



БИОХИМИЯ

БИОХИМИЯ

Е.С.Северин,
Т.Л.Алейникова,
Е.В.Осипов



Учебная
литература
для студентов
медицинских
вузов



УДК 577.1(075.8)
ББК 28.902
С28

Федеральная программа книгоиздания России

Рецензенты: *А.П.Шенелев*, профессор, д-р мед. наук, зав. кафедрой общей и клинической биохимии № 1 Ростовского государственного медицинского университета; *Л.М.Пустовалова*, канд. мед. наук, доцент, зав. кафедрой общей и клинической биохимии № 2 Ростовского государственного медицинского университета; *Д.М.Никулина*, профессор, зав. кафедрой биохимии и клинической лабораторной диагностики Астраханской государственной медицинской академии.

Северин Е.С., Алейникова Т.Л., Осипов Е.В.
С28 Биохимия: Учебник. — М.: Медицина, 2000.— 168 с.: ил.—
(Учеб. лит. Для студентов мед. вузов). ISBN 5-225-04188-4

В учебнике рассматриваются основные положения классической биохимии. Приведены сведения о структуре и свойствах биомолекул, молекулярных основах физиологических функций человека. Цветные рисунки и схемы помогают восприятию и запоминанию сложного для изложения материала.

ББК 28.902

ISBN 5-225-04188-4

© Е.С.Северин, Т.Л.Алейникова,
Е.В.Осипов, 2000

Все права авторов защищены. Ни одна часть этого издания не может быть занесена в память компьютера либо воспроизведена любым способом без предварительного письменного разрешения издателя.

ПРЕДИСЛОВИЕ

Биологическая химия является одной из фундаментальных дисциплин, обеспечивающих подготовку квалифицированного врача. Восприятие и усвоение биохимии зависит от учебной системы кафедры, в том числе от качества и стиля учебника.

В данном учебнике авторы пытаются решить нелегкую задачу — создать краткий иллюстрированный, легко читаемый учебник. Эти качества отличают учебник от других имеющихся в настоящее время. В последний период создан ряд превосходных учебников, но они, как правило, объемны и излишне подробны, чем это необходимо для обучения студентов биохимии на 2-м курсе. Поэтому нередко студенты охотнее пользуются своими записями на занятии или методическими пособиями, в которых материал изложен кратко. В результате такой подход может привести к неадекватному восприятию предмета. Авторы ставили своей целью создание учебника, который бы не только соответствовал образовательному стандарту, но в то же время отвечал критерию минимальности и достаточности при обучении будущего врача.

В данном учебнике 11 глав, посвященных основам биологической химии. При изложении основных положений классической биохимии авторы стремились использовать минимальное количество формульного материала. Учебник знакомит студента также с новыми научными фактами и обобщениями. Так, в разделе, посвященном матричным биосинтезам, включены сведения по биоинженерии; описаны методы работы с генным материалом, в частности излагается метод полимеразной цепной реакции и его использование в диагностике различных болезней.

Отличие данного учебника состоит в том, что описание вопросов биологической химии иллюстрировано цветными схемами и рисунками. В результате достигается эффект такой наглядности, которая несомненно обеспечит легкость восприятия и запоминания даже непростого в изложении материала. Кроме того, схематическое изображение метаболизма помогает создать понятную картину взаимодействия метаболических путей, их согласованности и регуляции. Подобное восприятие предмета будет хорошей базой дальнейшего обсуждения нарушений метаболизма как основных причин заболеваний.

При изложении материала авторы использовали сокращения, принятые в современной научной и учебной литературе.

Авторы надеются, что краткость содержания, доступность изложения и яркие иллюстрации сделают данный учебник полезным не только для студентов медицинских вузов, но также для медицинских работников широкого профиля.

Член-корреспондент РАН профессор Е.С. СЕВЕРИН

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АТФ	— аденозинтрифосфат
АДП	— аденозиндифосфат
АМФ	— аденозинмонофосфат
БИФ	— бифункциональный фермент
DNA	— дезоксирибонуклеиновая кислота
FAD	— флавинадениндинуклеотид
GDP	— гуанозиндифосфат
GTP	— гуанозинтрифосфат
HS-CoA	— коэнзим А
mRNA	— матричная (информационная) РНК
NAD ⁺	— никотинамидадениндинуклеотид
PCR	— полимеразная цепная реакция
Q	— убихинон
RNA	— рибонуклеиновая кислота
tRNA	— транспортная РНК
UDP	— уридиндифосфат
UTP	— уридинтрифосфат

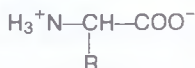
Белки, или протеины, количественно преобладают над всеми другими макромолекулами живой клетки. Белки участвуют во всех биологических процессах, выполняя разнообразные функции:

- ◆ ферментативный катализ;
- ◆ транспорт и накопление;
- ◆ сокращение и движение;
- ◆ иммунная защита;
- ◆ передача информации клетке;
- ◆ регуляция метаболизма;
- ◆ механическая опора и пр.

Каждый белок имеет уникальную, свойственную лишь ему структуру и в такой же мере уникальную функцию, отличающуюся от функций других белков.

1.1. СТРУКТУРА БЕЛКА

Белки — это высокомолекулярные соединения (полимеры), состоящие из α -аминокислот — мономерных звеньев, соединенных между собой пептидными связями. Все 20 аминокислот, встречающиеся в белках, — это α -аминокислоты, общим признаком которых является наличие аминогруппы $-\text{NH}_2$ и карбоксильной группы $-\text{COOH}$ у α -углеродного атома. α -**Аминокислоты** отличаются друг от друга структурой группы R и, следовательно, свойствами. Все аминокислоты можно сгруппировать на основе полярности R -групп, т.е. их способности взаимодействовать с водой при биологических значениях pH (табл. 1.1):



Пептидные связи образуются при взаимодействии α -аминогруппы одной аминокислоты с α -карбоксильной группой другой аминокислоты. Пептидная связь — амидная ковалентная связь, соединяющая аминокислотные остатки в цепочку. Следовательно, пептиды — это цепочки аминокислот. Полипептидная цепь имеет определенное направление, так как у нее разные концы: либо свободная α -аминогруппа (*N-конец*), либо свободная α -карбоксильная группа (*C-конец*).

