 на рис.1) представляет собой окисление **глицеральдегид-3-фосфата** (ГЗФ) до **1,3-дифосфоглицерата** (ФГФ) с участием NAD^+ и $NADH$ -зависимой **глицеральдегид-3-фосфат-дегидрогеназы**. К молекуле ГЗФ присоединяется свободная фосфатная группа, а молекула NAD^+ восстанавливается до $NADH$ (в дальнейшем этот восстановитель будет снова окислен до NAD^+ в реакции перехода пирувата в лактат (номер 13 на рис.1)). 1,3-дифосфоглицерат является макроэргическим соединением, ΔG^0 его гидролиза составляет -11,3 ккал (для сравнения- эта же величина для АТФ -7,3 ккал).

В процессе следующей реакции происходит перенос одной из фосфатных групп **1,3-дифосфоглицерата** на молекулу АДФ с образованием АТФ и **3-фосфоглицерата**. Реакцию катализирует фермент **фосфоглицераткиназа**.

3-фосфоглицерат затем превращается в **2-фосфоглицерат** под действием фермента **фосфоглицеромутазы** (реакция 10 на рис.1).

2-фосфоглицерат далее образует **фосфоенолпируват** (ФЕП), макроэргическое соединение ($\Delta G^0 = -14,8$). Реакцию катализирует фермент **енолаза**.

За счет огромной энергии, запасенной в фосфатной связи **фосфоенолпирувата**, он далее может распадаться до **пирувата** с переносом фосфата на АДФ и образованием еще одной молекулы АТФ. Реакцию ускоряет **пируваткиназа**. Пируваткиназа также, как и фосфофруктокиназа, является регуляторным ферментом. Его активность ингибируется при повышении концентрации Ацетил-КоА и жирных кислот.

Если весь процесс происходит в анаэробных условиях (например в скелетных мышцах при их активной работе), то завершающей стадией будет образование молочной кислоты (лактата) из пирувата под действием лактатдегидрогеназы и окислением образовавшейся ранее молекулы $NADH$ до NAD^+ .

Синтез углеводов.

Из известных путей синтеза углеводов следует выделить два наиболее распространенных: **глюконеогенез** и **цикл Кальвина** (фотосинтетическое образование гексоз из CO_2). Глюконеогенез, как и гликолиз, присутствует практически во всех видах живых организмов. Фотосинтетическое образование гексоз из CO_2 через цикл Кальвина отсутствует у гетеротрофов и является отличительной особенностью автотрофов (в особенности фотосинтезирующих клеток).

Глюконеогенез.

Глюконеогенез представляет собой процесс образования глюкозы из пирувата и является процессом, как бы обратным гликолизу. Более того, семь реакций, входящих в цепь превращений глюконеогенеза являются простым обращением реакций гликолиза. Однако, несколько реакций, идущих в гликолизе с большим выходом энергии и практически необратимых, проходят при глюконеогенезе по иному механизму.

Глюконеогенез и гликогенонеогенез являются процессами, в которых глюкоза или соответственно гликоген синтезируются из неуглеводных субстратов. Субстратами в глюконеогенезе выступают лактат, образовавшийся при анаэробном гликолизе, аминокислоты и глицерин. Глюконеогенез не может протекать за счет простого обращения реакций гликолиза из-за неблагоприятных констант равновесия в реакциях, катализируемых пируваткиназой, фосфофруктокиназой и гексокиназой. Обращение этих реакций достигается в результате следующих процессов:

1. Образование фосфоенолпирувата из пирувата протекает через оксалоацетат. Основной путь превращения пирувата в оксалоацетат локализован в митохондриях и происходит следующим образом. После прохождения через мембрану митохондрий пируват карбоксилируется пируваткарбоксилазой до оксалоацетата, который выходит из митохондрий в цитоплазму в виде малата, цитрата и аспартата.

Путь через малат в количественном отношении наиболее важен; оксалоацетат восстанавливается малатдегидрогеназой митохондрий до малата, который переносится в цитоплазму и затем вновь превращается в оксалоацетат

цитоплазматической малатдегидрогеназой. Кроме того, в цитоплазме происходит прямое превращение пирувата в малат, так называемое восстановительное карбоксилирование; количественный вклад этого процесса невелик.

Другой важный путь переноса оксалоацетата из митохондрий в цитоплазму протекает через образование цитрата: оксалоацетат конденсируется с ацетил-СоА под действием цитратсинтазы. Образующийся цитрат разлагается цитратомыляющим ферментом. Перенос оксалоацетата в виде аспартата количественно менее важен. Превращение оксалоацетата в фосфоенолпируват включает за счет действия ИТР или GTP одновременное декарбоксилирование и фосфорилирование, катализируемое фосфоенолпируваткарбоксикиназой.

2. Превращение фруктозо-1,6-дифосфата во фруктозо-6-фосфат катализируется гексозодифосфатазой-аллостерическим ферментом, активирующимся АТР и ингибирующимся АМР.

3. Дефосфорилирование глюкозо-6-фосфата до глюкозы катализируется глюкозо-6-фосфатазой. Этот фермент обнаруживается в эндоплазматическом ретикулуме печени и почек, но его нет ни в мышцах, ни в мозге, который не обладает способностью снабжать кровь глюкозой. Синтез гликогена протекает через образование промежуточного высоко реакционноспособного соединения ури-диндифосфатглюкозы (UDPGlc). Реакция начинается в присутствии гликогена, который служит акцептором других остатков глюкозы, переносимых UDPGlc.

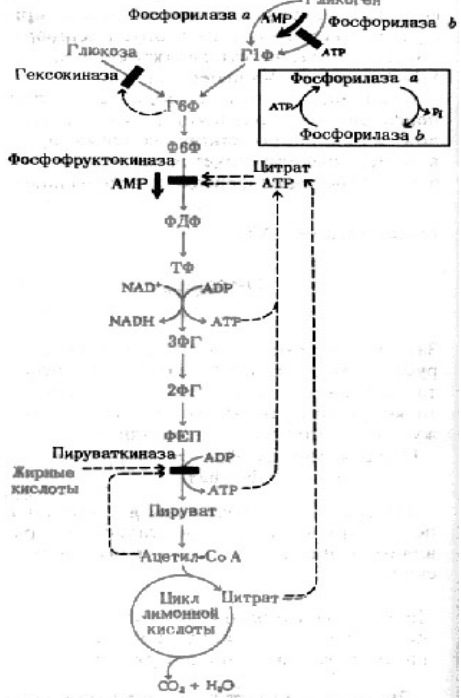
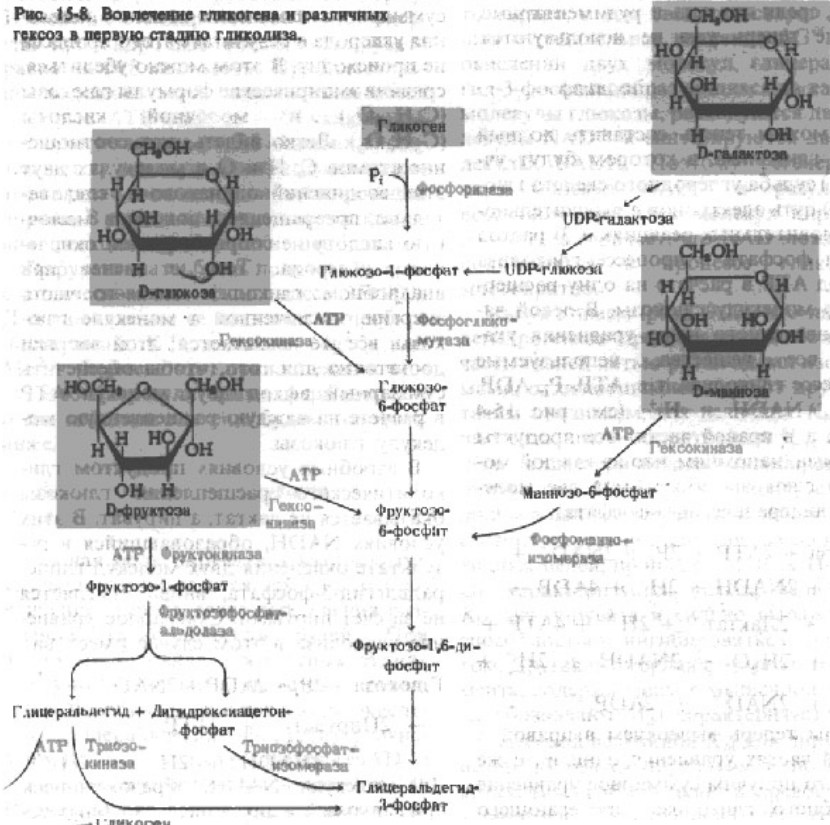


Рис. 15-13. Механизм, с помощью которого регулируется включение остатков глюкозы в процесс гликолиза и расщепление их на этом пути.

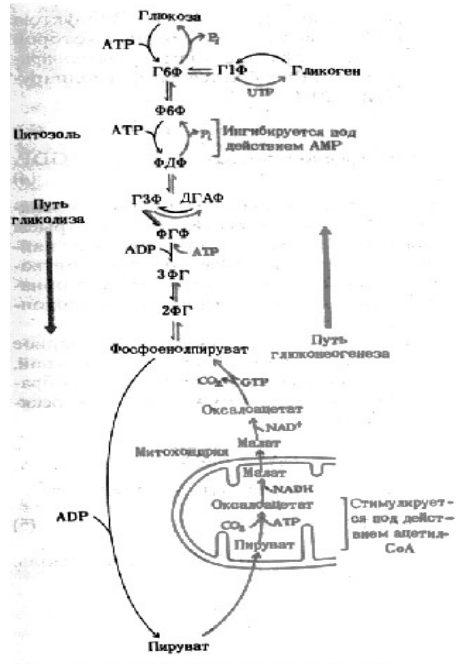


Рис. 20-2. Противоположно направленные пути гликолиза и глюконеогенеза в печени

Занятие 7. Углеводы.

Цикл ди- и трикарбоновых кислот (=цикл лимонной кислоты, цикл Кребса).

В аэробных условиях образующийся при расщеплении глюкозы пируват не восстанавливается до лактата или этанола, а окисляется в процессе последующих реакций до CO_2 и H_2O . Последовательность этих реакций получила название цикла ди- и трикарбоновых кислот.

На первой стадии процесса образующийся при гликолизе пируват окисляется до Ацетил-КоА и CO_2 . Эта реакция создает субстрат для цикла ди- и трикарбоновых кислот- Ацетил-КоА. Непосредственно пируват включаться в цикл не может. В виде Ацетил-КоА в цикл ди- и трикарбоновых кислот поступают не только продукты распада глюкозы, но и других соединений, например жирных кислот и аминокислот.

Все реакции цикла ди- и трикарбоновых кислот протекают в митохондриях. Пируват поступает в митохондрии через специальную транспортную систему.

Процесс окислительного декарбоксилирования пирувата представляет собой довольно сложное превращение, в котором последовательно происходят две различные реакции: реакция декарбоксилирования и реакция дегидрирования.

Катализатором процесса служит комплекс из трех различных ферментов: *пируватдегидрогеназы*, *дигидролипоил-ацетил-трансферазы* и *дигидролипоилдегидрогеназы*, а также пяти коферментов: тиаминпирофосфата, флавинадениндинуклеотида (FAD), кофермента-А (CoA), никотинамадениндинуклеотида (NAD^+) и липоевой кислоты. Все эти ферменты и коферменты объединены в мультиферментную систему (пируватдегидрогеназный комплекс), по своим размерам несколько превышающую размеры рибосомы.

Уравнение реакции выглядит следующим образом: $\text{Пируват} + \text{NAD}^+ + \text{CoA-SH} \rightarrow \text{Ацетил-CoA} + \text{NADH} + \text{CO}_2$. В процессе реакции образуется одна молекула NADH.

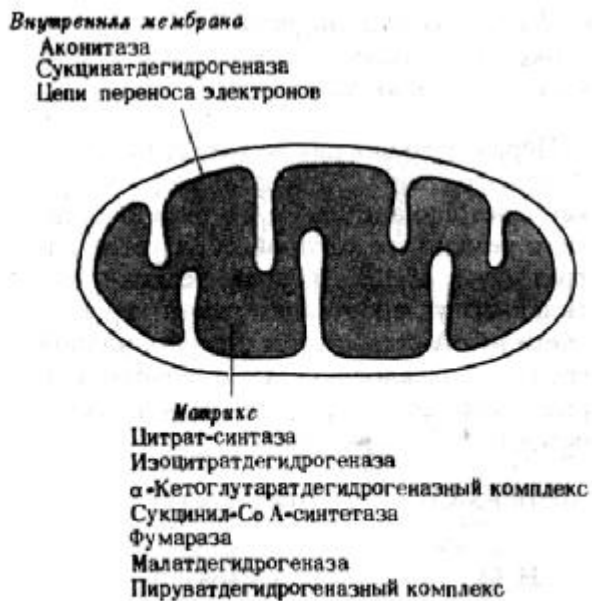


Рис. 16-11. Локализация ферментов цикла лимонной кислоты в митохондриях.

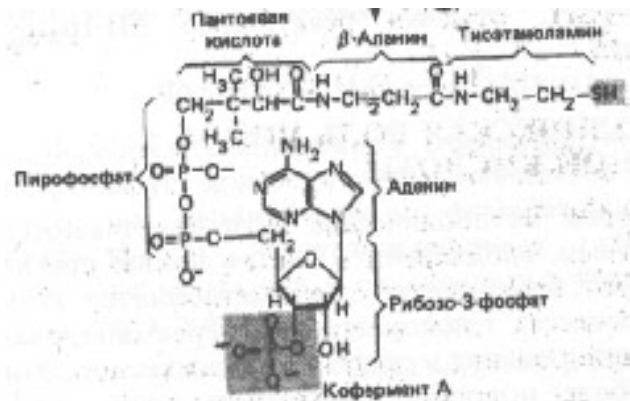


Рис. 16-12. Кофермент А

Первая реакция цикла, катализируемая **цитрат-синтазой**, представляет собой конденсацию **Ацетил-КоА** и **оксалоацетата** (щавелевоуксусной кислоты, ЩУК) с образованием **цитрата** (лимонной кислоты). На этой стадии одна молекула воды включается в цикл.

Фермент **аконитаза** катализирует обратимое превращение **цитрата** в **изоцитрат** через промежуточный продукт- **цис-аконитовую кислоту**.

Под действием **изоцитратдегидрогеназы** **изоцитрат** дегидрируется с образованием **α-кетоглутарата** и CO_2 . Существует два типа изоцитратдегидрогеназ. Один тип использует в качестве акцептора электронов NAD^+ , а другой NADP^+ . Как правило оба этих фермента (как NAD^+ так и NADP^+ зависимые) можно обнаружить в митохондриях, по всей вероятности они оба участвуют в цикле ди- и трикарбоновых кислот.

На следующей стадии цикла происходит окислительное декарбоксилирование **α-кетоглутарата** с образованием **сукцинил-СоА** и CO_2 , катализируемое **α-кетоглутаратдегидрогеназным комплексом**, схожим по строению с пируватдегидрогеназным комплексом.

Сукцинил-СоА является высокоэнергетическим соединением, поэтому гидролиз его тиоэфирной связи с образованием **сукцината** (янтарной кислоты) идет с большим выходом энергии. Эта энергия, дабы не растрачиваться зря, запасается клеткой в виде фосфатной связи гуанозинтрифосфата (GTP), образующегося (одновременно с гидролизом сукцинил-СоА) из GDP. Реакцию катализирует фермент сукцинил-СоА-синтетаза.

Дальнейшая реакция дегидрирования **сукцината** с образованием **фумарата** катализируется **сукцинатдегидрогеназой**, содержащей в качестве кофермента FAD.

Фумарат гидратируется (присоединяет воду) образуя **L-малат** (яблочную кислоту). Реакцию катализирует **фумарат-гидратаза** (=фумараза).

В последней реакции цикла происходит образование “затраченной” молекулы **оксалоацетата** путем дегидрирования **малата**. Эту реакцию ускоряет фермент **NAD-зависимая-L-малатдегидрогеназа**.

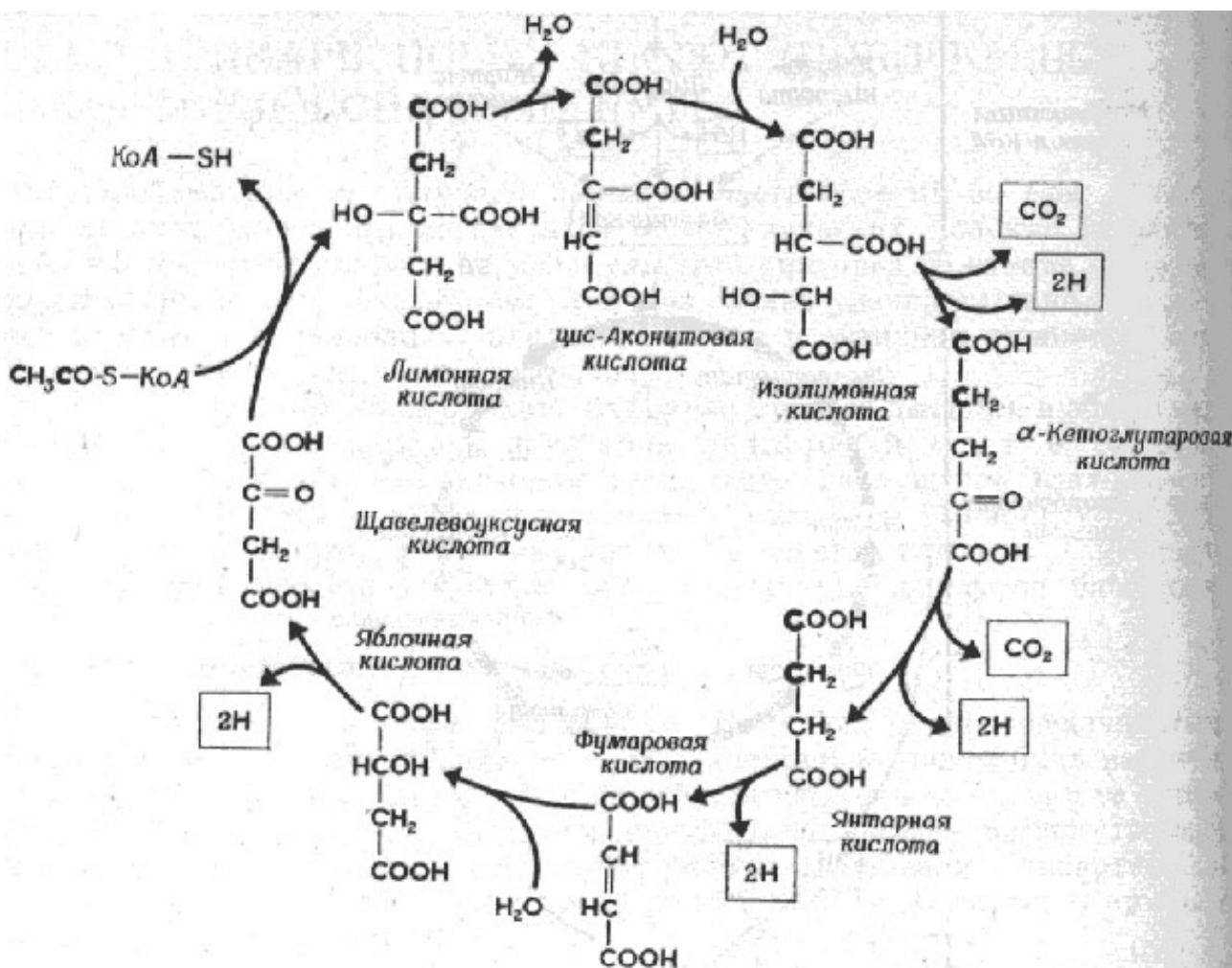


Рис. 16-13. Цикл ди- и трикарбоновых кислот.