Таблица 1.1. Свойства радикалов аминокислот

1. Неполарные (гидрофобные) R-группы

(в R-группе есть неполярные связи C-C, C-H)

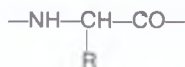
Глицин Gly, G	-H	Метионин Met, M	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_3$
Аланин Ala, A	$-\text{CH}_3$	Фенилаланин Phe, P	$-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$
Валин Val, V	$-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	Триптофан Trp, W	$-\text{CH}_2-\text{C}_8\text{H}_6\text{N}_2$
Лейцин Leu, L	$-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	Пролин Pro, P	$-\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_2$
Изолейцин Ile, I	$-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-\text{CH}_3$		

2. Полярные (гидрофильные) R-группы

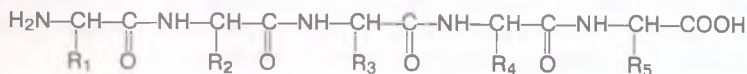
(в R-группе есть полярные связи C-O, C-N, O-H, S-H)

Полярные незаряженные R-группы		Полярные отрицательно заряженные R-группы	
Серин Ser, S	$-\text{CH}_2-\text{OH}$	Аспарагиновая кислота Asp, D	$-\text{CH}_2-\text{COO}^-$
Треонин Thr, T	$-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{OH}$	Глутаминовая кислота Gln, E	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COO}^-$
Цистеин Cys, C	$-\text{CH}_2-\text{SH}$	Полярные положительно заряженные R-группы	
Тирозин Tyr, T	$-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_4-\text{OH}$		
Аспарагин Asn, N	$-\text{CH}_2-\text{CONH}_2$	Лизин Lys, K	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_3^+$
Глутамин Gln, Q	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CONH}_2$	Аргинин Arg, R	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{C}(=\text{NH}_2^+)-\text{NH}_2$
		Гистидин His, H	$-\text{CH}_2-\text{C}_4\text{H}_3\text{N}_2^+$

Последовательность аминокислот в цепи изображают начиная с N-концевой аминокислоты. С нее же начинается нумерация аминокислотных остатков. В полипептидной цепи многократно повторяется группа:



Эта группа формирует пептидный остов. Следовательно, полипептидная цепь состоит из остова (скелета), имеющего регулярную, повторяющуюся структуру, и отдельных боковых цепей R-групп.



Первичная структура характеризуется порядком (последовательностью) чередования аминокислотных остатков в полипептидной цепи. Одинаковые по длине и аминокислотному составу пептиды могут быть различными веществами, потому что последовательность аминокислотных остатков в цепи у них разная. Последовательность аминокислот в белке уникальна и детерминируется генами. Даже небольшие изменения первичной структуры могут серьезно изменять свойства белка.

Было бы неправильно считать, что каждый аминокислотный остаток в белке необходим для сохранения нормальных структуры и функции белка. Например, выявлены многие варианты последовательностей гемоглобина, функционирующие нормально. Объяснение этого заключается в понимании конформации белка см. далее.

1.2. КОНФОРМАЦИЯ ПОЛИПЕПТИДИХ ЦЕПЕЙ

Функциональные свойства белков определяются их **конформацией**, т.е. расположением полипептидной цепи в пространстве. Уникальность конформации для каждого белка обусловлена его первичной структурой. В белках различают два уровня конформации пептидной цепи — вторичную и третичную структуры. *Вторичная структура* белков обусловлена способностью групп пептидной связи к водородным взаимодействиям: $C=O \dots H-N$.

Пептид стремится к конформации с максимум водородных связей. Однако возможность их образования ограничивается тем, что пептидная связь имеет частично двойной характер, поэтому вращение вокруг нее затруднено (рис. 1.1). Полипептидная цепь приобретает не произвольную, а строго определенную конформацию, фиксируемую водородными связями (рис. 1.2). Известны несколько способов укладки полипептидной цепи:

1) *α -спираль* образуется внутрицепочечными водородными связями между NH -группой одного остатка аминокислоты и CO -группой 4-го от нее остатка;

2) *β -структура* (складчатый лист) образуется межцепочечными водородными связями или связями между участками одной полипептидной цепи, изогнутой в обратном направлении;

3) *беспорядочный клубок* — это участки, не имеющие правильной периодической пространственной организации. Конформация этих участков также строго обусловлена последовательностью аминокислотных остатков.

Содержание α -спиралей и β -структур в разных белках различно: у фибриллярных белков имеется только спираль или только складчатый лист, а у глобулярных белков — отдельные фрагменты полипептидной цепи: либо спираль, либо складчатый лист,

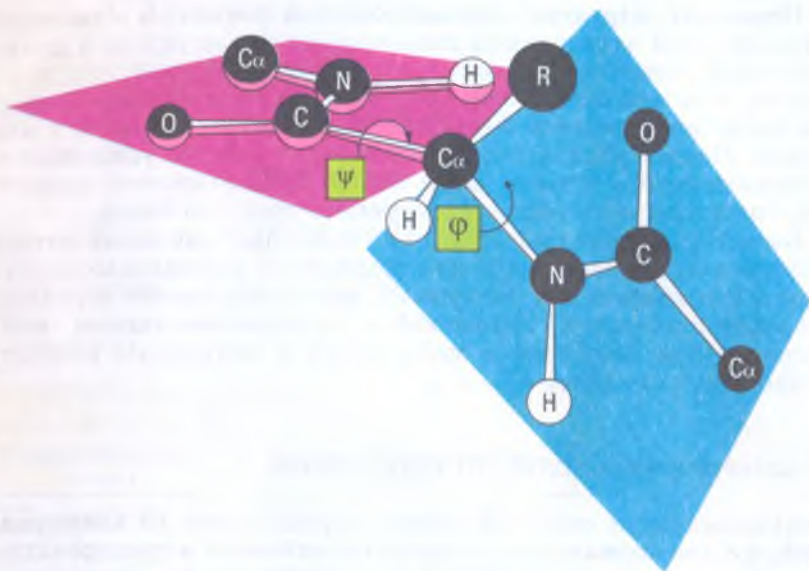


Рис. 1.1. Пептидная связь. По обеим сторонам жесткой пептидной связи возможно вращение.

ψ и ϕ — углы, характеризующие вращение относительно одинарных связей $C_\alpha-C$ и $C_\alpha-N$.

либо беспорядочный клубок. В одном и том же белке возможны все три способа укладки полипептидной цепи (рис. 1.3).

Третичная структура глобулярных белков представляет ориентацию в пространстве полипептидной цепи, содержащей α -спирали, β -структуры и участки без периодической структуры (беспорядочный клубок).

Дополнительное складывание скрученной полипептидной цепи образует компактную структуру (рис. 1.4). Это происходит прежде всего в результате взаимодействия между боковыми цепями (R-группами) аминокислотных остатков.

Существует несколько видов взаимодействия между R-группами, в основном нековалентного характера (рис. 1.5).

1) *электростатические силы* притяжения между R-группами, несущими противоположно заряженные ионогенные группы (ионные связи);

2) *водородные связи* между полярными (гидрофильными) R-группами;

3) *гидрофобные взаимодействия* между неполярными (гидрофобными) R-группами;

4) *дисульфидные связи* между радикалами двух молекул цистеина. Эти связи ковалентные. Они повышают стабильность третичной структуры, но не всегда являются обязательными для

правильного скручивания молекулы. В ряде белков они могут отсутствовать.