Рис. 16-15. Глиоксилатный цикл.

Рис. 16-14. Регуляция цикла ди- и трикарбоновых кислот в животных клетках. АТФ, NADH, ацетил-СоА и Ca^{2+} контролируют скорость образования ацетил-СоА из пирувата. Скорость функционирования цикла в целом регулируется концентрацией оксалоацетата, а также активностью цитрат-синтазы и изоцитратдегидрогеназы.

ПЕНТОЗНЫЙ ЦИКЛ

Термин **пентозный цикл** (гексозомонофосфатный шунт) означает набор реакций, происходящих в цитоплазме, в результате которых клетки животных получают **NADPH**, необходимый для реакций восстановления, и рибозо-5-фосфат-основное промежуточное вещество в синтезе нуклеотидов и нуклеиновых кислот. Если таких превращений не происходит, промежуточные вещества пентозного цикла трансформируются в глицеральдегид-3-фосфат и фруктозо-6-фосфат и включаются таким образом в **гликолиз**. Реакции пентозного цикла можно подразделить на две группы:

1) реакции прямого окисления глюкозы, катализируемые глюкозо-6-фосфатдегидрогеназой, глюконолактоназой и фосфоглюконатдегидрогеназой;

2) взаимные превращения сахаров.

Наиболее часто эти реакции катализируются системой трансальдозаз и транскетолаз.

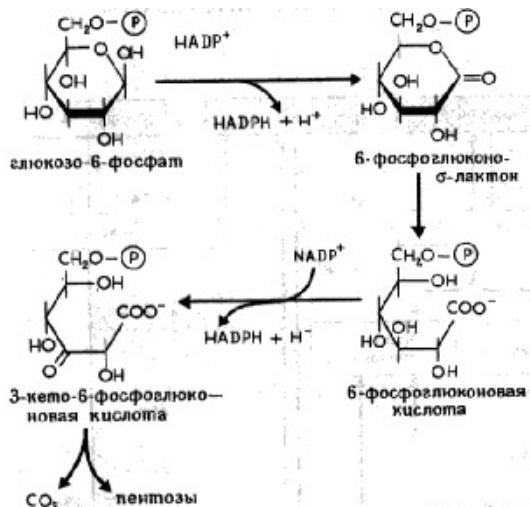


Рис. 16-16. Фосфоглюконатный (пентозофосфатный) цикл.

ВЗАИМНЫЕ ПРЕВРАЩЕНИЯ ФОСФОСАХАРОВ В ПЕНТОЗНОМ ЦИКЛЕ

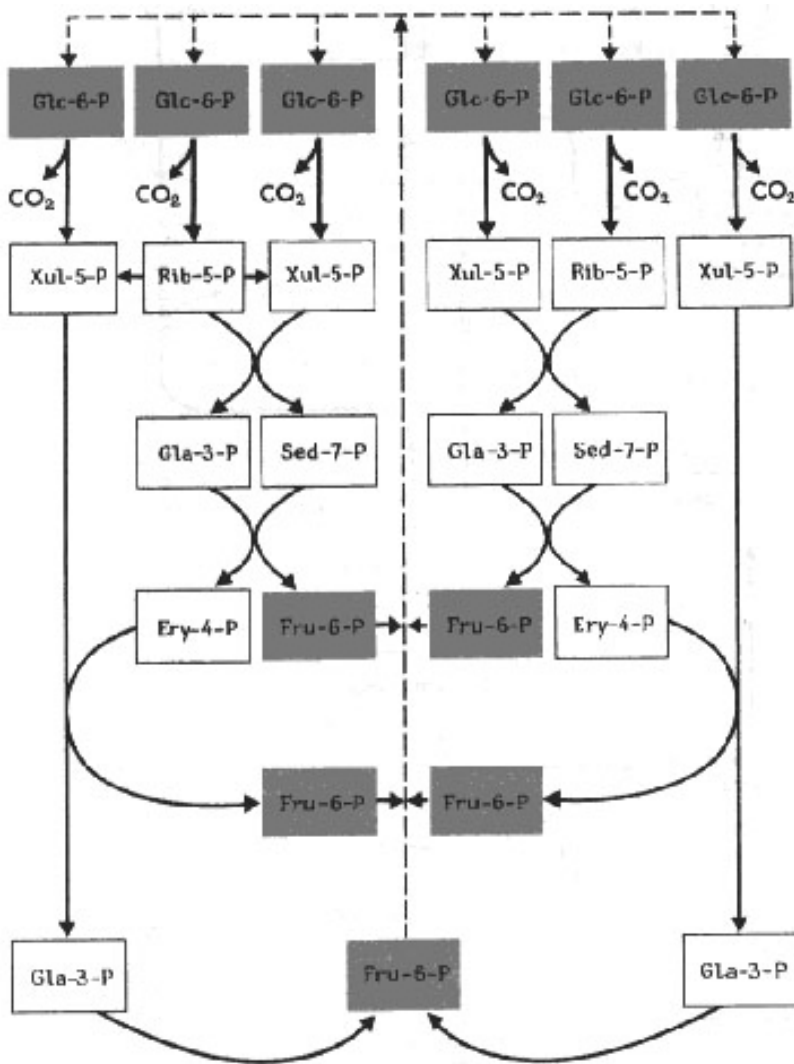


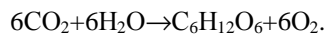
Рис. 16-17. Взаимные превращения фосфосахаров в пентозном цикле.

Glc-6-P-глюкозо-6-фосфат. **Xul-5-P**-ксилулозо-5-фосфат.
Rib-5-P-рибозо-5-фосфат. **Gla-3-P**-глицеральдегид-3-фосфат.
Sed-7-P-седогеупулозо-7-фосфат. **Ery-4-P**-эритрозо-4-фосфат.
Fru-6-P-фруктозо-6-фосфат.

Занятие 8. Углеводы.

Фотосинтез.

Фотосинтезом называют процесс синтеза органических соединений за счет энергии солнечного излучения. Суммарное уравнение фотосинтеза большинства растений имеет вид:



Однако общее уравнение фотосинтеза выглядит таким образом: $2\text{H}_2\text{D} + \text{CO}_2 \rightarrow (\text{CH}_2\text{O}) + \text{H}_2\text{O} + 2\text{D}$, где H_2D - донор водорода, а D - окисленная форма этого донора. Роль H_2D могут играть вода (H_2O), сероводород (H_2S), лактат ($\text{CH}_3\text{-HC(OH)-COOH}$), изопропанол ($\text{CH}_3\text{-HC(OH)-CH}_3$) и некоторые другие органические соединения.

Воду в качестве донора водорода для восстановления двуокиси углерода используют зеленые клетки высших растений и цианобактерии. Зеленые серные бактерии используют H_2S . Другие фотосинтезирующие бактерии используют в качестве доноров водорода органические соединения.

Фотосинтез зеленых растений протекает в две стадии: световую и темновую. Реакции темновой стадии могут идти как в темноте, так и на свету. В ходе световых реакций, протекающих только на свету, образуется NADPH и трансмембранный градиент протонов, используемый затем для синтеза АТФ (с помощью АТФ-синтетазы) и выделяется кислород. В темновых реакциях образовавшиеся на свету NADPH и АТФ используются для синтеза глюкозы из CO_2 и H_2O (последовательность этих реакций получила название цикла Кальвина-Бенсона).

Фотосинтез растений протекает в хлоропластах, внутри которых есть отделенные мембраной компартменты-тилакоиды (собранные в граны), на мембране которых и происходят световые реакции фотосинтеза. Тилакоиды окружены внутренней средой хлоропласта-stromой- в которой находится большинство ферментов, участвующих в темновых реакциях фотосинтеза.

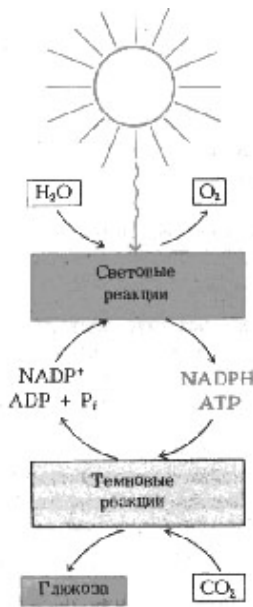


Рис. 23-5. В световых реакциях за счет солнечной энергии образуются высокоэнергетические соединения - NADPH и АТР. Эти соединения используются в темновых реакциях для восстановления CO_2 , приводящего к образованию глюкозы.

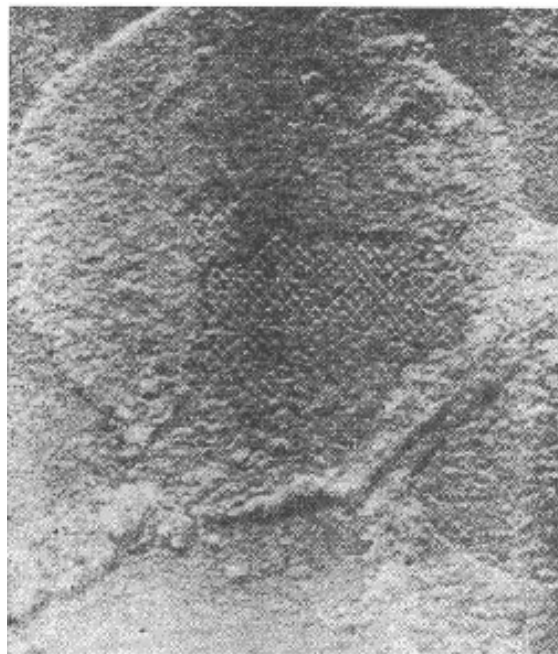


Рис. 74. Вид тилакоида под электронным микроскопом. (На части тилаксида видна упаковка в нем квантосом)

Реакции световой стадии фотосинтеза представляют собой цепь переноса электронов, сопряженного с переносом протонов через мембрану. Электроны переносятся от молекул воды (окисляющихся до O_2) к молекулам NADP^+ , которые при этом восстанавливаются до NADPH. Однако для осуществления такого переноса необходима энергия, поскольку окислительно-восстановительный потенциал пары $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$ (-0.32 В) меньше окислительно-восстановительного потенциала пары $\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$ (+0.82 В). Эта энергия приходит с квантами света, передающими свою энергию различным светопоглощающим пигментам (хлорофиллам, каротиноидам, фикобилинам).

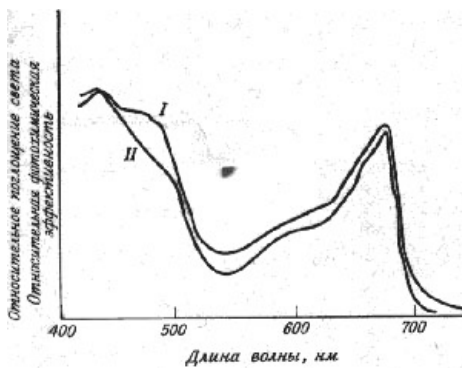


Рис 24. Спектры поглощения фотосистем I и II.

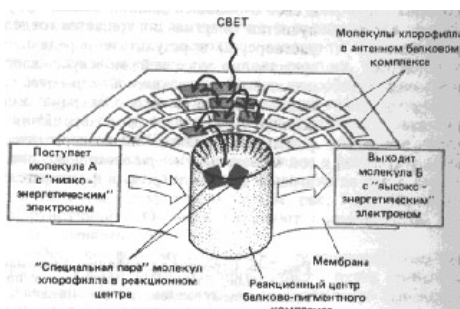


Рис 25. Структура антенного комплекса.

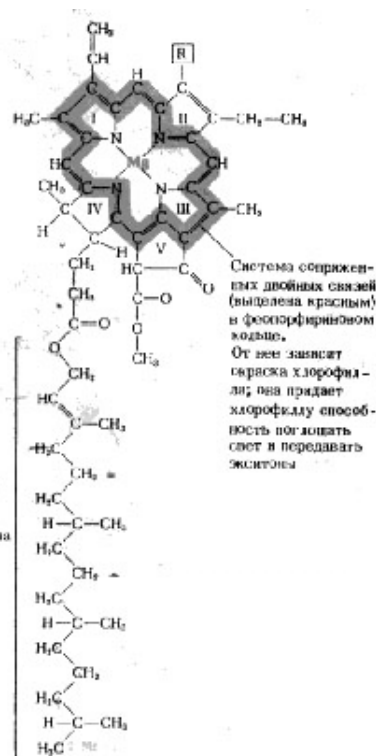


Рис 26. Строение молекулы хлорофилла.

На мембране тилакоида расположены два типа фотосистем, фотосистема I и фотосистема II. Каждая из фотосистем состоит из антенного комплекса и реакционного центра с системой переносчиков электронов. Энергия квантов света переводит электроны светопоглощающих пигментов антенного комплекса в возбужденное состояние. Эта энергия может передаваться в резонансной форме от одной молекулы пигмента к другой, пока не достигнет реакционного центра. Молекула хлорофилла реакционного центра способна отдавать высокоэнергетический электрон на молекулу следующего переносчика.

Две фотосистемы взаимосвязаны, поскольку фотосистема II, получающая электроны от воды, передает их фотосистеме I, которая, в свою очередь, передает их NADP^+ . При переносе электронов от фотосистемы I к фотосистеме II происходит одновременный транспорт протонов через мембрану (в комплексе цитохромов b_6-f).

Когда клетке не требуется NADPH, но нужен АТФ, фотосистема I может работать отдельно в циклическом режиме, осуществляя только перенос протонов без синтеза NADPH. Такой путь электронов называют циклическим фосфорилированием.

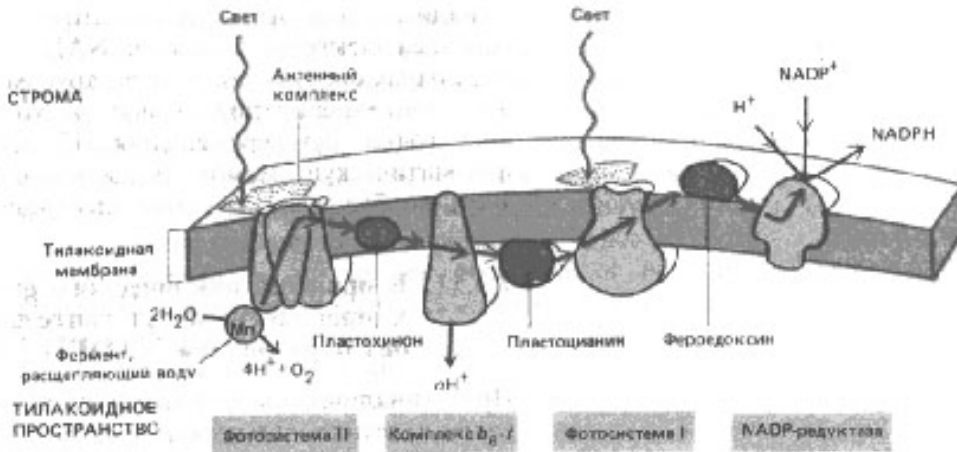


Рис 27. Схема электронтранспортной цепи мембраны тилакоида.

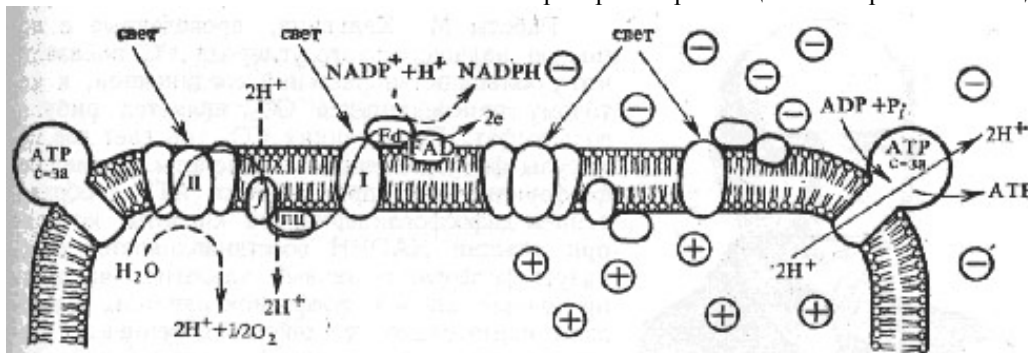


Рис. 77. Схема структуры мембраны тилакоида:
 АТФ-с-за — АТФ-синтаза; I — фотосистема I; II — фотосистема II; ПХ — пластохинон; f — цитохром f; ПЦ — пластоцианин; Fd — ферредоксин; ⊕ — положительные заряды; ⊖ — отрицательные заряды

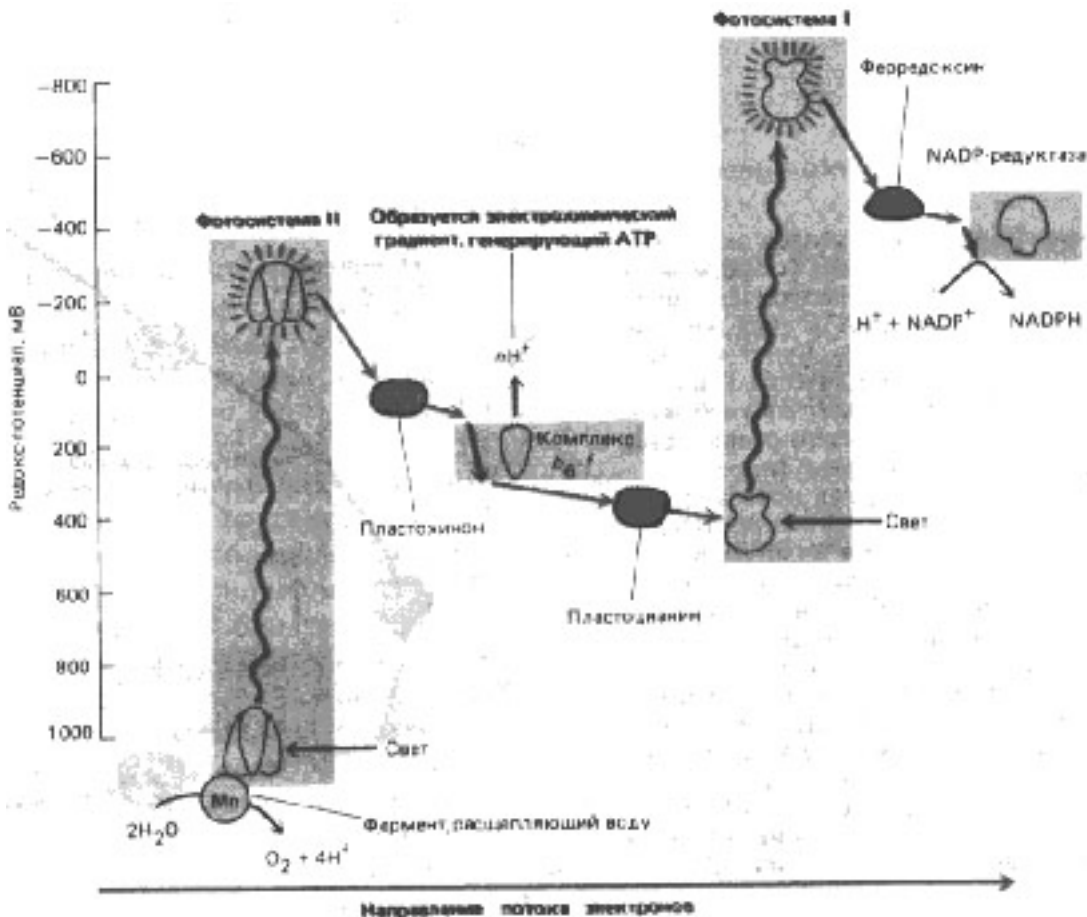


Рис 78. Окислительно-восстановительные потенциалы для элементов электронтранспортной цепи мембраны тилакоида.

Занятие 9. Липиды.

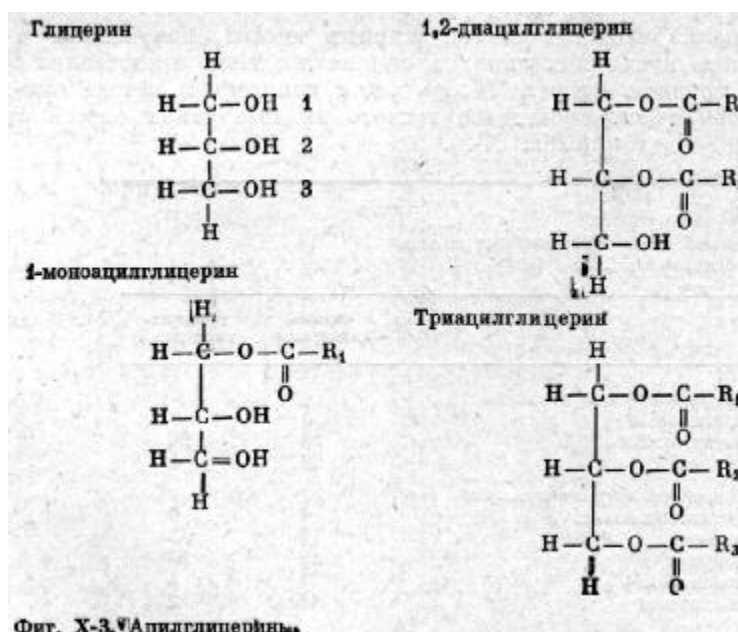
Липидами называют нерастворимые в воде, но растворимые в неполярных растворителях (ацетон, эфир, хлороформ, бензол) органические вещества, обладающие рядом общих физико-химических свойств. В организме липиды выполняют **четыре** основные функции: **структурная, запасная, транспортная и защитная**. Все липиды можно разделить на несколько основных классов: **нейтральные жиры (ацилглицерины), фосфолипиды, сфинголипиды, воска, стероиды, терпены, жирорастворимые витамины и простагландины**.

Большинство молекул липидов состоят из нескольких компонентов. Наиболее часто встречающимся компонентом липидных молекул являются жирные кислоты. **Жирные кислоты** представляют собой длинные



углеводородные цепи с концевой карбоксильной группой. Углеводородная цепь жирных кислот содержит, как правило, четное число атомов углерода, от 14 до 22 и может содержать одну или несколько двойных связей (которые, однако, никогда не бывают сопряжены).

Нейтральными жирами (ацилглицеринами) называют глицериновые эфиры жирных кислот. Они составляют **главный компонент жиров**, запасаемых в растительных и животных клетках. Среди ацилглицеринов выделяют моно-, ди-, и триацилглицерины.



Фосфолипиды являются диацилглицеринами, связанные эфирной связью с фосфорной кислотой по третьей гидроксильной группе. Фосфатная группа далее может быть этерифицирована различными соединениями, содержащими в своем составе OH- группу (холин, серин, инозит и др.).

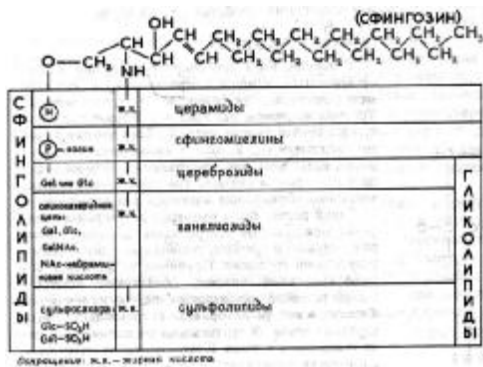


Рис. 3 Структура сфинголипидов.

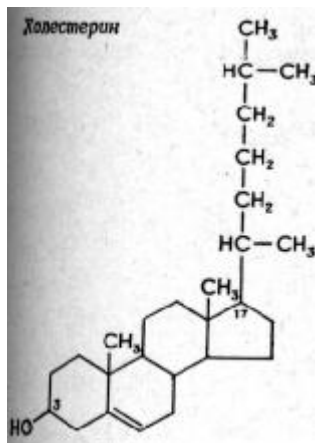
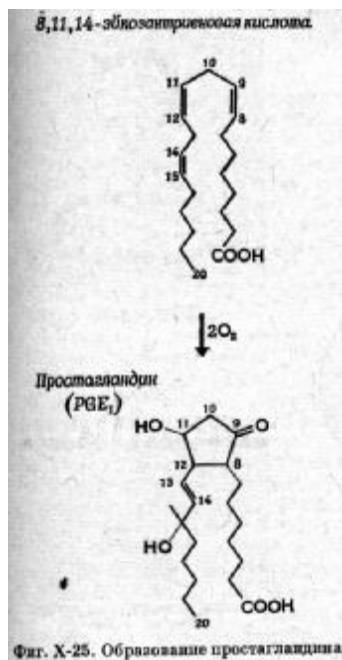
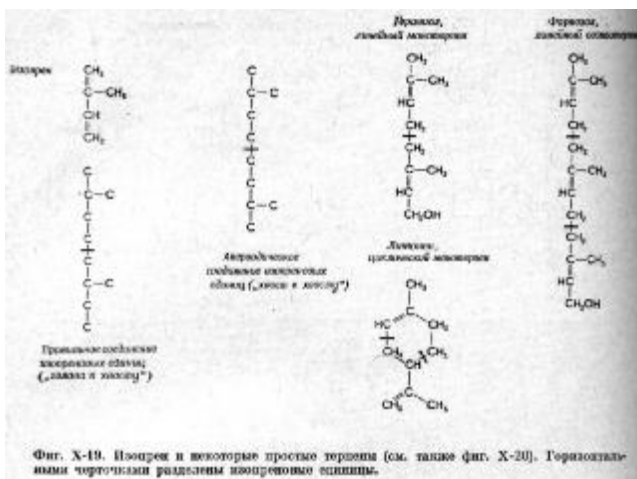


Рис. 4 Структура холестерина.

Стероиды являются производными пергидроциклопентанфенантренового ядра. Среди важных природных стероидов можно назвать половые гормоны, гормоны надпочечников, некоторые яды. Наиболее распространенными стероидами являются стеринны, а среди стериннов- холестерин.

Молекулы **терпенов** построены путем объединения нескольких молекул пятиуглеродного углеводорода изопрена. Молекулы терпенов могут иметь линейное или циклическое строение. Большое количество терпенов обнаружено в душистых растительных маслах. Так, например, главным компонентом гераниевого масла является терпен гераниол. Другим видом терпенов являются каротиноиды- пигменты растений. Природный каучук является политерпеном.



Простагландины образуются из полиненасыщенных жирных кислот в результате окислительного замыкания циклопентанового или циклопентенового кольца в середине цепи жирной кислоты. Впервые простагландины обнаружены в предстательной железе млекопитающих. По видимому они служат модуляторами гормональной активности.

Занятие 10. Липиды, окисление.

Триацилглицеролы являются наиболее калорийным (свыше 9 ккал/г) из питательных веществ, потребляемых животными. Около 95% всей биологически доступной энергии в молекуле триацилглицерина заключают в себе остатки трех жирных кислот и только 5% приходится на долю остатка глицерола.

В крови позвоночных содержатся значительные количества триацилглицеринов и фосфоглицеридов, а также очень небольшие количества жирных кислот (связанных нековалентно с одним из белков крови- сывороточным альбумином). В качестве топлива могут использоваться только свободные (неэтерифицированные) жирные кислоты. Они образуются при действии ферментов- **липаз**- на триацилглицерины. Липазы расщепляют триацилглицерины на глицерин и свободные жирные кислоты. Фосфоглицериды мембран разлагаются с образованием жирных кислот под действием фермента- **фосфолипазы**.

Окисление жирных кислот происходит в митохондриях. В цитозоле жирные кислоты взаимодействуют с коферментом А и образуют ацил-СоА (под действием **ацил-СоА-синтетаз** и затратой АТФ). На наружной поверхности внутренней мембраны митохондрий находится фермент- **карнитин-ацилтрансфераза-I**. Этот фермент катализирует реакцию переноса молекулы жирной кислоты с кофермента А на карнитин с образованием сложных эфиров жирных

кислот и карнитина. Такие эфиры способны проникать сквозь внутреннюю мембрану митохондрий в митохондриальный матрикс. В митохондрии остаток жирной кислоты (ацильная группа) переносится от карнитина на внутримитохондриальный кофермент А (при участии фермента **карнитин-ацилтрансферазы-II**).

Окисление жирных кислот в митохондриях состоит из двух стадий: расщепление ацил-СоА на молекулы ацетил-СоА и распад ацетил-СоА в цикле Кребса.

Распад молекулы насыщенной жирной кислоты на двухуглеродные фрагменты происходит в четыре ферментативные реакции (образующие цикл). Первая реакция- дегидрирование ацил-СоА (под действием **ацил-СоА-дегидрогеназы**) с образованием молекулы *транс*- Δ^2 -еноил-СоА. За ней следует реакция гидратации, катализируемая ферментом **еноил-СоА-гидратазой**. Образующийся при этом β -гидроксиацил-СоА далее снова дегидрируется (фермент ***\beta*-гидроксиацил-СоА-дегидрогеназа**) давая 3-кетоацил-СоА. На четвертом этапе происходит тиолитическое расщепление молекулы 3-кетоацил-СоА на молекулу ацетил-СоА и молекулу ацил-СоА, укороченную на два атома углерода. Реакцию тиолитического расщепления катализирует фермент **ацетил-СоА-ацетилтрансфераза** (тиолаза).

Приведенные выше четыре реакции составляют один оборот цикла окисления жирных кислот. По завершении одного оборота цепь жирных кислот укорачивается на два атома углерода.

При протекании цикла окисления образуются молекулы $FADH_2$ и $NADH$. Молекула $FADH_2$ отдает одну пару электронов в дыхательную цепь на уровне убихинона. При переносе этой пары электронов на кислород и сопряженном процессе окислительного фосфорилирования образуются две молекулы АТФ. Каждая молекула $NADH$ отдает пару электронов $NADH$ -дегидрогеназе, что в последующем дает еще три молекулы АТФ.

Ацетил-СоА, образующийся при окислении жирных кислот окисляется далее до CO_2 и H_2O в цикле Кребса (цикле лимонной кислоты).

Окисление ненасыщенных жирных кислот (жирных кислот с двойными связями в молекуле) происходит в основном тем же образом, что и насыщенных. Однако, большинство двойных связей в ненасыщенных жирных кислотах имеет *цис*-конфигурацию, в то время как промежуточный продукт распада жирных кислот- *транс*- Δ^2 -еноил-СоА имеет *транс*-конфигурацию. Для превращения *цис*- Δ^3 -еноил-СоА в *транс*- Δ^2 -еноил-СоА существует фермент- **еноил-СоА-изомераза**. Если при распаде ненасыщенной жирной кислоты на некоторой стадии образуется *цис*- Δ^3 -еноил-СоА, то еноил-СоА-изомераза превращает его в *транс*- Δ^2 -еноил-СоА и процесс идет дальше как обычно.

В случае окисления ненасыщенных жирных кислот с двумя двойными связями на одном из этапов окисления как правило образуется *цис*- Δ^2 -еноил-СоА. На него еноил-СоА-гидратаза может действовать, но продуктом реакции оказывается не **D-3-гидроксиацил-СоА**, а его стереоизомер **L-3-гидроксиацил-СоА**. Для превращения **L-3-гидроксиацил-СоА** в **D-3-гидроксиацил-СоА** существует фермент **3-гидроксиацил-СоА-эпимераза**.

Если окисляется жирная кислота с четным числом атомов углерода, то на последнем обороте цикла образуются две молекулы ацетил-СоА. Однако, если жирная кислота состоит из нечетного числа атомов углерода (что встречается довольно редко), то на последнем обороте цикла образуются ацетил-СоА и пропионил-СоА. Пропионил-СоА под действием фермента **пропионил-СоА-карбоксилазы** карбоксилируется, давая D-метилмалонил-СоА. D-метилмалонил-СоА эпимеризуется под действием **метилмалонилэпимеразы** с образованием L-метилмалонил-СоА. Далее фермент **метилмалонил-СоА-мутаза** катализирует превращение L-метилмалонил-СоА в сукцинил-СоА, который через цикл лимонной кислоты превращается в оксалоацетат. Регуляция окисления жирных кислот идет за счет изменения активности фермента- **карнитин-ацилтрансферазы I**. Карнитин-ацилтрансфераза- аллостерический фермент. Он специфически ингибируется малонил-СоА (промежуточным продуктом биосинтеза жирных кислот).

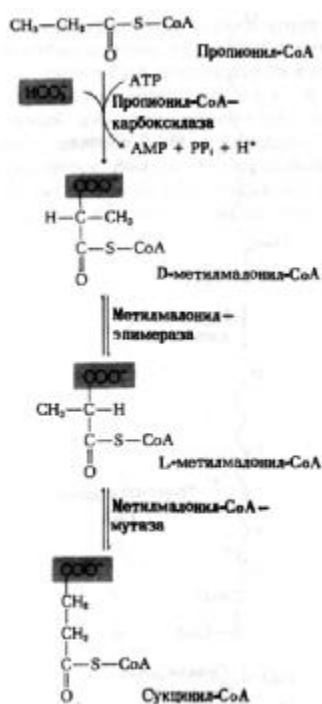


Рис. 18-11. Карбоксилирование пропионил-СоА с образованием D-метилмалонил-СоА и превращение последнего в сукцинил-СоА.

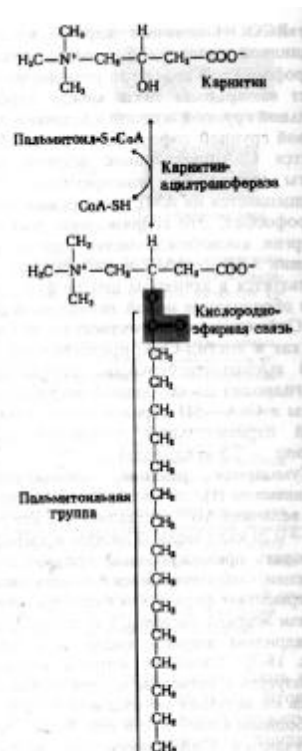


Рис. 18-4. Обратимая реакция, катализируемая карнитин-ацилтрансферазой.

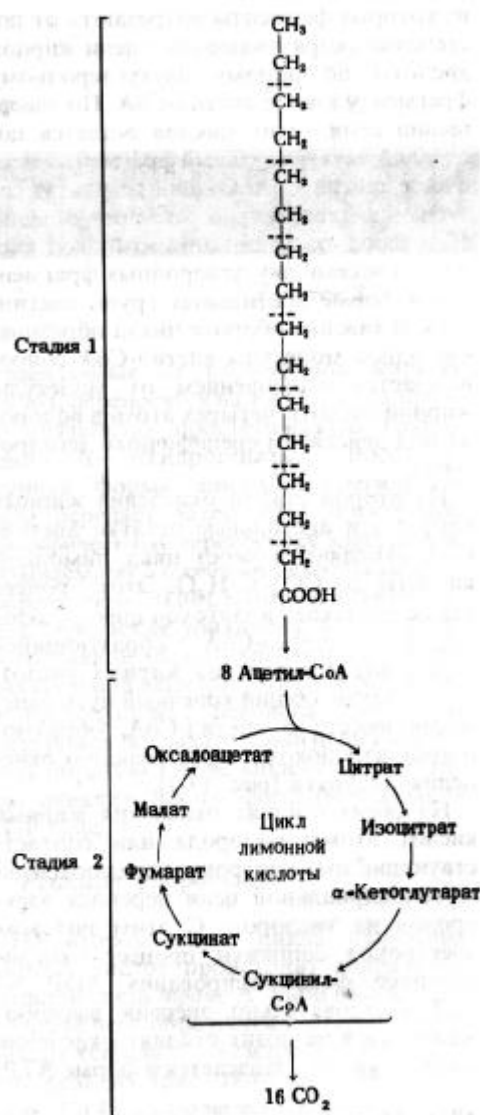


Рис. 18-5. Две стадии окисления жирных кислот. Стадия 1: окисление жирной кислоты с длинной цепью, приводящее к образованию ацетильных групп в форме ацетил-СоА. Стадия 2: окисление ацетильных групп до CO₂.