Доменные белки содержат обособленные глобулы — домены, образованные одной и той же пептидной цепью. Домены соединены пептидными перемычками. Вторичная и третичная укладки полипептидной цепи белка полностью определяются его первичной структурой.

Денатурация. Белковая молекула имеет нативную (функциональную) конформацию благодаря наличию большого числа слабых связей и быстро денатурирует при изменении условий среды, от которых эти силы зависят. Изменение температуры, ионной силы, рН, а также обработка органическими или некоторыми другими дестабилизирующими агентами могут нарушить нативную конформацию. Это нарушение называется де-

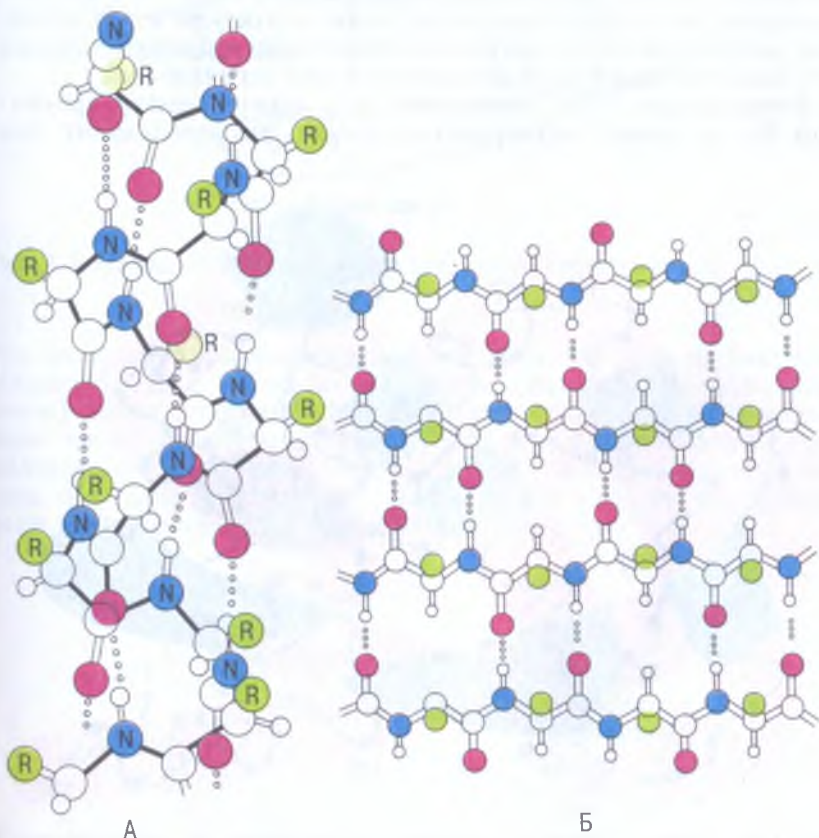


Рис. 1.2. Конформация полипептидных цепей.

А — α -спираль; Б — складчатый лист.



Рис. 1.3. Способы укладки полипептидной цепи.

натурацией. Денатурирующие вещества образуют связи с иминогруппами либо карбонильными группами пептидного остова или с некоторыми боковыми остатками аминокислот, подменяя собственными связями внутримолекулярные связи в белке, вследствие чего вторичная и третичная структуры изменяются. Эти изменения не затрагивают первичную структуру, однако при этом биологическая активность белка утрачивается.

Ренативация. При определенных условиях денатурированный белок может быть ренативирован. Это происходит при

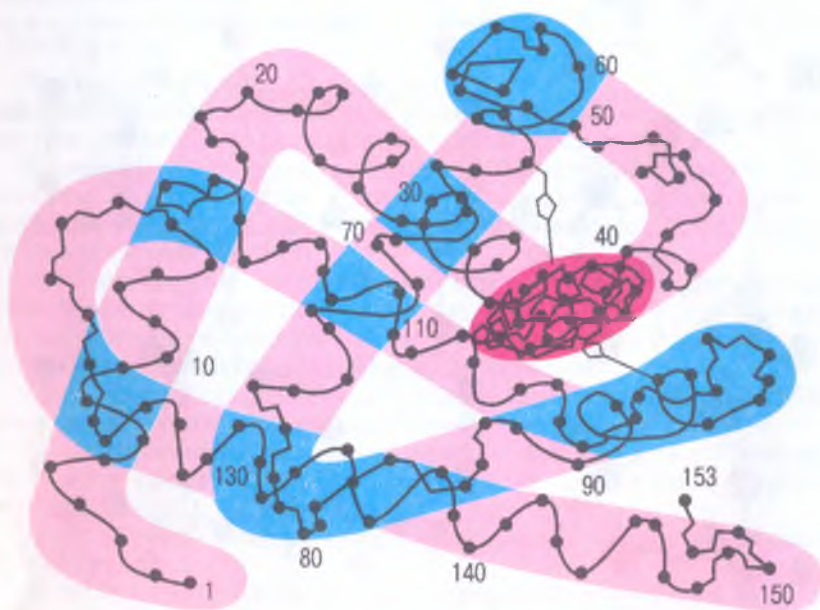


Рис. 1.4. Пространственная структура миоглобина. В полипептидной цепи показаны только α -углеродные атомы. Красным обозначен гем (небелковый компонент).

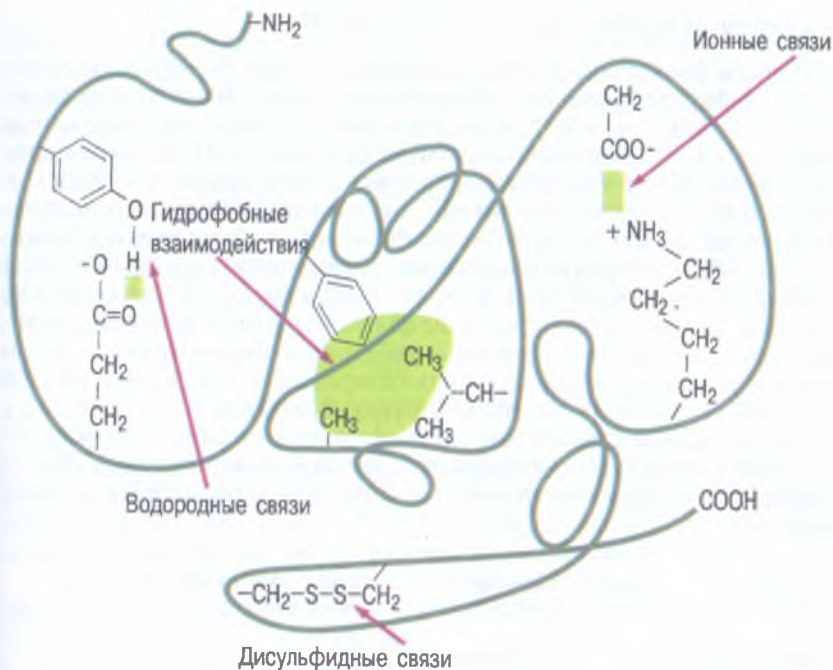


Рис. 1.5. Связи, стабилизирующие третичную структуру.