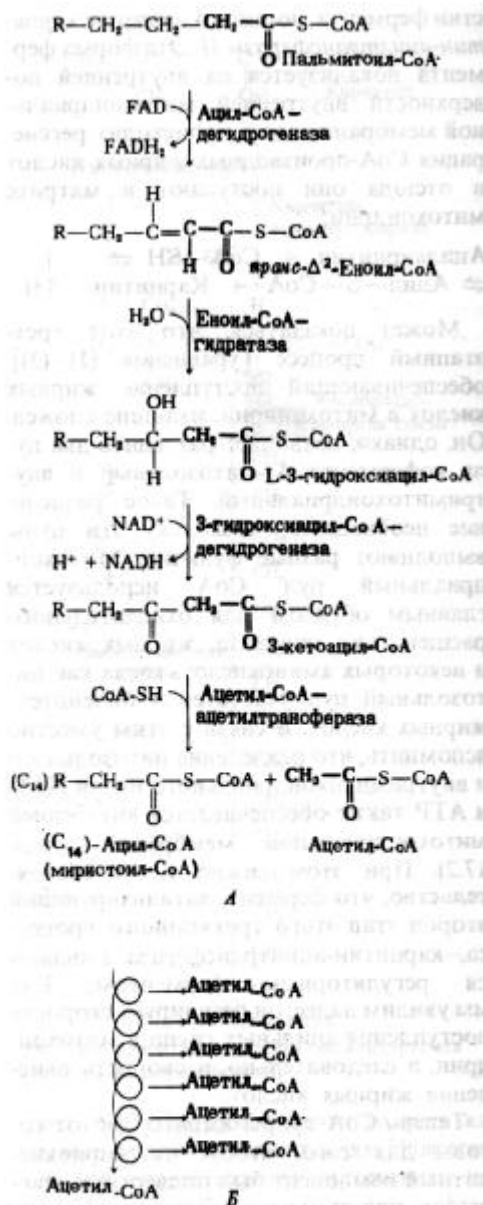
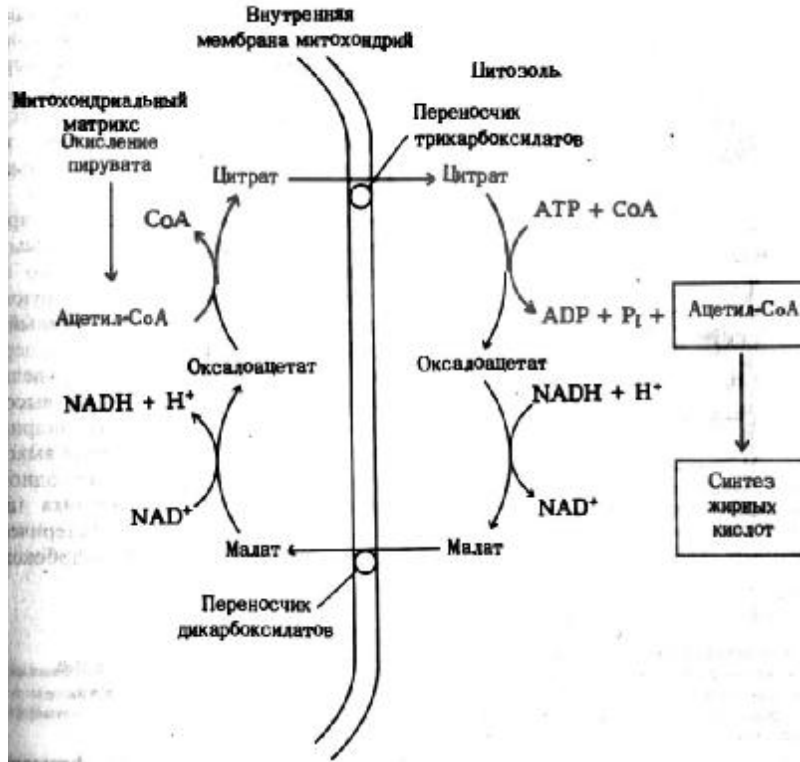


Рис. 18-6. Цикл окисления жирных кислот. А. В первом обороте цикла от карбоксильного конца пальмитиновой кислоты (C₁₆) вступающей в цикл в форме пальмитонил-СоА, отщепляется в виде ацетил-СоА одна ацетильная группа (выделена красным). Б. Шесть следующих оборотов цикла дают еще семь молекул ацетил-СоА (седьмую молекулу образуют два последних атома углерода, оставшиеся от 16-углеродной цепи пальмитиновой кислоты).

Занятие 11. Липиды, биосинтез.

Синтез жирных кислот.

Рассмотрим сначала процесс синтеза **жирных кислот**, как одного из основных компонентов омыляемых липидов (ацилглицеринов, фосфолипидов, сфинголипидов и восков). Синтез жирных кислот протекает в цитоплазме. Ферменты, участвующие в процессе синтеза образуют большой полиферментный комплекс, работающий по принципу “циклического конвейера”. “Проехав” по “конвейеру” один круг, молекула жирной кислоты удлиняется на 2 атома углерода.



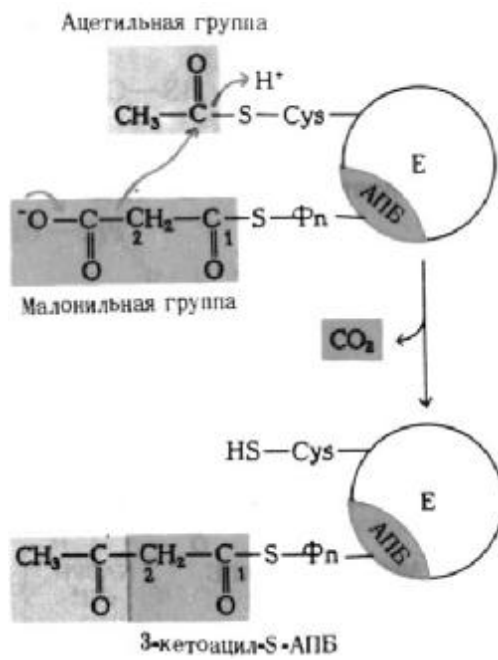
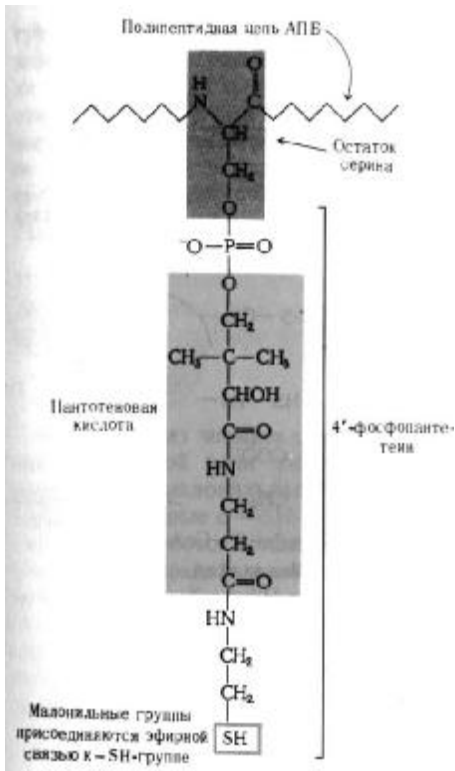
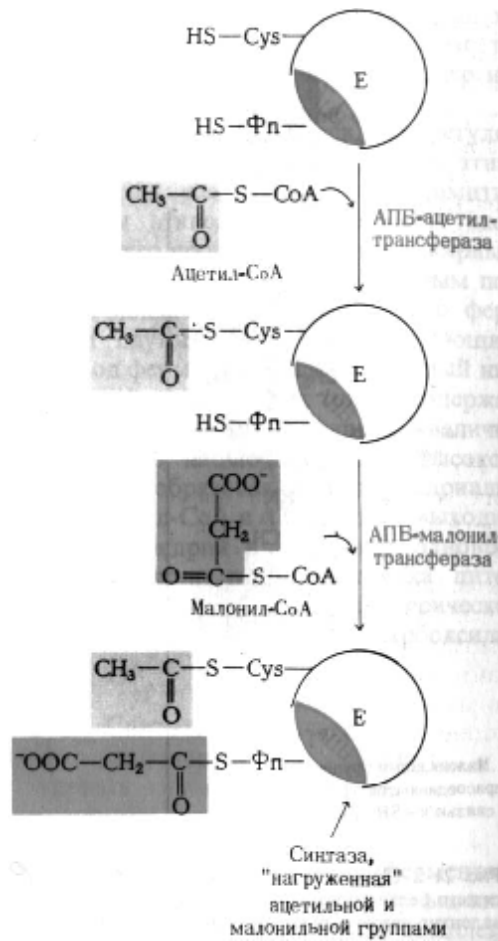
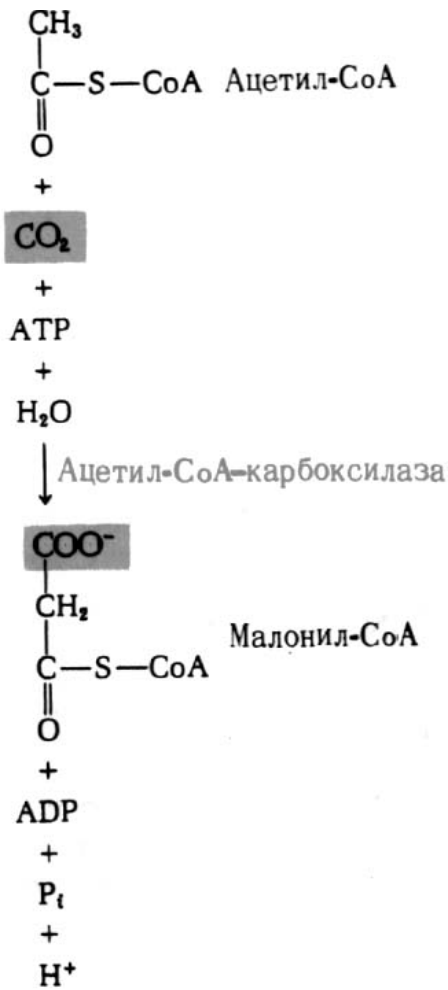
Транспорт Ацетил-СоА из митохондрий в цитоплазму.

Исходным веществом для синтеза жирных кислот является Ацетил-СоА. Он реагирует с активированной формой CO_2 (в виде карбоксибиотина) с образованием Малонил-СоА (реакцию катализирует фермент **Ацетил-СоА-карбоксилаза**). Энергетически невыгодная реакция присоединения CO_2 к Ацетил-СоА идет с затратой молекулы АТФ.

Синтез жирной кислоты начинается с переноса ацетильной группы с одной молекулы Ацетил-СоА на цистеин белка **3-кетоацил-АПБ-синтазы** (катализирует реакцию **АПБ-трансфераза**). Параллельно этой реакции происходит перенос малонильной группы Малонил-СоА на **ацилпереносящий белок** (АПБ) (катализирует реакцию **АПБ-малонилтрансфераза**). 3-кетоацил-АПБ-синтаза и ацилпереносящий белок находятся в комплексе друг с другом и с остальными ферментами, участвующими в процессе синтеза жирной кислоты. После присоединения ацетильной и малонильной групп “конвейер” готов к работе.

Работа “конвейера” включает 4 стадии: конденсацию, 3-кетовосстановление, дегидратацию и насыщение. Реакцию конденсации катализирует **3-кетоацил-АПБ-синтаза**. При конденсации происходит перенос ацетильной группы на малонильную группу с образованием ацетоацетильной группы и выделением молекулы CO_2 . Молекула CO_2 , выщепляющаяся при конденсации содержит тот же самый атом углерода, который был присоединен к молекуле Ацетил-СоА при синтезе Малонил-СоА. Таким образом, при синтезе жирных кислот не происходит реального включения CO_2 в жирные кислоты, выделяется столько же (и того же) оксида углерода, сколько и поглощается. CO_2 служит лишь катализатором процесса.

Два углерода ацетильной группы становятся концевыми (наиболее удаленными от будущей карбоксильной группы и последними по номеру) атомами углерода в строящейся молекуле жирной кислоты.

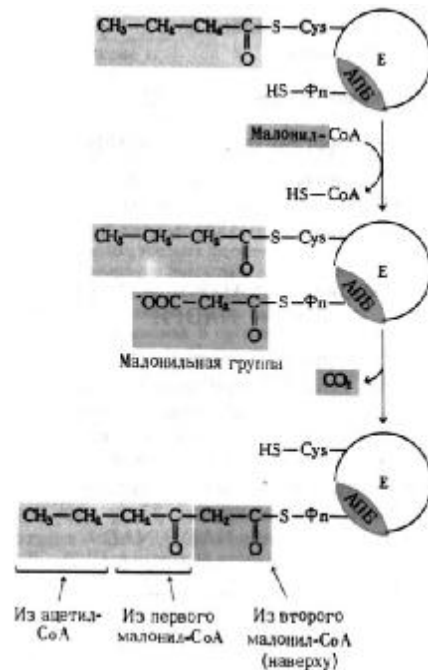
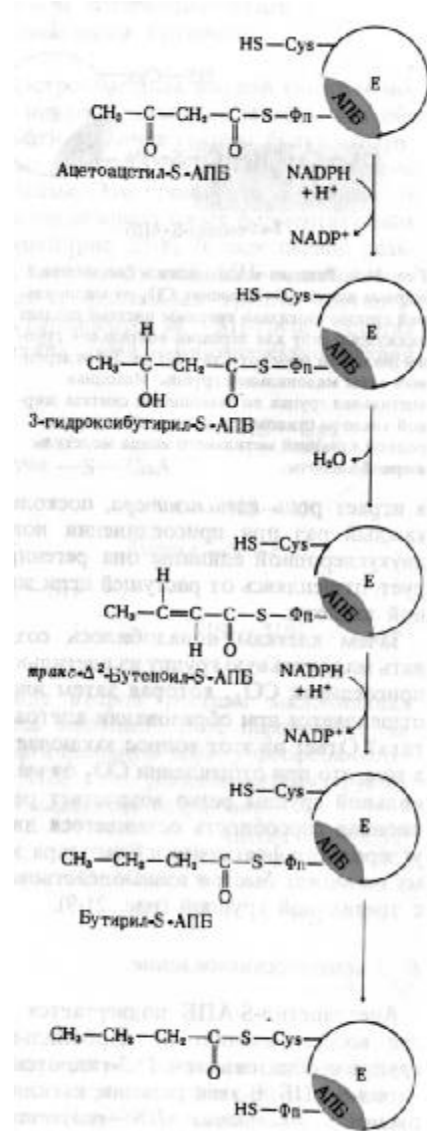


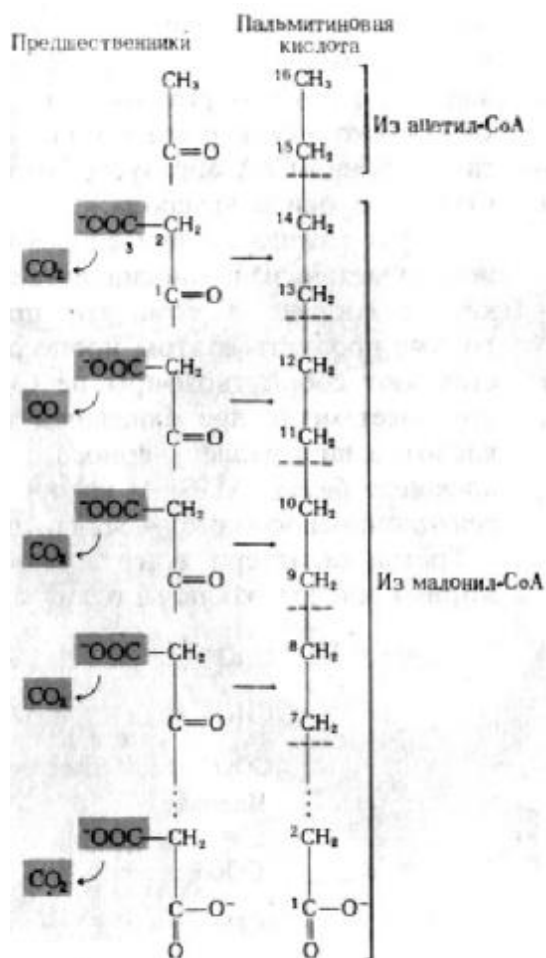
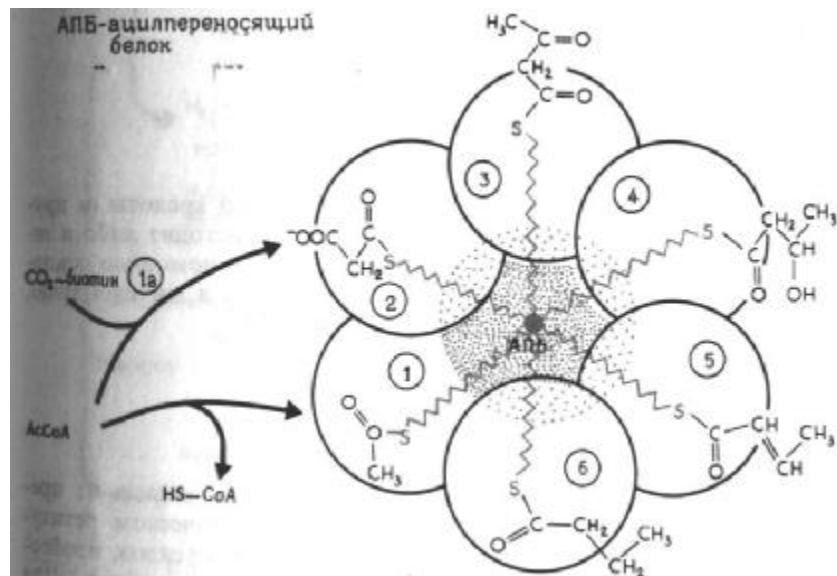
Простетическая группа, через которую ацильные радикалы связаны с АПБ.

В последующих трех реакциях происходит полное восстановление карбонильной группы до метиленовой. Следующая за реакцией конденсации реакция 3-кетовосстановления катализируется ферментом 3-кетоацил-АПБ-редуктазой и приводит к восстановлению карбонильной группы до гидроксильной (за счет окисления молекулы NADPH до NADP⁺).

В результате последующей дегидратации (катализируемой 3-гидроксиацил-АПБ-дегидратазой) происходит отщепление молекулы воды с образованием двойной связи (между 2 и 3 атомами углерода). Под действием еноил-АПБ-редуктазы эта двойная связь насыщается (вновь с затратой молекулы NADPH).

Следует напомнить, что во всех приведенных выше реакциях “конвейера” растущая цепь жирной кислоты участвует в комплексе с ацилпереносящим белком (АПБ). После полного восстановления карбонильной группы, растущая цепь (представляющая собой ацильный радикал с четным числом атомов углерода) переносится с АПБ на цистеин 3-кетоацил-АПБ-синтазы. Освободившееся таким образом место на АПБ занимает новая малонильная группа, перенесенная с очередной молекулы Малонил-СоА под действием АПБ-малонилтрансферазы. “Конвейер” снова готов к работе.





После семи таких циклов образуется конечный продукт - пальмитоил-S-АПБ. Когда растущая цепь достигает длины 16 атомов углерода, специальный гидролитический фермент отщепляет молекулу пальмитиновой кислоты от молекулы АПБ.

Необходимый для восстановительных реакций, протекающих в ходе биосинтеза жирной кислоты, NADPH, образуется в организме животных из двух источников. В печени NADPH образуется в реакциях пентозофосфатного пути под действием *глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы*. В жировых клетках NADPH образуется в результате действия *малат-дегидрогеназы*.

В животных клетках пальмитиновая кислота, образующаяся в синтазном цикле жирных кислот, служит предшественником других длинноцепочечных жирных кислот. Образование двойных связей в молекулах жирных кислот происходит в результате реакций окисления, катализируемых *ацил-CoA-оксигеназой*.

Млекопитающие не могут синтезировать жирные кислоты с дополнительной двойной связью между Δ⁹-двойной связью и метильным концом молекулы (например *линолевую* и *α-линоленовую* кислоты). Такие кислоты называют незаменимыми жирными кислотами, они должны содержаться в пище.