удалении денатурирующего или дестабилизирующего фактора. Например, при удалении мочевины (разрушает водородные связи) диализом полипептиды самопроизвольно восстанавливают свою нативную конформацию. То же происходит при медленном охлаждении денатурированного нагреванием белка (рис. 1.6). Это подтверждает, что характер укладки пептидной цепи предопределен первичной структурой.

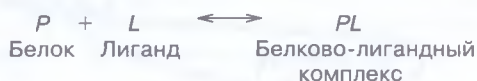


Рис. 1.6. Денатурация белка при нагревании и ренативация при медленном охлаждении.

1.3. ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ БЕЛКОВ С ЛИГАНДАМИ

Основным свойством белка, обеспечивающим его функцию, является избирательное взаимодействие с определенным веществом — **лигандом**. Лигандами могут быть вещества разной природы, как низкомолекулярные соединения, так и макромолекулы, в том числе белки. На белковых молекулах есть участки, к которым присоединяется лиганд, *центры связывания*, или *активные центры*. Центры связывания формируются из аминокислотных остатков, сориентированных определенным образом при формировании вторичной и третичной структур. Связи между белком и лигандом могут быть нековалентными и ковалентными. Высокая специфичность взаимодействия («узнавания») белка и лиганда обеспечивается комплементарностью структуры центра связывания пространственной структуре лиганда.

Под **комплементарностью** понимают химическое и пространственное соответствие активного центра белка и лиганда. Взаимодействие между белком P и лигандом L описывается уравнением:



$$K_{\text{дисс.}} = \frac{[P] \cdot [L]}{[PL]},$$

где $K_{\text{дисс.}}$ — константа диссоциации комплекса. Из уравнения равновесия реакции следует, что если $[P] = [PL]$, то $K_{\text{дисс.}} = [L]$.

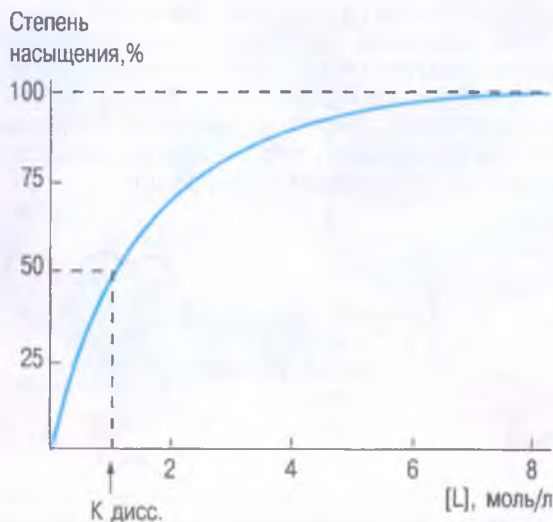


Рис. 1.7. График насыщения белка лигандом.

Равенство $[P]$ и $[PL]$ наступает при полунасыщении белка лигандом, т.е. 50 % молекул белка связаны с лигандом, а 50 % свободны. Значит, $K_{\text{дисс.}}$ равна такой концентрации L , при которой достигается насыщение белка на 50 %. Изменение концентрации PL при постоянной концентрации P и возрастающей концентрации L описывается гиперболической кривой. Максимальная величина PL означает, что весь белок связан с лигандом (кривая насыщения) (рис. 1.7). По кривой насыщения можно определить $K_{\text{дисс.}}$ и, следовательно, оценить сродство лиганда к белку: чем меньше $K_{\text{дисс.}}$, тем больше сродство L и P .

1.4. ЧЕТВЕРТИЧНАЯ СТРУКТУРА И КООПЕРАТИВНОСТЬ

В белках различают первичную, вторичную, третичную и четвертичную структуры (рис. 1.8). Четвертичная структура характерна для белков, построенных из двух или более пептидных цепей. Белки такого типа называются олигомерами.

Четвертичная структура — это и количество, и способ укладки полипептидных цепей (протомеров) в пространстве (рис. 1.9).

Протомеры связаны друг с другом посредством только нековалентных связей (ионных, водородных, гидрофобных) и взаимодействуют друг с другом только определенными участками своей поверхности (контактные участки). Взаимное «узнавание» контактных участков происходит по принципу компле-

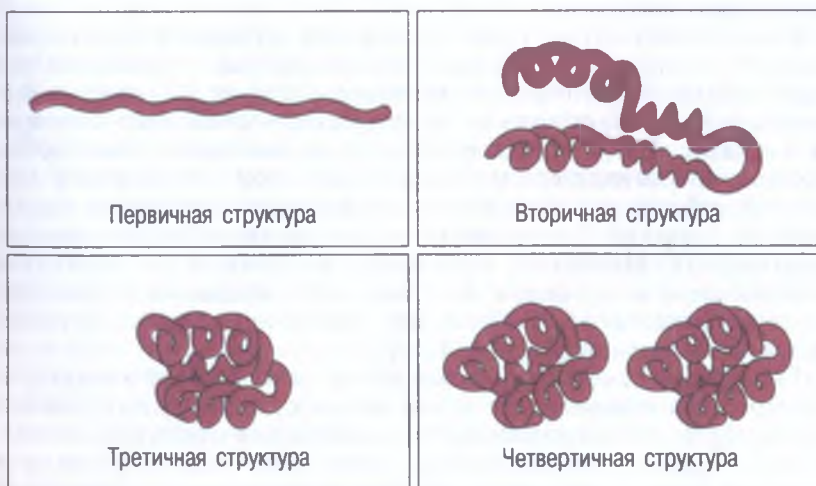


Рис. 1.8. Уровни структурной организации белка.

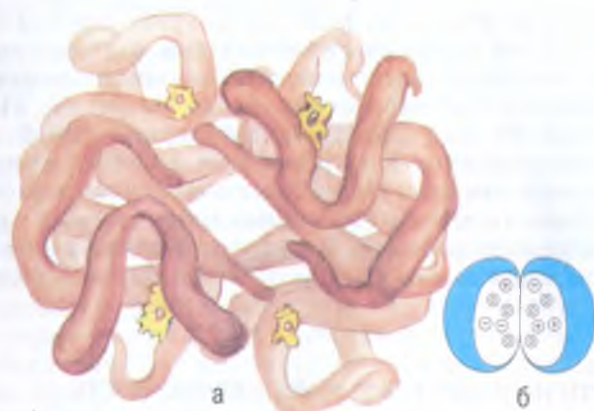


Рис. 1.9. Четвертичная структура гемоглобина.

а — модель молекулы гемоглобина, каждый протомер содержит гем (изображен в виде диска); б — схема комплементарности контактных поверхностей протомеров.

ментарности. Каждый протомер взаимодействует с другим во многих точках. Следовательно, ошибочные комплексы в олигомере практически невозможны.

Олигомерные белки способны взаимодействовать с несколькими лигандами в центрах, удаленных друг от друга. Связывание одного протомера с лигандом изменяет конформацию этого протомера, а также всего олигомера и, кроме того, сродство к другим лигандам. Таким образом, функциональная активность олигомерных белков может регулироваться аллостерическими лигандами.

Связь между структурой белка и его функцией можно рассмотреть на примере двух родственных белков — миоглобина и гемоглобина. Миоглобин — мономер (состоит из одной полипептидной цепи), основная его функция — запасание кислорода в тканях. Имея высокое сродство к кислороду, миоглобин легко присоединяет его и отдает только при интенсивной мышечной работе, когда парциальное давление кислорода падает ниже 10 мм рт.ст. Гемоглобин — тетрамер (состоит из четырех протомеров). Основная функция гемоглобина — обратимое связывание с кислородом в легких, где парциальное давление кислорода высокое и гемоглобин взаимодействует с четырьмя молекулами кислорода (рис. 1.10).

Гиперболическая форма кривой у миоглобина характерна для процесса связывания одной молекулы лиганда (в данном случае O_2) единственным местом в белковой молекуле, состоящей из одной полипептидной цепи. Сигмоидальная кривая у гемоглобина характерна для белков, содержащих несколько пептидных цепей и имеющих несколько мест связывания.

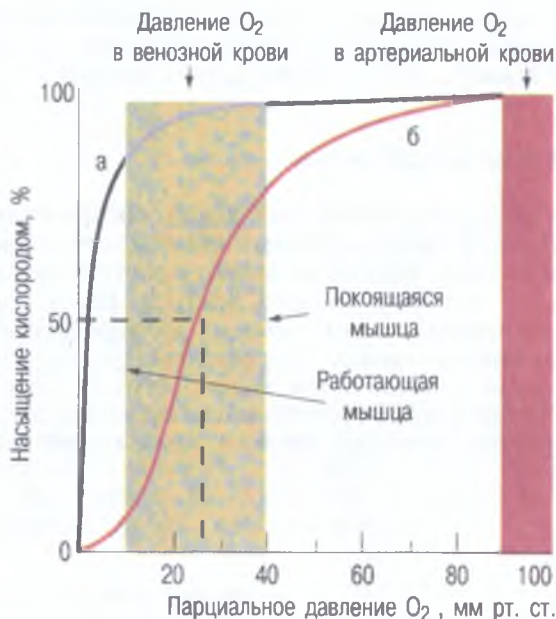


Рис. 1.10. Кривые насыщения кислородом миоглобина (а) и гемоглобина (б).

В данном случае проявляется положительный *кооперативный эффект*, который объясняется следующим образом: первый связанный лиганд (O_2) облегчает связывание второй молекулы O_2 со вторым гемом, что в свою очередь облегчает связывание третьей молекулы O_2 с третьим гемом, а это облегчает связывание последней молекулы O_2 .

В тканях CO_2 и H_2O , образующиеся при катаболизме пищевых веществ, взаимодействуют с гемоглобином и уменьшают его сродство к кислороду, что облегчает поступление кислорода в ткани. В эритроцитах имеется также аллостерический лиганд — 2,3-дифосфоглицерат, способный взаимодействовать с дезоксигемоглобином в местах, удаленных от центра связывания (аллостерические центры). Это препятствует обратному связыванию освободившегося кислорода с гемоглобином. Таким образом, связывание гемоглобина с аллостерическими лигандами в тканях при относительно высоком парциальном давлении обеспечивает поступление кислорода в ткани. Из рассмотренных примеров следует, что *аллостерический эффект* является результатом связывания лиганда со специфическим участком белка. Это вызывает значительное изменение в белковой молекуле, которая в свою очередь влияет на активность другого, пространственно удаленного участка. Кооперативные

изменения конформации олигомерных белков составляют основу механизма регуляции функциональной активности не только гемоглобина, но и многих других белков.

1.5. ПРОСТЫЕ И СЛОЖИНЫЕ БЕЛКИ

Белки, которые, кроме пептидных цепей, содержат компоненты неаминокислотной природы, называются **с л о ж н ы м и**. Небелковую часть таких белков называют простетической группой, а белковую — апопротеином. Сложный белок холопротеин может диссоциировать на компоненты: **холопротеин $\rightleftharpoons$ апопротеин + простетическая группа**. Направление реакции зависит от прочности связи компонентов холопротеина. Простетической группой могут быть органические вещества, ионы металлов, нуклеиновые кислоты, углеводы, липиды, гем и другие вещества (см. рис. 1.5; 1.9).

Функция ферментов — ускорение химических реакций. От других катализаторов ферменты отличаются тремя уникальными свойствами:

- ♦ высокой эффективностью действия;
- ♦ специфичностью действия;
- ♦ способностью к регуляции.

В соответствии с типами катализируемых реакций все ферменты разделены на шесть классов (табл. 2.1). В основе классификации ферментов лежит специфичность их действия. Для некоторых ферментов используются тривиальные названия (пепсин, трипсин, уреазы, каталаза и др.).

Т а б л и ц а 2.1. Классы ферментов

Класс	Тип катализируемой реакции
Оксидоредуктазы	Окислительно-восстановительные реакции
Трансферазы	Перенос отдельных групп атомов от донорской молекулы к акцепторной
Гидролазы	Гидролитическое (с участием воды) расщепление связей
Лиазы	Расщепление связей способом, отличным от гидролиза или окисления
Изомеразы	Взаимопревращение различных изомеров
Лигаза (синтетазы)	Образование связей в реакции конденсации двух различных соединений (используется энергия АТФ)

В живой клетке множество разнообразных соединений, но реакции между ними не беспорядочны, а образуют строго определенные метаболические пути, характерные для данной клетки. Индивидуальность клетки в большой степени определяется уникальным набором ферментов, который она генетически запрограммирована производить. Отсутствие даже одного фермента или какой-нибудь его дефект может иметь очень серьезные отрицательные последствия для организма.

Нарушения структуры какого-либо фермента, ведущие к снижению его активности, приводят к изменению скорости ме-

таболических путей, в которых участвует этот фермент. Такие нарушения почти всегда проявляются как болезни (энзимопатии). Повреждения ферментов бывают двух типов: наследственные дефекты строения фермента и повреждения, вызванные попадающими в организм токсичными веществами, ингибирующими фермент.