Рис. 21-12. Пути синтеза жирных кислот. Пальмитиновая кислота служит предшественником стеариновой кислоты и других длинноцепочечных насыщенных жирных кислот, а также мононенасыщенных кислот – пальмитолеиновой и олеиновой. В организме животных олеиновая кислота не может превращаться в линолевую, поэтому линолевая кислота является для них незаменимой жирной кислотой, которая обязательно должна содержаться в пище. На рисунке показано превращение линолевой кислоты в другие полиненасыщенные жирные кислоты и простагландины. В обозначениях ненасыщенных жирных кислот указывают число углеродных атомов, а также число и положение двойных связей. Так, линолевая кислота ($C_{18}\Delta^{9,12}$) содержит 18 атомов углерода и две двойные связи: одну между 9-м и 10-м атомами углерода и одну между 12-м и 13-м.

Синтез триацилглицеринов и фосфолипидов.

Общими предшественниками триацилглицеринов и фосфолипидов являются *CoA-эфиры жирных кислот* и *глицерол-3-фосфат*. Глицерол-3-фосфат может образовываться либо из *диоксиацетонфосфата* (под действием *глицеролфосфатдегидрогеназы*), либо из глицерола (под действием *глицеролкиназы*). CoA-производные жирных кислот образуются из жирных кислот и кофермента-A при помощи *ацил-CoA-синтетаз*.

Сначала происходит ацилирование двух свободных гидроксильных групп глицеролфосфата с образованием *фосфатидной кислоты* (реакцию катализирует *глицеролфосфатацилтрансфераза*). Далее, в случае синтеза триацилглицеринов, от фосфатидной кислоты отщепляется фосфатная группа (фермент *фосфатидат-фосфатаза*), а образующийся при этом *диацилглицерол* превращается в *триацилглицерол* за счет ацилирования третьей молекулой ацил-CoA.

Фосфатидилхолин и фосфатидилэтаноламин образуются из диацилглицерина путем присоединения "голов", предварительно активированных тринуклеотидами (присоединяются ЦДФ-холин или ЦДФ-этаноламин).

Синтез липидов, состоящих из изопреновых единиц.

Липиды, содержащие в своем составе изопреновые единицы, образуются путем конденсации нескольких молекул изопентенилпирофосфата, образующегося, в свою очередь, из Ацетил-CoA.



Занятие 12. Аминокислоты.

Строение аминокислот.

Аминокислоты- химические соединения, содержащие в своем составе одновременно карбоксильную группу и аминогруппу. Существуют α -, β -, γ - и т.д. аминокислоты (в зависимости от расположения аминогруппы в молекуле относительно карбоксильной группы).

α -аминокислоты- строительные блоки всех существующих в природе белков. В белках наиболее часто встречаются **20 аминокислот**. Все аминокислоты, входящие в состав белков относятся к L-ряду оптических изомеров (за исключением глицина, который оптически не активен).

Наиболее рациональный способ классификации α -аминокислот основан на различиях в полярности радикалов (строением которых они и отличаются). Радикалы подразделяются на 4 основных класса:

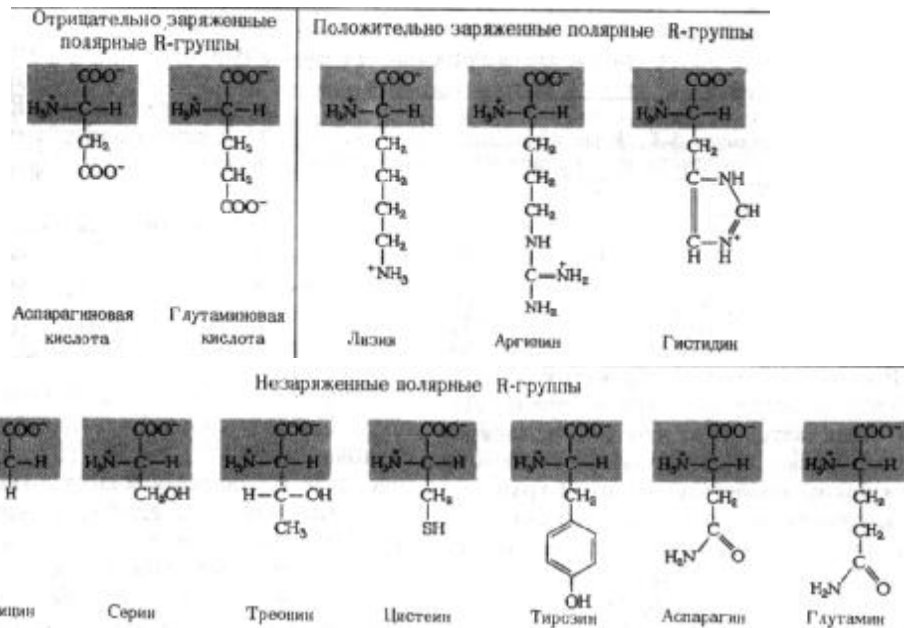
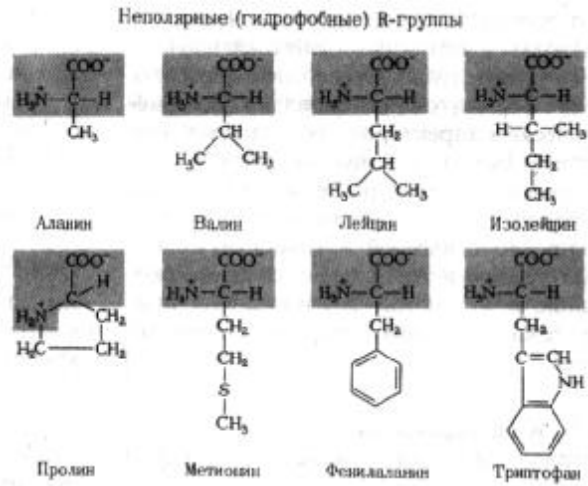
1. неполярные (при $pH=7.0$)
2. полярные, но незаряженные (при $pH=7.0$)
3. положительно заряженные (при $pH=7.0$)
4. отрицательно заряженные (при $pH=7.0$)

К классу неполярных неполярных принадлежат 8 аминокислот: аланин, лейцин, изолейцин, валин, пролин, фенилаланин, триптофан и метионин. Все они плохо растворимы в воде (полярных растворителях).

Класс незаряженных полярных аминокислот включает в себя серин, треонин, тирозин, аспарагин, глутамин, глицин и цистеин. Эти аминокислоты лучше растворимы в воде, чем неполярные аминокислоты.

Всего две аминокислоты составляют класс отрицательно заряженных аминокислот: аспарагиновая и глутаминовая кислоты.

К положительно заряженным аминокислотам относятся: лизин, аргинин и гистидин.



Кроме 20 наиболее часто встречаемых в белках аминокислот существуют аминокислоты, встречающиеся гораздо реже, иногда присущие только какому-то определенному типу белков. Так аминокислота 4-оксипролин встречается в основном в белке коллагене. В коллагене обнаружена редкая аминокислота- оксилизин. Из белка эластина были выделены аминокислоты десмозин и изодесмозин.

Помимо аминокислот, входящих в состав белков, известно еще свыше 150 различных аминокислот, встречающихся в свободном или связанном состоянии, но не встречающихся в белках. Сюда входят не только α -аминокислоты, но также и β -, γ -, δ -аминокислоты. Некоторые из них могут находиться в D-конформации. Примерами могут служить β -аланин, γ -аминомасляная кислота, D-глутаминовая кислота.

В водных растворах при нейтральных значениях pH аминокислоты существуют в виде цвиттерионов (когда NH_2 группа ионизирована до NH_3^+ , а $-\text{COOH}$ выглядит как $-\text{COO}^-$). Значение pH, при котором молекула аминокислоты не несет суммарного электрического заряда называют изоэлектрической точкой аминокислоты (обозначают pI). Если pI аминокислоты меньше pH, в котором она находится, то ее заряд будет отрицательным (и наоборот). Например, pI аланина равна 6,02. Если аланин поместить в кислый раствор (например pH=3,0), то суммарный заряд молекулы будет положительным (за счет NH_3^+).

Биосинтез аминокислот.

Разные виды живых организмов различаются по своей способности синтезировать 20 аминокислот, встречающихся в белках. Человек и белая крыса могут синтезировать только 10 из 20 аминокислот (это глутамат, глутамин, аспаргат, аспарагин, пролин, аланин, тирозин, цистеин, серин и глицин). Другие 10 аминокислот должны поступать в организм с пищей (такие аминокислоты называют незаменимыми). Высшие растения могут синтезировать все 20 аминокислот.

Рассмотрим сначала синтез заменимых аминокислот. В большинстве случаев предшественником углеродного скелета заменимой аминокислоты служит соответствующая α -кетокислота (которая происходит обычно из промежуточных продуктов цикла Кребса). Аминогруппы поступают от глутамата в реакциях трансаминирования.

К промежуточным продуктам цикла Кребса, являющимися предшественниками аминокислот относятся: α -кетоглутарат (дает глутамат, глутамин, пролин, аргинин, гистидин), пируват (дает аланин, валин, лизин и лейцин) и оксалоацетат (дает аспаргат, аспарагин, треонин, метионин и изолейцин). Фенилаланин, тирозин и триптофан синтезируются из фосфоенолпирувата, конденсирующегося с эритрозо-4-фосфатом. Серин, глицин и цистеин образуются из 3-фосфоглицерата.

Таблица 22.1. Заменимые и незаменимые аминокислоты для человека и белой крысы

Заменимые	Незаменимые
Глутамат	Изолейцин
Глутамин	Лейцин
Пролин	Лизин
Аспаргат	Метионин
Аспарагин	Фенилаланин
Аланин	Треонин
Глицин	Триптофан
Серин	Валин
Тирозин	Аргинин ¹⁾
Цистеин	Гистидин

¹⁾ Незаменимой аминокислотой аргинин является только для молодых, растущих животных.

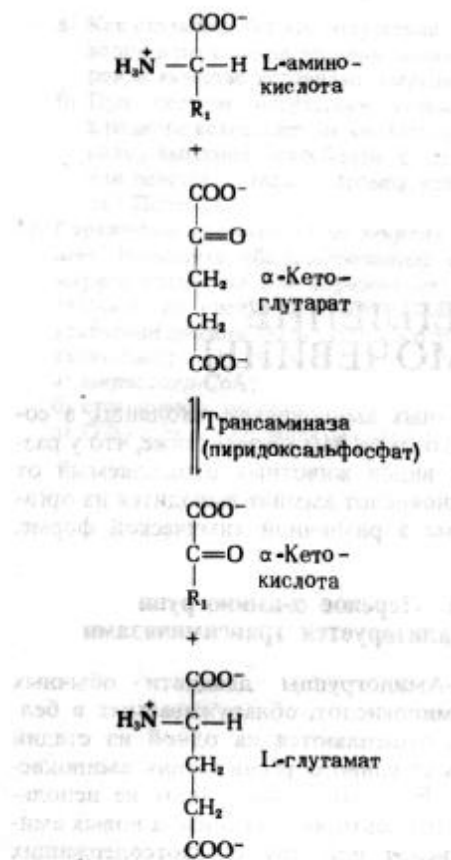


Рис. 19-1. Реакция трансаминирования. Переносимая аминогруппа выделена красным. В большей части реакций трансаминирования акцентором аминокислот служит α -кетоглутарат.

Регуляция биосинтеза аминокислот протекает в основном по принципу обратной связи, т.е. когда конечный продукт биосинтеза подавляет первую его стадию (за счет аллостерического ингибирования). Другой механизм регуляции - генетическая репрессия и дерепрессия синтеза ферментов, участвующих в биосинтезе аминокислоты.

Распад аминокислот.

Расщепление аминокислот запускается организмом в ситуации, когда пища богата аминокислотами, идет динамическое обновление белков организма или когда нет других источников энергии (жиров или углеводов). Во всех этих ситуациях аминокислоты теряют свои аминогруппы и превращаются в соответствующие α -аминокислоты, которые затем окисляются до CO₂ и воды в цикле Кребса.

Аминогруппы всех аминокислот переносятся под действием соответствующих трансаминаз на α -углеродный атом α -кетоглутарата с образованием L-глутамата. Если эти аминогруппы не используются повторно для синтеза новых аминокислот, то они выводятся из организма (в виде мочевины, мочевой кислоты или аммиака).

10 аминокислот (аланин, треонин, глицин, серин, цистеин, фенилаланин, тирозин, лейцин, лизин и триптофан) расщепляются различными путями до **ацетил-СоА**. 5 аминокислот (аргинин, гистидин, глутамин, пролин и глутамат) при распаде дают **α -кетоглутарат**, 3 аминокислоты (изолейцин, метионин и валин) распадаются с образованием **сукцинил-СоА** и 2 аминокислоты (аспаргат и аспарагин) образуют **оксалоацетат**. Кроме того, 2 из перечисленных выше аминокислот (фенилаланин и тирозин) также дают при окислительном расщеплении **фумарат**. Таким образом, все аминокислоты распадаются до **ацетил-СоА** или промежуточных продуктов цикла Кребса.

Аминогруппы, образующиеся при окислительном расщеплении аминокислот должны выводиться из организма. У рыб азот выводится в виде аммиака, выходя в воду через жабры. В жабрах находится фермент глутаминаза, отщепляющая аммиак от глутамината с образованием глутамата. Однако наземные животные вынуждены выводить аммонийный азот в связанном состоянии, поскольку аммиак сильно токсичен и легко проникает сквозь мембраны. Большинство наземных животных выводят азот в виде мочевины, образующейся в цикле мочевины.

Цикл мочевины.

Глутамат, образованный при распаде аминокислот в реакции трансминирования, дезаминируется в митохондриях клеток печени, давая аммиак и α -кетоглутарат. Свободный аммиак немедленно включается в реакцию с CO_2 и АТФ давая карбамоилфосфат (реакцию катализирует карбамоилфосфат-синтетаза I). Далее карбамоильная группа карбамоилфосфата переносится на орнитин с образованием цитруллина, который выходит из митохондрий в цитозоль. Там цитруллин вступает в реакцию конденсации с L-аспаратом (образованным при трансминировании оксалоацетата и L-глутамата) давая аргиносукуцинат. Аргиносукуцинат расщепляется на аргинин и фумарат. Аргинин расщепляется далее на орнитин и мочевины.

Рис. 19-4. Включение углеродных скелетов обычных аминокислот в цикл лимонной кислоты. При расщеплении лейцина и триптофана образуется как ацетоацетил-СоА, так и ацетил-СоА.

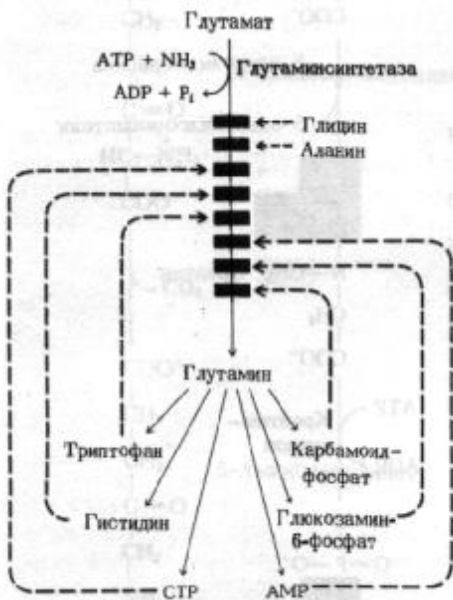
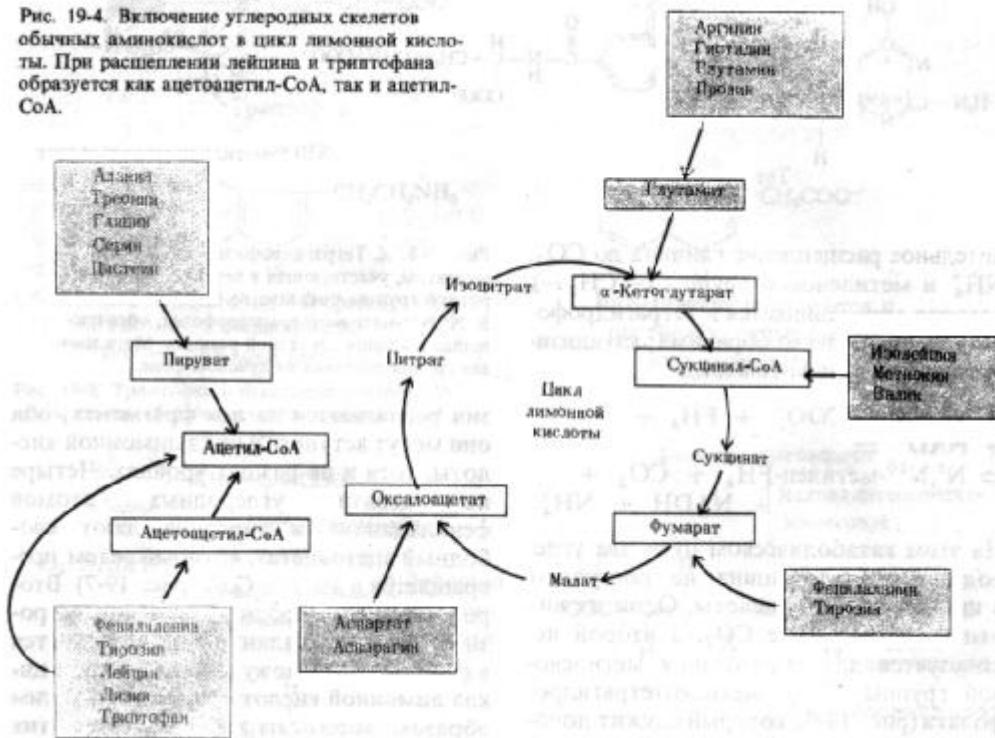


Рис. 22-9. Аллостерическое ингибирование глутаминсинтетазы у *E. coli*. У этого организма глутамин является предшественником указанных здесь продуктов. Все они способны ингибировать фермент по типу обратной связи. Такое действие нескольких отрицательных модуляторов называется согласованным ингибированием. Глутаминсинтетаза резко ингибируется также избытком АТФ, под влиянием которого она переходит в неактивную форму вследствие ковалентной модификации тех остатков тирозина в ее субъединицах, которые важны для каталитической активности. В животных тканях активность глутаминсинтетазы регулируется гораздо более простым способом.

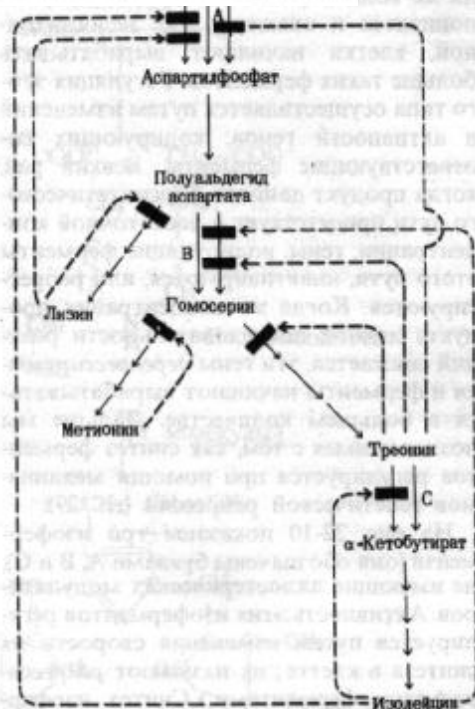


Рис. 22-10. Сложная сеть регуляторных механизмов, контролирующая у *E. coli* биосинтез нескольких аминокислот, образующихся из аспартата. Представленные здесь различные типы регуляции описаны в тексте. Там же разъяснены и обозначения, приведенные на рисунке.