2.1. КОФАКТОРЫ ФЕРМЕНТОВ

Все ферменты относятся к глобулярным белкам, причем каждый фермент выполняет специфическую функцию, обусловленную присущей ему глобулярной структурой. Однако активность многих ферментов зависит от небелковых соединений, называемых **кофакторами**. Молекулярный комплекс белковой части — **апофермента** и кофактора называется **холоферментом**. Роль кофактора могут выполнять *ионы металлов* (Zn^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} , Cu^{2+} , K^{+} , Na^{+}) или органические соединения. Органические кофакторы обычно называют **коферментами**, некоторые из них являются производными витаминов (табл. 2.2). Тип связи между ферментом и коферментом может быть различным. Иногда они существуют отдельно и связываются друг с другом во время протекания реакции. В других случаях кофактор и фермент связаны постоянно, иногда прочными ковалентными связями. В последнем случае небелковая часть фермента называется *протетической группой*.

Т а б л и ц а 2.2. Некоторые коферменты и их роль

Кофермент	Роль в реакциях	Витамины-предшественники
NAD^{+} , $NADF^{+}$	Перенос водорода (электронов)	Никотиновая кислота — витамин PP
FAD	Перенос водорода (электронов)	Рибофлавин — витамин B ₂
Кофермент А	Активация и перенос ацильных групп	Пантотеновая кислота
Биотин	Связывание CO ₂	Биотин
Пиридоксаль-фосфат	Перенос аминокислот	Пиридоксин — витамин B ₆
Тетрагидрофолиевая кислота	Перенос одноуглеродных фрагментов	Фолиевая кислота

Роль кофактора сводится в основном к следующему:

- ♦ изменение третичной структуры белка и создание комплементарности между ферментом и субстратом;

- ◆ непосредственное участие в реакции в качестве еще одного субстрата. В этой роли обычно выступают органические коферменты. Их участие в реакции иногда сводится к тому, что они выступают как доноры или акцепторы определенных химических групп.

2.2. МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ ФЕРМЕНТОВ

Первоначальным событием при действии фермента является его специфическое связывание с лигандом — субстратом (S). Это происходит в области **активного центра**, который формируется из нескольких специфических R-групп остатков аминокислот, определенным образом ориентированных в пространстве (рис. 2.1).

У некоторых ферментов в активном центре располагается и кофактор. Одни R-группы активного центра принимают участие в связывании субстрата, другие — в катализе. Некоторые группы могут участвовать и в том, и в другом процессе. Детальный механизм действия каждого фермента уникален, но есть общие черты в «работе» ферментов, которые заключаются в следующем:

- ◆ высокая избирательность действия фермента обеспечивается тем, что субстрат связывается в активном центре фермента в нескольких точках и это исключает ошибки;
- ◆ активный центр располагается в углублении (в нише) — третичной конформации поверхности фермента и имеет комплементарную субстрату конфигурацию. В результате субстрат оказывается окруженным функциональными группами активного центра фермента и удаленным из водной среды.

Связывание субстрата с ферментом часто вызывает конформационные изменения, что ведет к требуемому (оптимальному) для протекания катализа расположению аминокислотных остатков и тем самым увеличивает специфичность фермент-субстратного взаимодействия (*индуцированное соответствие*). Максимальная активность фермента обусловлена оптимальной конформацией молекулы фермента в целом и активного центра в частности, поэтому даже небольшие изменения окружающих условий, которые затрагивают связывание субстрата или конформацию третичной структуры белка, будут влиять на скорость ферментативной реакции. Например, изменение pH приводит к изменению степени ионизации ионогенных групп фермента и, следовательно, ведет к перераспределению межрадикальных связей в третичной структуре. Оптимальное pH для каждого фермента означает некоторое оптимальное состояние его ионизации, соответствующее наилучшей комплементарности. Изменение температуры вызывает противоречивый эффект:

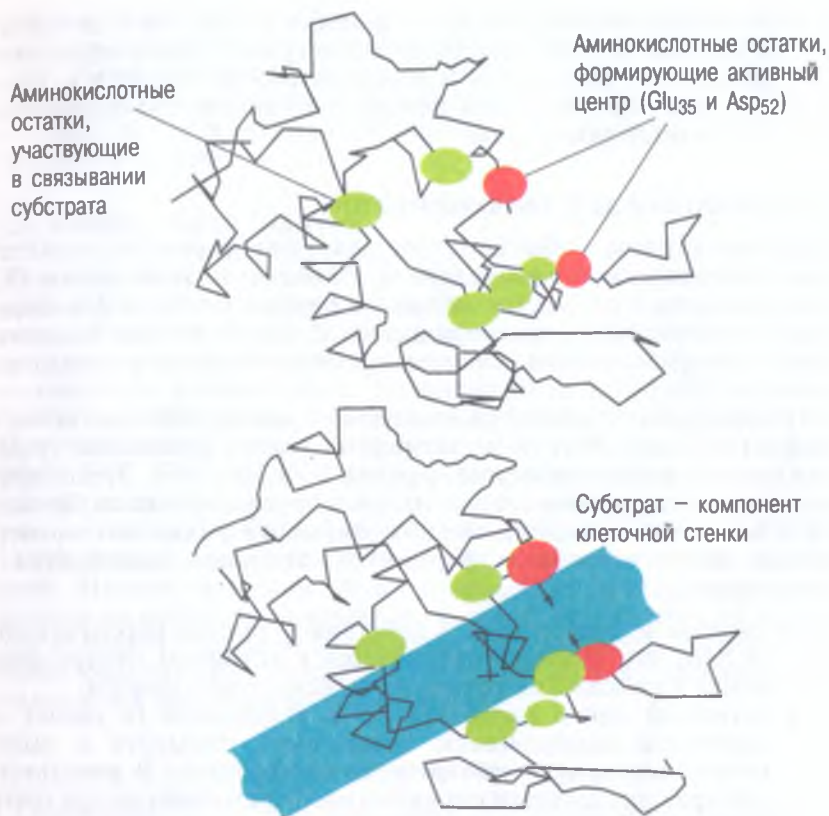


Рис. 2.1. Важнейшие аминокислотные остатки в активном центре лизоцима.

с одной стороны, при повышении температуры до 37—40 °С скорость ферментативной реакции увеличивается, что закономерно для катализа; с другой стороны, при температуре выше 50 °С начинается денатурация фермента.

2.3. КИНЕТИКА ФЕРМЕНТАТИВНЫХ РЕАКЦИЙ

Кинетика ферментативных реакций определяется образованием фермент-субстратного комплекса:



где E — фермент; S — субстрат; ES — фермент-субстратный комплекс, реакция образования которого обратима и характеризуется константами K1 и K-1 соответственно.

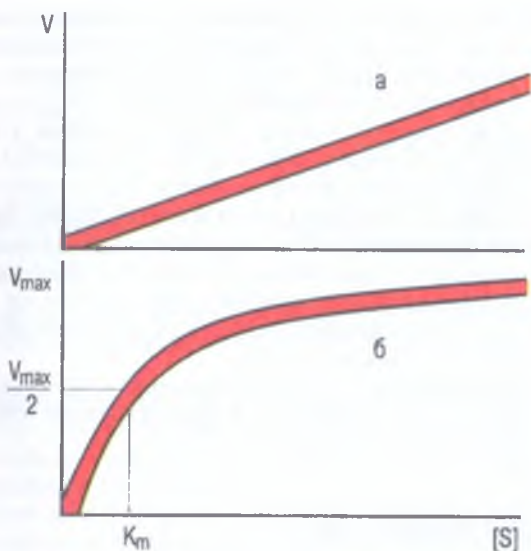


Рис. 2.2. Кинетика ферментативных реакций. Объяснение в тексте.