свое собственное образование на трех стадиях, в которых субстратами служат гомосерин, полуальдегид аспартата и аспарат. Такое ингибирование называют последовательным ингибированием по типу обратной связи.

Занятие 13. Белки и их структура.

Белки играют фундаментальную роль в формировании и поддержании структуры и функций живых организмов. Белки образуются из одной или нескольких *полипептидных цепей*, каждая из которых состоит из аминокислот, связанных друг с другом пептидными связями. Молекулярная масса белков колеблется в пределах от 6000 до 1000000 и более.

Все белки построены в основном из двадцати различных аминокислот, расположенных в определенной последовательности, которая называется *первичной структурой белков*. Эти длинные пептидные цепи ориентированы в пространстве определенным образом, создавая *вторичную структуру* белковой молекулы. Принимая во внимание плоское строение пептидной связи, возможность свободного вращения связей у α -углеродного атома и постоянство углов и межатомных расстояний, можно прийти к двум основным моделям вторичной структуры. Первая-это спираль (правая или левая), которую можно себе представить в виде пептидной цепи, закрученной вокруг гипотетического цилиндра. Это вторичная структура стабилизируется водородными связями, которые возникают между аминокислотами пептидной цепи. Степень спирализации в белках колеблется от 5 до 80%. Вторая возможная структура-это структура типа складчатого слоя, в которой полипептидные цепи лежат антипараллельно (или параллельно) друг другу и водородные связи соединяют две различные пептидные цепи. Оставшаяся часть молекулы белка, не включенная в α -спираль и β -слои, образует беспорядочный клубок. *Третичная структура* белков- это трехмерная структура полипептидной цепи, которая определяется первичной и вторичной структурой. Третичная структура образуется спонтанно и зависит от размера, формы и полярности аминокислотных остатков. Эти остатки взаимодействуют друг с другом, а также с молекулами растворителя и, таким образом, уменьшают свободное вращение связей полипептидного остова. Ограничение подвижности может возникнуть за счет ковалентных дисульфидных связей внутри цепи или между двумя различными цепями, а также за счет гидрофобных взаимодействий, ионных и водородных связей.

Пептидные цепи *глобулярных белков* компактно свернуты. Все или почти все полярные группы глобулярных белков расположены на поверхности молекулы и гидратированы, гидрофобные остатки находятся внутри молекулы.

Некоторые молекулы белков состоят из субъединиц (например, гемоглобин, аллостерические ферменты). Четвертичная структура таких олигомерных белков также в основном определяется их аминокислотной последовательностью. Олигомерные белки характеризуются некоторыми очень специфическими кинетическими свойствами.

Белки можно разделить на две большие группы: простые и сложные. *Простые белки* гидролизуются (кислотами или щелочами) до аминокислот, но при этом не дают других органических или неорганических соединений. В среднем в их состав входят: 50% С, 7% Н, 23% О, 16% N и 3% S.

Аминокислоты- это алифатические, ароматические или гетероциклические соединения, содержащие по крайней мере одну амино- и одну карбоксильную группу. В аминокислотах белков NH_2 -группа находится у α -углеродного атома. Все природные аминокислоты оптически активны (за исключением глицина), аминокислоты высших организмов принадлежат к L-ряду, однако в некоторых особых соединениях микробного происхождения могут присутствовать аминокислоты D-ряда.

Сложные белки (нуклеопротеиды, липопротеиды, гликопротеины, фосфопротеиды, гемопротеиды, флаво-протеиды, металлопротеиды) при гидролизе дают не только аминокислоты, но также и другие органические или неорганические соединения; в некоторых случаях эти соединения называют простетической группой.

Гликопротеины могут содержать нейтральные сахара: галактозу, маннозу и фукозу, а также аминсахара: N-ацетилглюкозамин, M-ацетилгалактозамин, сиаловые и уроновые кислоты.

Липопротеиды содержат триацилглицерины, холестерин и фосфолипиды. В состав *металлоферментов* входит либо ион металла, как таковой, либо в виде такого комплексного соединения, как гем.

Каждая белковая молекула обладает рядом ионизирующих групп (концевые $-\text{NH}_2$ - и $-\text{COOH}$ - группы и некоторые боковые группы пептидной цепи), которые вносят свой вклад в *кислотно-основные характеристики* раствора белка. Для каждого белка существует характерное значение рН, при котором он не движется в электрическом поле, поскольку при этом рН (изоэлектрическая точка) белок имеет одинаковое количество положительных и отрицательных зарядов. При значениях рН выше изоэлектрической точки белок несет отрицательный заряд, а при более низких значениях-положительный.

Смесь белков может быть разделена на основе их различной подвижности в электрическом поле (свободным электрофорезом, электрофорезом на носителях) методом хроматографии (на ионообменных смолах или на гелях), а также на основе их различной растворимости. Белки наименее растворимы в изоэлектрической точке, и их растворимость понижается при увеличении концентрации нейтральных солей (высаливание белков). Белки, а также и аминокислоты ведут себя в растворе как амфолиты.

В биологических системах белки обеспечивают множество специфических свойств. Так, наиболее важные функциональные белки- это *ферменты* (простые, аллостерические, регуляторные). Наиболее важные структурные белки-это коллаген, кератин, гликопротеины, эластин и сократительные белки, такие, как актин и миозин. Некоторые белки выполняют *транспортную функцию* либо в растворимом состоянии (сывороточный альбумин, β -липопротеид, гемоглобин), либо в *мембранах* (различные переносчики) или же являются *гормонами* (инсулин, адренкортикотропный гормон, гормон роста), *токсинами* (ботулин, яды змей), *антигенами* и *антителами* (иммуноглобулины), а также *запасными белками* (ферритин).

ПЕРВИЧНАЯ СТРУКТУРА БЕЛКА

К белкам относят полипептиды, способные самопроизвольно формировать и удерживать определенную пространственную структуру. Нельзя указать такого порога, границы, которые резко отделяли бы белки от пептидов. Действительно, известная способность к образованию предпочтительных конформаций в растворах замечается уже у сравнительно коротких пептидов, более того, эта способность существенна для функции некоторых пептидов (например, гормонов), облегчая их взаимодействие с клеточными рецепторами. И все же это только прообраз *четкого соотношения*

между последовательностью аминокислот и пространственной структурой, которое составляет важнейшую отличительную особенность белка.

Стабилизация пространственной структуры требует хорошо развитой системы нековалентных взаимодействий, что может быть достигнуто лишь начиная с некоторой длины полипептидной цепи. Известны белки, полипептидная цепь которых содержит всего лишь около пятидесяти аминокислотных остатков. К ним относятся, например, панкреатический ингибитор трипсина, фактор роста эпителия, некоторые белки оболочек бактериофагов. Однако такие случаи относительно редки и белки чаще всего содержат 100 — 400 аминокислотных остатков в одной полипептидной цепи, образующей глобулярную структуру.

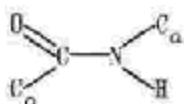
Впрочем, длина полипептидной цепи может быть и гораздо большей, достигая тысячи остатков и более. Известны и так называемые *полибелки*. Они представляют собой еще более длинную полипептидную цепь, формирующую последовательно несколько вполне автономных как в структурном, так и в функциональном отношении глобул, которые после разрезания полибелка по местам "перетяжек" протеиназами существуют как независимые друг от друга ферменты. Видимо, сам по себе механизм биосинтеза не накладывает существенных ограничений на длину полипептидной цепи белка.

Еще на заре современной химии белка датский биохимик К.Линдерштрём-Ланг предложил рассматривать четыре уровня организации белковой молекулы: *первичную, вторичную, третичную и четвертичную структуры*. Эта классификация закрепилась в литературе, поскольку в ней отразились реальные ступени формирования пространственного строения белковых молекул.

Первичной структурой называют последовательность аминокислотных остатков в молекуле белка. Она кодируется структурным геном данного белка и содержит в себе все необходимое для самоорганизации его пространственной структуры. Последовательность аминокислот образуется в результате трансляции мРНК. Однако первичная структура зрелой белковой молекулы далеко не всегда полностью совпадает с непосредственным продуктом трансляции, который, как правило, подвергается более или менее существенной ко- и посттрансляционной модификации, *процесситу*, причем могут изменяться аминокислотные остатки, длина полипептидной цепи и т.п.

СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ПЕПТИДНОЙ СВЯЗИ

Пептидной называют связь, образованную α-аминой и α-карбоксильной группами аминокислот. Традиционное изображение пептидной связи



не вполне правильно передает ее электронную структуру. Двойная связь C=O карбонильной группы поляризована и в определенном смысле может быть представлена как одинарная связь с разделением зарядов:



причем отрицательный заряд локализуется на атоме кислорода.

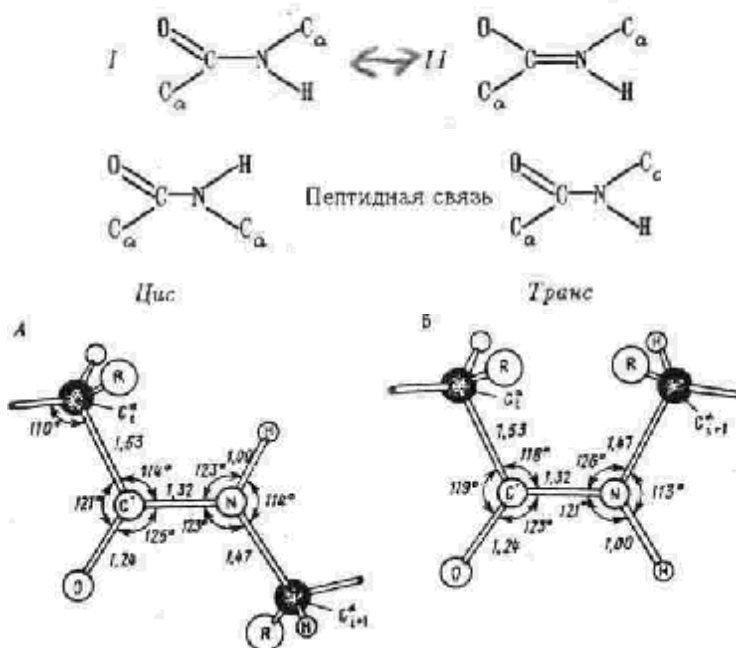


Рис. 5.1. Структура пептидной связи. А - транс — типичная, Б - цис — редко встречающаяся конфигурация пептидной связи

Углы вращения вокруг связей N—C_α и C_α—C(=O) называют соответственно углами φ и ψ (рис. 5.2). Для отсчета этих двугранных углов прибегают к следующему приему. Если представить, что наблюдатель смотрит вдоль связи N—C_α, то "следующая" связь C_α—C(=O) может оказаться заслоненной "предшествующей" связью C(=O)—N. Такой конформации (заслоненной или *цисоидной*, очевидно, невыгодной стерически) соответствует угол φ = 0°. Если связь C_α—C(=O) не заслонена и для достижения заслоненной конфигурации связь C(=O)—N нужно вращать по часовой стрелке, угол φ считается положительным и возрастает до 180°. В последнем случае достигается *трансоидная конфигурация*. В

противоположном направлении отсчитываются отрицательные значения угла φ от 0° до -180° . Аналогично, для определения угла ψ смотрят вдоль связи $C_\alpha-C(=O)$, при этом заслоненной конформации (когда связь $N-C_\alpha$ закрывает связь $C(=O)-N$) приписывается угол $\psi = 0^\circ$, а трансoidной — угол $+180^\circ$.

Значения углов φ и ψ для какого-либо аминокислотного остатка характеризуют его положение во вторичной структуре.

ВТОРИЧНАЯ СТРУКТУРА

Вторичной структурой называют пространственное расположение атомов главной цепи молекулы белка на отдельных ее участках.

В соответствии с этим определением *любой* участок белка имеет вторичную структуру. Иногда рассматривают как вторичную структуру только те ее элементы, которые являются *периодическими*: α -спираль и β -структуру. Однако в белках нередко встречаются такие участки пептидной цепи, которые уложены вполне определенным способом, хотя их пространственная структура не содержит какого-либо периодически повторяющегося, регулярного мотива. Тем не менее к ним вполне приложимо понятие вторичной структуры. Следует различать два вида вторичных структур: *регулярные* и *нерегулярные*.

Понятие вторичной структуры, как подчеркивается в его определении, относится не ко всей белковой молекуле в целом, а к *отдельным*, более или менее протяженным *участкам* ее полипептидной цепи. Обсуждая вторичную структуру, мы, по крайней мере на первых порах, абстрагируемся от дальних взаимодействий в молекуле белка, а также от вклада боковых групп аминокислотных остатков, концентрируясь на главной цепи белка. Ближние взаимодействия, которым принадлежит важнейшая роль в формировании вторичной структуры, определяются прежде всего особенностями пептидной связи.

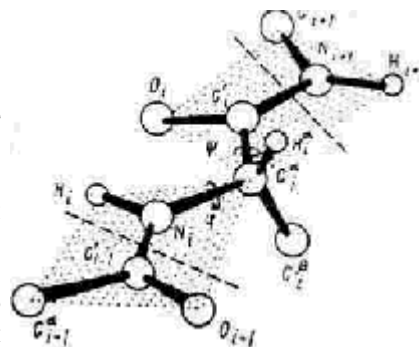


Рис. 5.2. Двугранные углы полипептидной цепи

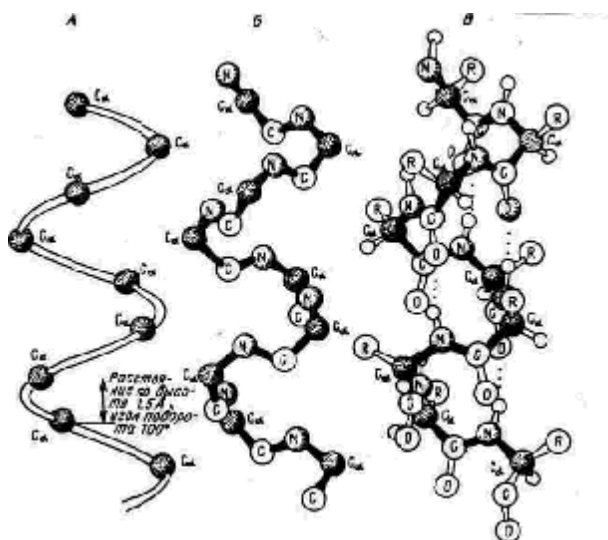


Рис. 5.5. Правая α -спираль. А - показаны только C_α -атомы; Б - все атомы скелета пептидной цепи; В - более полная структура

В отличие от α -спирали, насыщенной водородными связями и не способной поэтому взаимодействовать с другими участками белка на уровне вторичной структуры, каждый отрезок пептидной цепи в β -структуре открыт для формирования более протяженной системы водородных связей.

В *антипараллельной* β -структуре (рис. 5.8) водородные связи образуются между противоположно направленными пептидными группировками соседних отрезков, что приводит к чередованию 8- и 14-членных циклов. И в этом случае во взаимодействии с соседней пептидной цепью участвуют не все, а каждый второй аминокислотный остаток. Половина пептидных групп остается свободной, что дает возможность присоединить к каждому из двух антипараллельно направленных отрезков еще по одному отрезку пептидной цепи, и т.д. Таким образом, и антипараллельная β -структура не насыщена водородными связями и способна давать весьма протяженные образования, в которые включено несколько участков пептидной цепи.

Число аминокислотных остатков в отрезке пептидной цепи, образующем β -структуру, обычно колеблется от 3 до 8. Протяженная β -структура, так называемый β -слой, или β -складчатый лист (рис. 5.9), чаще всего состоит из 2—6 цепей, хотя иногда их число достигает и десяти.

Боковые группы аминокислотных остатков, соседних в пептидной цепи, при образовании β -структуры оказываются по разные стороны ее поверхности. Сама же поверхность имеет складчатую форму, причем складки заданы α -углеродными атомами остатков, находящихся в соседних цепях. Отходящие от α -углеродных атомов боковые

Рассмотрим систему водородных связей между двумя отрезками пептидной цепи, образующими *параллельную* β -структуру. В этом случае (рис. 5.7) NH-группа какого-либо остатка в отрезке А дает водородную связь с карбонильной группой i -го остатка пептидной цепи В, а карбонильная группа того же аминокислотного остатка цепи А — с NH-группой $(i + 2)$ -го остатка в параллельной цепи В. Важно, что $(i + 1)$ -й остаток цепи В при этом как бы пропущен и его NH- и карбонильная группа во взаимодействии с цепью А не участвуют. Точно так же далеко не все C=O- и NH-группы цепи А участвуют во взаимодействии с цепью В.

Таким образом, два отрезка параллельной β -структуры соединяются водородными связями, что приводит к формированию больших циклов из 12 атомов.

группы образуют своего рода гребни. Это позволяет формировать довольно протяженные поверхности, насыщенные однотипными зарядами,

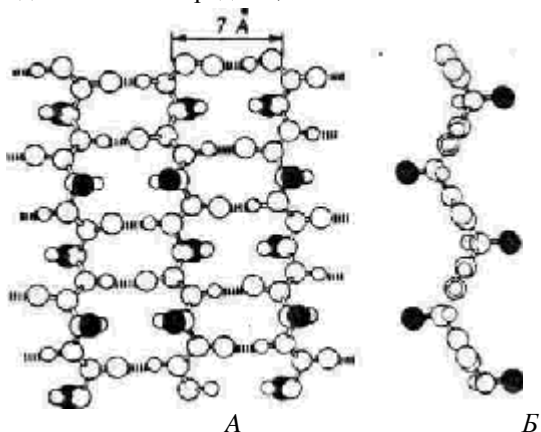


Рис. 5.9. β -Складчатый слой

A - антипараллельный β -складчатый слой; вид "сверху"; прерывистыми линиями обозначены водородные связи, зачернены α -атомы боковых групп; *B* - вид "сбоку"; хорошо видны складчатость и размещение боковых групп по обе стороны слоя

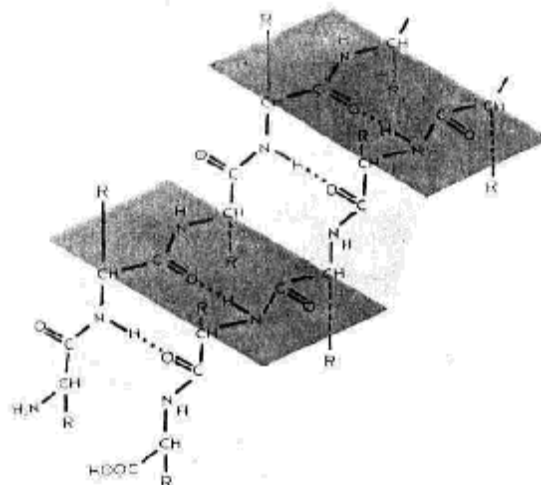
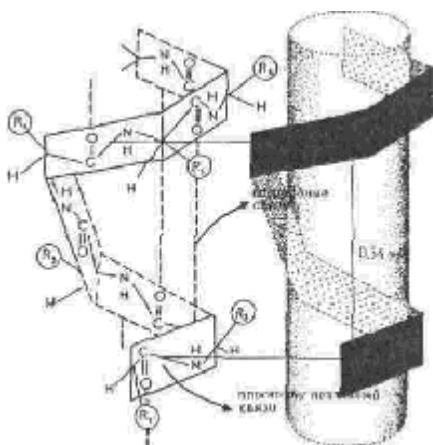


Рис.38. Конформация β -складчатого листа.

Структура α -спирали

Структура α -спирали является наиболее важным и широко распространенным случаем пространственной организации молекул *глобулярных белков*. В α -спирали пептидная цепь обернута вокруг поверхности гипотетического цилиндра. Спираль может быть левой или правой. Спиральная структура возможна благодаря плоскому расположению атомов пептидной связи и свободному вращению у α -углеродного атома. Плоскости двух соседних пептидных связей расположены друг по отношению к другу под углом 108° . Присутствие большого числа водородных связей в полипептидной цепи стабилизирует молекулу, поэтому наиболее стабильной является структура, поддерживаемая максимальным числом водородных связей.



Боковые цепи аминокислот направлены от поверхности цилиндра. Обычно в трехмерной структуре белка гидрофобные аминокислоты спирали обращены внутрь молекулы, а гидрофильные наружу. α -Спиральной структурой обладает лишь часть пептидной цепи (например, цепь миоглобина спирализована на 75%).

СВЯЗИ, СТАБИЛИЗИРУЮЩИЕ БЕЛКОВУЮ МОЛЕКУЛУ И ОПРЕДЕЛЯЮЩИЕ ЕЕ СТРУКТУРУ

- (I) *Ионная связь* относится к электростатическим взаимодействиям
- (II) *Водородная связь* возникает между боковыми цепями аминокислот и пептидными связями
- (III) *Дисульфидная связь* образуется между цистеиновыми остатками (внутримолекулярная связь)
- (IV) *Гидрофобная связь* отражает взаимодействие неполярных групп
- (V) *Гидратируемые группы*. Молекулы воды, окружающие белковую молекулу, при определенных условиях могут образовывать структуру, подобную структуре льда. Этот водный слой способствует структурной стабильности белковой молекулы.

β -ИЗГИБ

Как α -спираль, так и β -структура обычно представлены в глобулярных белках сравнительно короткими отрезками, поэтому значительная часть вторичной структуры белка приходится на разного рода петли, позволяющие изменить направление пептидной цепи. Наиболее экономный структурный элемент, позволяющий повернуть полипептид на 180° , используя всего три пептидные группировки, получил название β -изгиба (рис. 5.12). β -Изгиб стабилизируется одной водородной связью. Его образованию могут мешать объемистые боковые цепи аминокислот, поэтому предпочтительно включение в него остатка глицина. Заметим, что β -изгиб практически всегда оказывается на поверхности белковой глобулы, поэтому нередко он играет существенную роль в ее взаимодействии с другими молекулами, например с иммуноглобулинами.

Поворот пептидной цепи на 180° происходит на отрезке, содержащем четыре аминокислотных остатка, причем между кислородом карбонильной группы 1-го остатка и водородом NH-группы 4-го образуется стабилизирующая изгиб водородная связь.

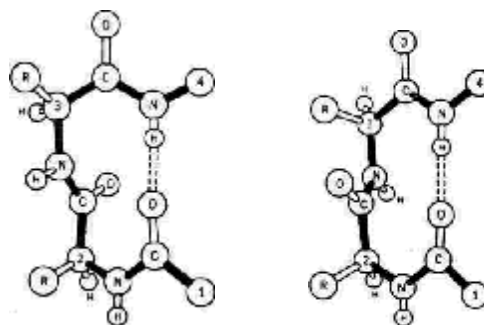
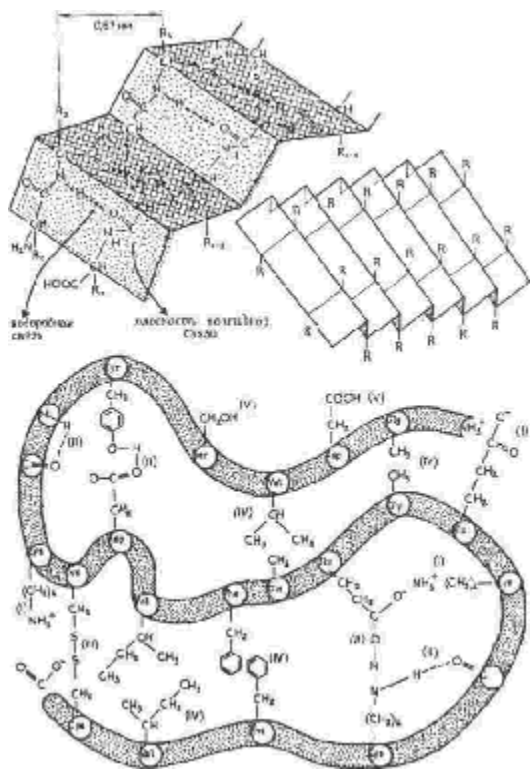


Рис. 5.12. β-Изгиб (две возможные структуры)

Рис. 5.11. Связи, стабилизирующие белковую молекулу.

ТРЕТИЧНАЯ СТРУКТУРА БЕЛКА

Третичной структурой называют распределение в пространстве всех атомов белковой молекулы. При этом не учитывают взаимодействия этой глобулы с соседними глобулами или субъединицами. Часто понятие третичной структуры сужают, концентрируя внимание на наиболее устойчивом ее элементе — *свойственном данному белку способе укладки полипептидной цепи в пространстве*. Характерно, что для больших групп эволюционно родственных белков, подчас очень значительно отличающихся по первичной структуре и, значит, по распределению *всех* атомов в пространстве, способ укладки полипептидной цепи остается в главных чертах неизменным. Это показывает, что допускаемое упрощение оправдано, так как оно отражает существенные черты третичной структуры.

Известное сходство приведенного определения третичной структуры с понятием вторичной структуры лишь внешнее, поскольку вторичная структура характеризует относительно небольшой участок белка и определяется локальными нековалентными взаимодействиями, тогда как третичная структура зависит *от всей суммы взаимодействий* — ковалентных и нековалентных — в белковой глобуле.

Третичная структура — *основа функциональности белка*, которая требует точной пространственной организации больших ансамблей, построенных из множества аминокислотных остатков и их боковых групп. Такие ансамбли формируют активные центры ферментов, зоны связывания других биологических молекул, эффекторные центры белков и т.д., поэтому нарушение третичной структуры белка (денатурация) неизменно приводит к утрате им способности функционировать.

ДОМЕНЫ В БЕЛКАХ

Свойственный белкам способ организации пространственной структуры — формирование гидрофобного ядра и мозаичной поверхности, содержащей как гидрофильные, так и гидрофобные элементы, — на первый взгляд, ограничивает размеры глобулы, поскольку с увеличением ее объема строго гидрофобное ядро будет составлять все меньшую долю. В какой-то мере это так, но ограничение затрагивает лишь размеры данным способом организованной структуры, а не молекулы в целом. Действительно, начиная примерно с молекулярной массы 14 — 16 кДа прослеживается тенденция к формированию белковой молекулы из двух (и более) в той или иной степени независимо образованных глобул, каждая из которых имеет свое гидрофобное ядро. Такие глобулы — *домены* — формируются различными отрезками одной и той же полипептидной цепи.

Доменами в белках называют области в третичной структуре, которым свойственна определенная автономия структурной организации. Автономия эта подчас столь значительна, что домены могут независимо от других частей белковой молекулы поддерживать и даже формировать пространственную структуру. Во многих случаях удается разделить домены, подвергнув белок ограниченному протеолизу.

В рамках биологической функции данного белка домены нередко, хотя и не всегда, выполняют собственные задачи, и тогда структурная автономия домена дополняется *функциональной*.

ЧЕТВЕРТИЧНАЯ СТРУКТУРА БЕЛКА

Четвертичной структурой называют размещение в пространстве взаимодействующих между собой субъединиц, образованных отдельными полипептидными цепями белка.

В формировании четвертичной структуры участвуют не пептидные цепи сами по себе, а глобулы, образованные каждой из этих цепей в отдельности. Таким образом, понятие четвертичной структуры относится к *ансамблю глобул*. Взаимодействие между последними достаточно сильно, так что ансамбль выступает как единая молекула, в то же время каждая из объединившихся глобул — субъединиц — сохраняет значительную автономию, как правило, выраженную гораздо ярче, чем автономия домена в рамках третичной структуры.

ПОСТТРАНСЛЯЦИОННАЯ МОДИФИКАЦИЯ БЕЛКА

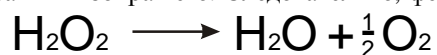
Полипептидная цепь — первичный продукт биосинтеза белка — часто подвергается химическим превращениям, изменяющим ее ковалентную структуру. Такие превращения могут происходить как в процессе трансляции (*котрансляционная модификация*), так и после ее окончания, нередко уже после сформирования пространственной структуры белка. Многообразие этих реакций, завершающих созревание белка или видоизменяющих его функциональные свойства, очень велико — их число достигает 300—400. Иногда реакции посттрансляционной модификации называют *процессингом* (от англ. *processing* — обработка), подчеркивая этим, что они как бы завершают биосинтез белка. Этот термин не вполне точен, поскольку некоторые реакции, например фосфорилирование, могут происходить с одной и той же молекулой неоднократно, регулируя ее активность, другие, вероятно, служат сигналом к расщеплению белка.

Занятие 14. Ферменты и кинетика ферментативных реакций.

Обмен веществ был бы невозможен без резкого ускорения реакций, на которых он основан, без согласования во времени и пространстве множества биохимических процессов, т.е. без участия *биологических катализаторов* — *ферментов*. Биокаталитически ускоряются самые различные превращения, в том числе и такие, которые с точки зрения традиционной химии, казалось бы, не нуждаются в катализе. Например, спонтанно протекающее отщепление воды от угольной кислоты с образованием CO_2 оказывается слишком медленным для регулирования pH крови, и эта, на первый взгляд простая, реакция катализируется специфическим ферментом — карбангидразой.

Как известно, катализаторы не создают той или иной реакции, а лишь *ускоряют достижение равновесия*, увеличивая скорости как прямого, так и обратного превращения. Как и любые катализаторы, ферменты ускоряют биохимические реакции за счет *снижения энергии активации* — того энергетического барьера, который отделяет одно состояние системы (исходные соединения) от другого (продукты реакции). При этом, строго говоря, несколько изменяется путь, по которому протекает реакция. Разница в эффективности ферментов и традиционных катализаторов, используемых в химии, казалось бы, чисто количественная. Так, энергия активации распада пероксида водорода на кислород и воду составляет 18 ккал/моль, мелкодисперсная платина снижает ее до 12 ккал/моль, а фермент каталаза — до 5,6 ккал/моль, что ускоряет реакцию соответственно на 6 и 12 порядков. Столь высокая эффективность ферментов определяет их роль как организаторов биохимических процессов. Действительно, благодаря каталитическому действию ферментов в организме становятся возможными такие реакции, которые в отсутствие эффективного катализа были бы неуловимы за разумные времена наблюдения.

Таким образом, ферменты как бы создают, делают осуществимыми многие превращения веществ, немислимые в отсутствие биокатализа. Более того, нередко фермент ускоряет один из нескольких термодинамически возможных путей превращения вещества, тем самым избирая его. Следовательно, ферменты выступают не только как ускорители, но и как



своеобразные *организаторы обменных процессов*, чему также способствует и возможность регулирования их активности.

Роль биокатализа была выявлена еще в 19 веке при изучении процессов брожения. Именно с брожением связаны оба установившиеся в литературе названия биокатализаторов — *энзим* и *фермент*. Из этих синонимов в русскоязычной литературе применяется лишь последний наряду, впрочем, с терминами *энзимология* и *энзиматический*. Ферменты имеют белковую природу, однако обнаружена способность некоторых форм РНК катализировать реакции, т.е. выступать в качестве ферментов. Предполагают, что эта способность молекул РНК сыграла большую роль в эволюции биокатализа до того, как ферментативная функция перешла к белкам — биополимерам, более приспособленным к выполнению этой задачи.

Во многих случаях молекула белка использует в ходе биокатализа небелковые соединения — *кофакторы*, в частности ионы металлов, которые выступают как компоненты каталитического центра фермента. Отделение таких кофакторов, обычно связанных с белком нековалентно, приводит к *апоферментам*, комплекс же фермента и кофактора носит название *голофермента*.

СИСТЕМАТИКА ФЕРМЕНТОВ

В эукариотической клетке в каждый момент времени происходит примерно 2—3 тыс. разных биохимических реакций, каждая из которых катализируется своим ферментом; следовательно, даже без учета видовых различий существует не менее 2—3 тыс. ферментов. Это число значительно вырастет, если учесть, что реакции одного и того же типа могут катализироваться ферментами различной природы, а также рассматривать ферменты, вовлеченные в передачу сигналов и процессы, свойственные многоклеточным (например, ферменты системы свертывания крови). Вероятно, общее число видов ферментов составляет несколько десятков тысяч.

Для строго обоснованной классификации столь большого числа ферментов пока недостаточно данных. Рациональной была бы систематика, основанная на эволюционных соотношениях между ферментами, глубоком знании их структурных и функциональных особенностей. Это позволило бы объединять в таксоны соответствующих рангов ферменты, возникшие в ходе эволюции одного предшественника. Такая систематика в настоящее время создается для некоторых групп ферментов, в частности для протеиназ.

Однако, для практического применения систематики, базирующейся на эволюционных предпосылках, требуется не только предварительное изучение множества родственных ферментов, но и получение большого объема данных о свойствах и, главное, структуре классифицируемого фермента, на что трудно рассчитывать на первых этапах исследования. Ввиду этого принята официально классификация ферментов использует в качестве основного отличительного признака их *субстратную специфичность, характер проводимых ими реакций*, т.е. именно то свойство, которое определяется первым при обнаружении и выделении фермента. Этот признак практически удобен, однако следует учитывать, что он может объединять ферменты различного происхождения, структуры и даже механизма действия.

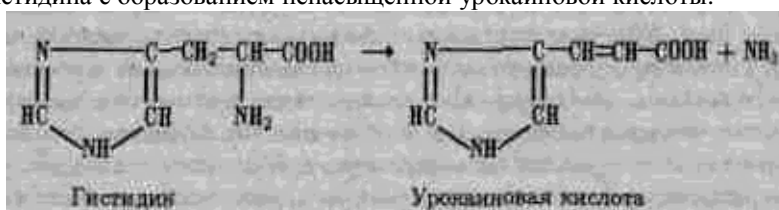
Международная классификация ферментов (КФ) разделяет ферменты в соответствии с *типом катализируемых ими реакций* на следующие шесть классов.

Оксидоредуктазы. К этому классу принадлежат все ферменты, катализирующие *окислительно-восстановительные реакции*. Субстрат, подвергающийся окислению, рассматривают как донор водорода, поэтому к ферментам данного класса нередко применяют термин *дегидрогеназа*, хотя это название отражает только одно из двух возможных направлений реакции. Термин *оксидаза* употребляют только в тех случаях, когда O_2 выступает как непосредственный акцептор водорода.

Трансферазы. Ферменты этого класса переносят *ту или иную группу от одного соединения к другому* (кроме воды). К их числу принадлежат, например, *киназы*— ферменты, переносящие фосфорильный остаток АТФ на различные субстраты, *аминотрансферазы (трансаминазы)*, переносящие аминокетильную группу аминокислот на кетокислоты.

Гидролазы. Эти ферменты можно рассматривать как трансферазы, *переносящие ту или иную группу на молекулу воды*. Выделение их в особый класс оправдано чрезвычайно широкой распространенностью гидролаз, вовлеченных, в частности, в процессы деградации биополимеров. Известны гидролазы, катализирующие гидролиз $C—O$, $C—N$, $C—C$, $O—P$ и ряда других связей. Иногда один и тот же фермент способен катализировать гидролиз связей разной природы. Так, некоторые *протеиназы*, расщепляющие пептидные связи в белках, могут даже с большей эффективностью гидролизовать сложные эфиры, выступая как *эстеразы*. Выбор термина *протеиназа* в таких случаях основан на представлениях о физиологической роли данного фермента и, следовательно, о характере его природного субстрата.

Лиазы. К ним относят ферменты, *разрывающие связи $C—C$, $C—O$, $C—N$ и некоторые другие путем элиминирования соответствующей молекулы с одновременным образованием двойной связи*. В обратной реакции лиазы катализируют присоединение молекул воды, аммиака и т.д. по двойной связи. Таков, например, *гистидин-аммиак-лиаза* — фермент, отщепляющий аммиак от гистидина с образованием ненасыщенной урокаиновой кислоты:



Изомеразы. Ферменты этого типа *катализируют геометрические или структурные перестройки, изомеризации в пределах одной молекулы*. К ним, в частности, относятся *рацемазы, таутомеразы, циклоизомеразы*. В качестве примера укажем на *рацемазу лактама лизина*, катализирующую взаимный переход L- и D-изомеров этого соединения, триозофосфатизомеразу, катализирующую взаимопревращение фосфоглицеринового альдегида и диоксиацетонфосфата.

Лигазы (синтетазы). К этому классу относятся ферменты, *катализирующие соединение двух молекул, сопряженное с гидролизом АТФ*. Они играют ключевую роль в процессах биосинтеза, обеспечивая за счет энергии гидролиза АТФ протекание таких реакций, которые сами по себе были бы термодинамически невыгодными. Примером могут служить *аминоацил-тРНК-синтетазы*.

Каждый из перечисленных шести классов ферментов разбивают (опять-таки по признаку специфичности) на подклассы и подподклассы, которым присваиваются порядковые номера в соответствии с Международной классификацией. Например, гидролазы, расщепляющие эфиры карбоновых кислот, относятся к классу 3 (гидролазы), подклассу 3.1 (ферменты, действующие на сложноэфирные связи) и подподклассу 3.1.1 (гидролазы эфиров карбоновых кислот). Конкретный фермент внутри подподкласса получает свой порядковый номер. Так, липаза, гидролизующая триацилглицерины, имеет номер 3.1.1.3.

ОБЩИЕ ПОНЯТИЯ ФЕРМЕНТАТИВНОГО КАТАЛИЗА

При анализе способа действия ферментов прибегают к ряду упрощений, в определенной мере отражающих существенные черты этого процесса. Прежде всего учитывают, что с субстратом непосредственно контактирует не вся молекула фермента, а лишь ее часть — *активный центр*. Последний не может быть очерчен строго определенными границами, поскольку каждый его компонент так или иначе взаимодействует с другими участками молекулы белка. Эти взаимодействия обычно весьма существенны для каталитического механизма, изменяя реакционную способность функциональных групп активного центра, фиксируя их в структуре белковой глобулы или создавая благоприятствующее катализу специфическое микроокружение. Таким образом, понятие *активный центр* является в определенном смысле абстракцией, которая отражает существенные особенности фермента, но в то же время как бы огрубляет описание катализа.