Распад фермент-субстратного комплекса протекает по уравнению первого порядка, он практически необратим и характеризуется константой скорости K_2 . Эта стадия процесса является более медленной, т.е. лимитирующей.

Начальная скорость (V_o). При обычных условиях, когда $[S] > [E]$, начальная скорость прямо пропорциональна концентрации фермента (рис. 2.2, кривая а). При фиксированной концентрации фермента скорость реакции стремится к максимальному значению ($V_{\max}$), в то время как концентрация субстрата растет (рис. 2.2, кривая б). Насыщение фермента субстратом наступает, когда весь фермент включен в фермент-субстратный комплекс.

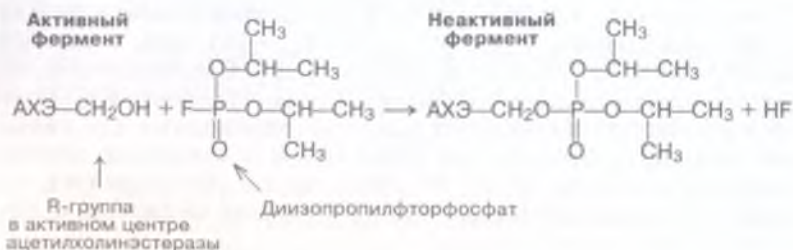
Константа Михаэлиса (K_m). В случае, когда все активные центры заняты и свободные молекулы фермента отсутствуют, $V_o = V_{\max}$. При таком условии говорят о 100 % насыщении. При 50 % насыщении, когда $V_o = 1/2 V_{\max}$, из уравнения Михаэлиса — Ментен следует: $V_{\max}/2 = V_{\max} [S]/K_m + [S]$, или, в преобразованном виде, $K_m + [S] = 2 [S]$; $K_m = [S]$. Следовательно, K_m имеет размерность концентрации. Таким образом, K_m — это такая концентрация субстрата, которая необходима для связывания половины имеющегося фермента и достижения половины максимальной скорости. Из этого определения следует, что K_m можно использовать для оценки сродства фермента к данному субстрату.

Оценить субстратную специфичность можно по правилу: чем ниже значение K_m , тем лучше (предпочтительнее) субстрат для данного фермента. K_m и V_{max} — кинетические параметры, отражающие механизмы действия фермента. V_{max} отражает эффективность действия фермента. Для сравнения каталитической активности различных ферментов необходимо выразить V_{max} через количество каждого фермента. Такое преобразование приводит к величине, которую называют **молярной активностью (число оборотов фермента)**. Она выражается числом молей субстрата, реагирующего с одним молем фермента за единицу времени. Активность фермента можно выразить также в единицах активности (Е). Одна единица катализирует превращение субстрата со скоростью 1 мкмоль/мин.

Удельная активность — это активность фермента в единицах, деленная на 1 мг белка в исследуемом образце фермента.

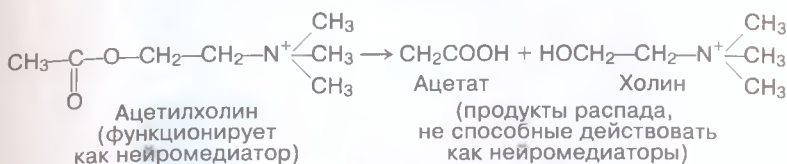
2.4. ИНГИБИТОРЫ ФЕРМЕНТОВ

Активность ферментов может снижаться в присутствии определенных химических веществ — ингибиторов. В зависимости от характера действия фермента ингибиторы бывают обратимыми и необратимыми. Подобное деление основано на прочности связывания ингибитора с ферментом. Другой способ деления ингибиторов основывается на положении места их связывания в молекуле белка. Одни из них связываются с ферментом в активном центре, другие могут связывать и блокировать функциональную группу молекулы фермента в удалении от активного центра. При этом они необратимо, часто ковалентно, связываются с ферментом или фермент-субстратным комплексом и необратимо изменяют нативную конформацию. Это, в частности, объясняет действие Hg^{2+} , Pb^{2+} , соединений мышьяка. Ингибиторы такого рода могут быть полезны при изучении природы ферментативного катализа. Например, диизопропилфторфосфат ингибирует ферменты, имеющие серин в активном центре. Таким ферментом может быть ацетилхолинэстераза.



Ацетилхолинэстераза катализирует следующую реакцию:

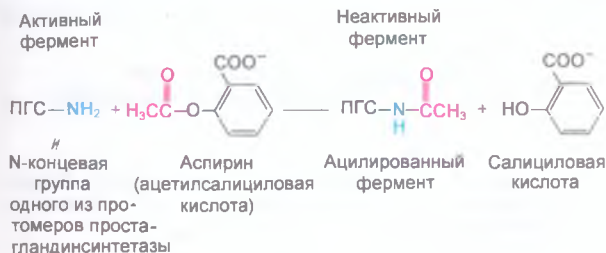
Ацетилхолинэстераза



Реакция происходит каждый раз после проведения нервного импульса, прежде чем второй импульс будет передан через синапс.

Диизопропилфторфосфат — одно из отравляющих веществ нервно-паралитического действия, так как ингибирование ацетилхолинэстеразы приводит к утрате способности нейронов проводить нервные импульсы.

Терапевтическое действие аспирина как жаропонижающего и противовоспалительного средства объясняется тем, что аспирин ингибирует один из ферментов, катализирующий синтез простагландинов (ПГ). Простагландины — вещества, участвующие в развитии воспаления. Ингибирование обусловлено ковалентной модификацией одной из аминокислот фермента — простагландинсинтетазы.



Обратимые ингибиторы. Существует два типа подобных ингибиторов — конкурентные и неконкурентные. *Конкурентный ингибитор* конкурирует с субстратом за связывание с активным центром, так как ингибитор и субстрат имеют сходные структуры (рис. 2.3).

В отличие от субстрата связанный с ферментом конкурентный ингибитор не подвергается ферментативному превращению. Более того, образование EI уменьшает число молекул свободного фермента, и скорость реакции снижается.