Упрощая картину далее, активный центр подразделяют на *зону связывания субстрата* и собственно *каталитический центр*. При этом предполагается, что зона связывания ответственна за формирование *комплекса фермент — субстрат* (так называемого *-комплекса Михаэлиса*), за выбор субстрата, его закрепление и правильную ориентацию относительно каталитического центра. Функциональные группы каталитического центра непосредственно участвуют в превращении субстрата. И это упрощение полезно, если не забывать о его относительности, условности. В реальных фермент-субстратных комплексах группы каталитического центра обычно используются для связывания субстрата, а белковые

структуры, образующие зону связывания, нередко участвуют в динамических процессах, вмешиваясь в каталитический механизм.

Условность понятия *активный центр* подчеркивается и тем, что последний не удастся физически отделить от остальной части молекулы фермента. На рубеже 50—60-х годов появлялись сообщения об удачном "вырезании" активных центров из ферментов, в частности протеиназ. Все они, однако, оказались результатом экспериментальных ошибок. С установлением пространственного строения множества ферментов стало ясно, что, как правило, их активные центры формируются из аминокислотных остатков, далеких друг от друга в последовательности аминокислот, но сближающихся при образовании третичной структуры.

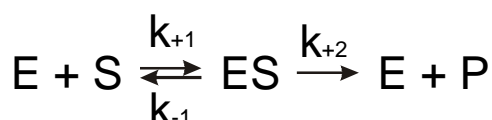
В то же время структуру фермента в целом нельзя считать неприкасаемой. Молекулы многих ферментов способны противостоять довольно значительным повреждениям, в том числе отдельным разрывам полипептидных цепей, адаптировать целый ряд замен аминокислотных остатков другими; иногда удается заметно уменьшить их размеры без утраты активности. Принципиально возможно и получение относительно небольших каталитически активных структур, при том, однако, неременном условии, что они сохранят стабильность пространственного строения, т.е. будут соответствовать по размерам и стабильности по меньшей мере рангу домена.

ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ КИНЕТИКИ ФЕРМЕНТАТИВНОГО КАТАЛИЗА

Основы кинетики ферментативных реакций были заложены Л.Михаэлисом и М.Ментен в 1913 г. Предложенное ими уравнение, связывающее скорость реакции с концентрациями фермента и субстрата, в дальнейшем преобразовывалось, однако подход в принципиальных чертах сохранился и за уравнением остались эти имена.

Согласно модели Михаэлиса—Ментен, фермент E и субстрат S взаимодействуют со скоростью, характеризуемой константой k_{+1} , образуя фермент-субстратный комплекс ES, получивший название *комплекс Михаэлиса*. Этот комплекс, в котором субстрат, присоединенный к ферменту нековалентными связями, еще сохраняет свою химическую природу, распадается с константой скорости k_{-1} на фермент и субстрат, но может и превратиться в продукт (или продукты) P, высвободив фермент E, со скоростью, характеризуемой константой k_{+2} .

Как правило, фермент-субстратный комплекс ES чаще распадается на исходные компоненты, чем превращается с образованием продукта реакции P, т.е. $k_{+1} \gg k_{+2}$. Конечно, именно превращение субстрата в продукт представляет главный интерес при изучении ферментативных реакций. Накоплением продукта в единицу времени и определяется скорость реакции.



При выводе уравнения Михаэлиса—Ментен необходимо прежде всего найти *зависимость концентрации фермент-субстратного комплекса от концентраций фермента и субстрата*, поскольку скорость образования продукта пропорциональна концентрации комплекса ES. Скорость образования ES равна $k_{+1} [E] [S]$, скорость же его распада определяется суммой двух процессов: диссоциации фермент-субстратного комплекса на компоненты со скоростью $k_{-1} [ES]$ и его распада с образованием продукта со скоростью $k_{+2} [ES]$.

Итак, скорость распада комплекса ES по двум путям равна сумме этих скоростей $(k_{-1} + k_{+2}) [ES]$. Кинетика Михаэлиса—Ментен приложима к уже установившимся, стационарным, процессам, когда скорости образования и распада комплекса Михаэлиса равны, т.е. сохраняется его постоянная концентрация. Для такого процесса справедливо равенство:

$$k_{+1} [E] [S] = (k_{-1} + k_{+2}) [ES]$$

преобразуя которое получим

$$[ES] = \frac{[E] [S]}{\frac{k_{-1} + k_{+2}}{k_{+1}}}$$

Дробь

$$\frac{k_{-1} + k_{+2}}{k_{+1}}$$

называют константой Михаэлиса K_m . Она характеризует соотношение скоростей распада (числитель) и образования (знаменатель) комплекса ES (комплекса Михаэлиса). Если k_{+2} мала по сравнению с k_{-1} , (т.е. распад комплекса на исходные компоненты — фермент E и субстрат S — оказывается значительно вероятнее, чем его распад с образованием продукта P), величиной k_{+2} можно пренебречь и константа Михаэлиса оказывается равной константе диссоциации субстрата

$$K_s = \frac{k_{-1}}{k_{+1}}$$

Как уже отмечалось, это соотношение часто оказывается справедливым, поэтому константу Михаэлиса K_m нередко приравнивают K_s . Следует, однако, помнить об условности такого упрощения. Заменяя дробь в знаменателе предыдущего уравнения на K_m , получаем

$$[ES] = \frac{[E][S]}{K_m}$$

Заметим, что в приведенное уравнение входят текущие концентрации свободного фермента и субстрата, которые, строго говоря, не совпадают с их начальными концентрациями, гораздо легче поддающимися определению. Впрочем, различиями в начальной $[S_T]$ и текущей концентрациях субстрата можно пренебречь, приняв $[S_T] \approx [S]$, поскольку уравнение Михаэлиса—Ментен справедливо только для небольших степеней превращения субстрата (о чем нельзя забывать, определяя активность ферментов). Напротив, текущая концентрация фермента существенно отличается от его полной концентрации $[E_T]$ вследствие связывания большей или меньшей доли молекул фермента в комплекс Михаэлиса:

$$[E] = [E_T] - [ES]$$

Подставляя это выражение для текущей концентрации фермента в приведенное выше уравнение, после преобразований получаем

$$[ES] = \frac{[E_T][S]}{K_m + [S]}$$

Это уравнение описывает зависимость концентрации фермент-субстратного комплекса от исходных концентраций фермента и субстрата. Так как скорость образования продукта реакции V равна $k_{+2}[ES]$, то

$$V = \frac{k_{+2} [E_T] [S]}{K_m + [S]}$$

Уравнение Михаэлиса — Ментен

Следует иметь в виду, что это уравнение определяет начальную скорость стационарной реакции v_0 , индекс "0" опущен для упрощения. Из выведенного уравнения следует, что скорость реакции пропорциональна общей концентрации фермента, тогда как ее зависимость от концентрации субстрата оказывается значительно более сложной.

Практическое применение уравнения Михаэлиса-Ментен позволяет количественно характеризовать эффективность действия ферментов, сравнивать их действие на различные субстраты, оценить сродство ферментов к их субстратам (чем ниже значение константы Михаэлиса, тем эффективнее связывание субстрата с ферментом).

В клетке субстраты большинства ферментов содержатся в концентрациях, существенно меньших K_m , а следовательно, ферменты не работают в режиме насыщения. Таким образом, для природных систем типична ситуация, когда скорость ферментативной реакции зависит от концентрации субстрата и повышение последней не требует непереносимого усиления биосинтеза фермента. Не следует думать, что в процессе эволюции ферментов действуют факторы, направленные на постоянное улучшение связывания субстратов. По-видимому, достигается оптимальное связывание, характерное для каждой пары фермент-субстрат. Для одних и тех же субстратов в клетке может существовать несколько ферментов с различной силой связывания субстрата. Так, для субстрата АТФ и фермента тирозил-РНК-синтетазы $K_m=2,5$ мМ, а для АТФ и миозина $K_m=10^{-10}$ мМ, отличие на 10 порядков!

ИНГИБИРОВАНИЕ ФЕРМЕНТОВ

Ингибирование, т.е. полное или частичное подавление активности ферментов при сохранении их первичной и пространственной структуры, — один из важнейших путей регуляции биохимических процессов и в то же время продуктивный способ изучения биокатализа. Различают *обратимые* и *необратимые* ингибиторы.

К *необратимым* относят такие ингибиторы, которые инактивируют фермент, образуя с ним связь, достаточно устойчивую и практически недиссоциирующую в условиях, типичных для его действия. Обычно это ковалентная связь с одной из функциональных групп каталитического центра. Взаимодействие необратимых ингибиторов с ферментом можно описать схемой: $E + I \rightarrow EI$

Заметим, что нередко удается подобрать такие условия, при которых инактивирующая группировка отщепляется и фермент реактивируется, однако поскольку эти условия принципиально отличны от тех, при которых происходило ингибирование, последнее все же считается необратимым.

Необратимое ингибирование часто встречается в природе. Например, именно так пенициллины (антибиотики, вырабатываемые грибами) инактивируют фермент бактерий- D,D-карбокисептидазу, вовлеченную в биосинтез компонента клеточных стенок бактерий- муреина. Это позволяет грибам подавить рост бактерий на «их» субстрате. Пенициллин похож на субстрат карбокисептидазы и связывается с субстрат-связывающим центром фермента. После этого пенициллин ацилирует одну из аминокислот карбокисептидазы- серин, что вызывает необратимое ингибирование фермента.

Взаимодействие обратимых ингибиторов с ферментом можно описать схемой: $E + I \leftrightarrow EI$. *Обратимые* ингибиторы подразделяют на *конкурентные* и *неконкурентные*. К конкурентным ингибиторам относят молекулы,

взаимодействующие с той же зоной поверхности фермента, что и субстрат, а следовательно, конкурирующие с ним за связывание с ферментом. Ингибитор как правило имитирует субстрат, но встречаются и не похожие на субстрат конкурентные ингибиторы. Конкурентное ингибирование может быть снято избытком субстрата. Конкурентное ингибирование также распространено в природе и его используют в практических целях- в науке и медицине- для регулирования активности ферментов. Так, аналоги субстратов фермента ренина- протеиназы, вовлеченной в регуляцию кровяного давления,- устойчивые к расщеплению, пытаются применять в терапевтических целях.

Неконкурентное ингибирование принципиально отличается от конкурентного: в этом случае ингибитор не затрагивает зону связывания субстрата, и присоединяется к ферменту по иному пути, вызывая инактивацию каталитического центра.

Занятие 15. Нуклеотиды.

Мононуклеотиды построены из трех главных компонентов:

1. Азотистого основания.
2. Сахара пентозы.
3. Фосфорной кислоты.

В состав нуклеотидов входят два класса азотистых оснований: пиримидиновые основания (урацил, тимин, цитозин, 5-метилцитозин и др.) и пуриновые основания (аденин, гуанин, 2-метиладенин, 1-метилгуанин и др.), являющиеся производными соответственно пиримидина и пурина.

Все пуриновые и пиримидиновые основания интенсивно поглощают в ультрафиолетовой области спектра (при 260-280 нм), что часто используют для количественного определения как свободных оснований, так и их производных.

Нуклеозиды- это N-гликозиды пиримидиновых или пуриновых оснований. Существуют два ряда нуклеозидов: рибонуклеозиды и 2'-дезоксирибонуклеозиды. Тривиальные названия главных рибонуклеозидов следующие: аденозин, гуанозин, цитидин, уридин, тимидин.

Нуклеотиды представляют собой фосфорнокислые эфиры нуклеозидов. Существуют как рибо-, так и дезоксирибонуклеотиды. В клетке встречаются нуклеозидмоно-, ди- и трифосфаты (NMP, NDP, NTP). Нуклеотиды могут соединяться через остаток фосфорной кислоты, образуя ди-, три-, полинуклеотиды (нуклеиновые кислоты).

Кроме мононуклеотидов нуклеиновых кислот, в организме существует целый ряд других важных мононуклеотидов, таких как никотинамидмононуклеотид, флавиномононуклеотид и др.

Основной формой поли-2'-дезоксирибонуклеотида в клетке является ДНК, а поли-рибонуклеотида- РНК.

Синтез нуклеотидов.

Центральное звено биосинтеза мононуклеотидов- синтез пуриновых и пиримидиновых оснований. Почти все организмы (за исключением некоторых бактерий) способны синтезировать основания нуклеиновых кислот из простых предшественников.

Пуриновые нуклеотиды синтезируются путем последовательного присоединения к рибозо-5-фосфату компонентов пуринового ядра. Атомы пуринового ядра происходят из: глутамина, глицина, формиата, аспартата и CO₂. На одном из этапов синтеза образуется инозиновая кислота, из которой затем образуются аденилат и гуанилат.

Пиримидиновые нуклеотиды синтезируются начиная с пиримидинового кольца (в отличие от синтеза пуринов). На первом этапе происходит конденсация карбамоилфосфата с аспартатом с образованием N-карбамоиласпартата, который затем, в ряде ферментативных реакций превращается в уридин-5'-трифосфат. Уридин-5'-трифосфат присоединяет аминогруппу и превращается в цитидин-5'-трифосфат.

Регуляция биосинтеза как пуриновых, так и пиримидиновых нуклеотидов идет в основном по механизму обратной связи с аллостерическим ингибированием.

Витамины.

Витамины- органические соединения, которые должны в небольших количествах присутствовать в пище животных.

Витамины- жизненно важные вещества, присутствующие в организме в следовых количествах и необходимые для выполнения нормальных клеточных функций.

Витамины- предшественники некоторых коферментов.

Витамины можно назвать микрокомпонентами пищи, их суточная потребность определяется мили- или микрограммами (в отличие от них макрокомпоненты- углеводы, белки и жиры- должны потребляться в больших количествах).

В настоящее время известно 13 основных типов витаминов.

Термин "витамин" ввел Казимир Функ, он означает "необходимый для жизни амин" (поскольку первый обнаруженный витамин- В₁- является амином).

Витамины можно разделить на два класса: водорастворимые и жирорастворимые. К водорастворимым витаминам относятся: тиамин (В₁), рибофлавин (В₂), никотиновая кислота (РР), пантотеновая кислота, пиридоксин (В₆), биотин (Н), фолиевая кислота, кобаламин (В₁₂) и аскорбиновая кислота (С). К жирорастворимым витаминам относят: ретинол (А), токоферол (Е), кальциферол (D) (эргокальциферол (D₂) и холикальциферол (D₃)) и филлохинон (К₁). Жирорастворимые витамины представляют собой маслянистые, плохо растворимые в воде вещества. К витаминам в последнее время относят еще и карнитин (витамин В₁), цитрин (Р), инозитол и липоевую кислоту.

Водорастворимые витамины.

Тиамин (витамин В₁). Содержится в отрубях, дрожжах. Его недостаток в пище вызывает болезнь бери-бери (полиневрит) (нервное расстройство). В₁ входит в состав кофактора- тиаминпирофосфата (перенос альдгидных групп, фермент- пируватдекарбоксилаза).

Рибофлавин (В₂). Содержится в дрожжах, молоке, печени, почках. Недостаток в пище вызывает падение в весе, резь в глазах, болезненные ощущения в слизистых оболочках рта. В₂ входит в состав коферментов- флавиномононуклеотида (FMN) и флавинадениндинуклеотида (FAD) (перенос атомов водорода, фермент- сукцинатдегидрогеназа).

Никотиновая кислота (РР). Содержится в дрожжах, отрубях, печени, почках. Недостаток в пище приводит к заболеванию-пеллагре (поражения кожи, расстройства психики). РР в виде амида (никотинамида) входит в состав коферментов-никотинамидадениндинуклеотида (NAD) и никотинамидадениндинуклеотидфосфата (NADP) (перенос гидрид-иона, фермент- малатдегидрогеназа).

Пантотеновая кислота. Присутствует в дрожжах, всех растениях. Недостаток пантотеновой кислоты вызывает задержку роста, поражения кожи, расстройство нервной системы. Пантотеновая кислота входит в состав кофермента А (активирование и перенос ацилов, фермент- цитратсинтаза).

Пиридоксин (В₆). Содержится в дрожжах, пшеничных зародышах. Недостаток в пище приводит к нарушениям белкового обмена и синтеза жиров. В₆ входит в состав кофермента- пиридоксальфосфата (перенос аминогрупп, ферменты-аминотрансферазы).

Биотин (Н). В наибольших количествах содержится в печени, яйцах, дрожжах. Недостаток в пище приводит к поражению кожи и ногтей, выпадению волос. Витамин Н является активным компонентом простетической группы- биоцитина (перенос карбоксильных групп, фермент- пируваткарбоксилаза).

Фолиевая кислота. Содержится в листовых овощах, печени, дрожжах. Фолиевая кислота- выжный фактор роста, ее недостаток в пище ведет к задержке роста, анемии, лейкопении. Фолиевая кислота служит предшественником кофермента- тетрагидрофолиевой кислоты (перенос одноуглеродных групп: -СН₃, -СН₂-, -СН=, -СНО, -СН=NH, фермент- формамидоимидазол-карбоксамид-рибонуклеотид-синтетаза).

Кобаламин (В₁₂). Содержится в печени, почках, дрожжах. Недостаток в пище ведет к золкачественной анемии. Коферментная форма витамина- аденозилкобаламин (обмен атома водорода на другой радикал, фермент- метиласпартатмутаза).

Аскорбиновая кислота (С). Содержится в плодах шиповника, незрелых грецких орехах, черной смородине. Недостаток в пище приводит к возникновению цинги. Непосредственно аскорбиновая кислота играет роль кофактора в реакциях ферментативного гидроксирования остатков пролина.

Жирорастворимые витамины.

Ретинол (А). Наиболее богат витамином А рыбий жир и жир китов, листья люцерны, морковь. Недостаток в пище приводит к нарушениям роста, ослаблению зрения (куриной слепоте). Производное ретинола- ретиналь является активным компонентом в зрительном процессе (Родопсин- комплекс ретиная с белком- опсином).

Токоферол (Е). Содержится в хлопковом и других растительных маслах, пшеничных зародышах. Его недостаток ведет к шелушению кожи, мышечной слабости, дегенерации печени, стерильности (у крыс). Токоферол участвует в защите клеточных мембран от окисления кислородом.

Кальциферол (D). Содержится в дрожжах, печени трески, растительном масле (после его ультрафиолетового облучения). Недостаток витамина D в организме приводит к нарушению фосфорно-кальциевого обмена и процесса образования костей (рахит). Витамин D является предшественником гормона- 1,25-дигидроксихолекальциферола, регулирующего обмен Са²⁺.

Филлохинон (К). Содержится в большинстве высших растений. Недостаток витамина К ведет к нарушениям тромбообразования. Витамин К необходим для нормального образования белка плазмы крови- протромбина.