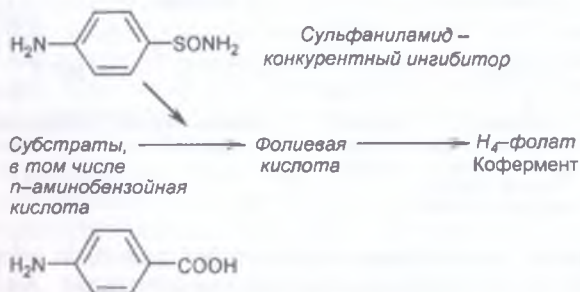
Вследствие того что конкурентный ингибитор обратимо связывается с ферментом, можно сдвинуть равновесие реакции $E + I \rightleftharpoons EI$ влево простым увеличением концентрации субстрата. Конкурентными ингибиторами являются многие химиотерапев-



Рис. 2.3. Конкуренентное ингибирование.

S — субстрат; I — ингибитор (своей трехмерной структурой похож на субстрат). Связывание S и I происходит взаимоисключающим образом. Образуется либо ES, либо EI, но не EIS.

тические средства: например, сульфамидные препараты, используемые при инфекционных болезнях. Сульфаниламиды — это структурные аналоги *p*-аминобензойной кислоты, из которой в клетке микроорганизма синтезируется кофермент (H_4 — фолат), участвующий в биосинтезе нуклеиновых оснований. Нарушение синтеза нуклеиновых кислот вызывает гибель микроорганизмов.



Неконкурентное обратимое ингибирование не может быть снижено или устранено повышением концентрации субстрата, так как неконкурентные ингибиторы присоединяются к ферменту не в активном центре, а в другом месте (рис. 2.4). Связывание изменяет конформацию фермента и нарушает комплементарность к субстрату. Неконкурентные ингибиторы могут обратимо связываться как со свободным ферментом, так и с комплексом ES. Наиболее важными неконкурентными ингибиторами являются образующиеся в живой клетке промежуточные продукты метаболизма, способные обратимо связываться с определенными участ-

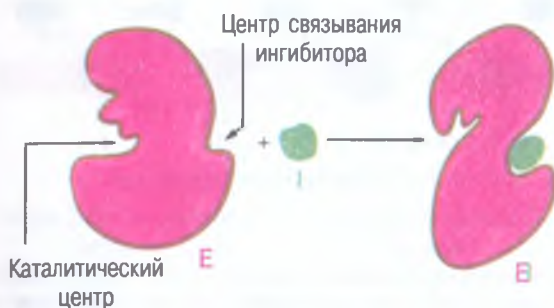


Рис. 2.4. Неконкурентное обратимое ингибирование: $E+S \leftrightarrow ES \rightarrow E+P$; $E+I \leftrightarrow EI$; $ES+I \leftrightarrow ESI$.

ками ферментов (аллостерические центры) и изменять их активность, что является одним из способов регуляции метаболизма.

Исследование влияния ингибиторов используется при изучении механизма действия фермента, кроме того, помогает в поисках более эффективных лекарственных средств, так как лечебное воздействие многих из них обусловлено тем, что они являются ингибиторами определенных ферментов. Структурные аналоги коферментов тоже могут быть ингибиторами. Кинетические тесты позволяют отличить конкурентное ингибирование от неконкурентного (рис. 2.5).

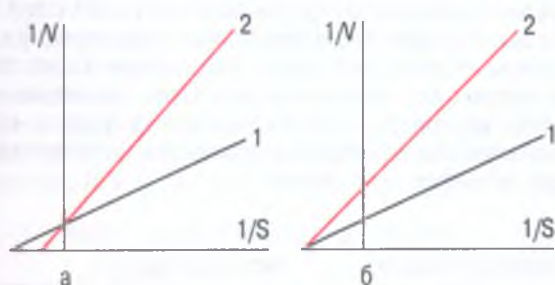


Рис. 2.5. Зависимость $1/V$ от $1/S$ без ингибитора (1) и в присутствии ингибитора (2).

а — конкурентное ингибирование; б — неконкурентное ингибирование.

2.5. РЕГУЛЯЦИЯ ДЕЙСТВИЯ ФЕРМЕНТОВ

В живой клетке скорость ферментативных реакций находится под строгим контролем, что позволяет каждой метаболической цепочке реакций постоянно изменяться, приспосабливаясь к меняющимся потребностям клетки в продукте (рис. 2.6).



Рис. 2.6. Метаболическая цепь.

A, B, C, D — метаболиты, E₁, E₂, E₃, E₄ — ферменты.

В каждой метаболической цепи есть фермент, который задает скорость всей цепочке реакций. Он называется регуляторным ферментом. Существует несколько способов регуляции действия ферментов. Основными из них являются:

- ◆ изменение активности фермента при его постоянной концентрации;
- ◆ изменение концентрации фермента в результате ускорения (индукции) или торможения (репрессии) синтеза фермента.

Аллостерическая регуляция. Фермент изменяет активность с помощью нековалентно связанного с ним эффектора. Связывание происходит в участке, пространственно удаленном от активного (каталитического) центра. Это связывание вызывает конформационные изменения в молекуле белка, приводящие к изменению определенной геометрии каталитического центра. Активность может увеличиться — это активация фермента или уменьшиться — это ингибирование (рис. 2.7).

«Сообщение» о присоединении аллостерического активатора передается посредством конформационных изменений каталитической субъединицы, которая становится комплементарной субстрату, и фермент «включается». При удалении активатора фермент вновь переходит в неактивную форму и «выключается». Аллостерическая регуляция является основным способом регуляции метаболических путей.

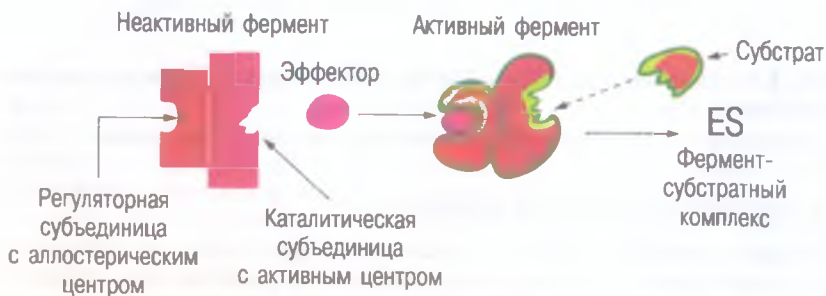


Рис. 2.7. Аллостерическая активация фермента.

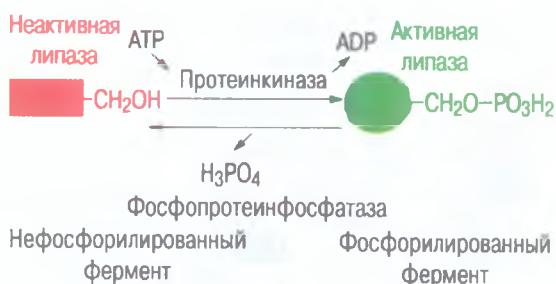


Рис. 2.8. Регуляция активности липазы.

Регуляция активности ферментов путем фосфорилирования-дефосфорилирования. Фермент изменяет активность в результате ковалентной модификации (рис. 2.8). В этом случае фосфатная группа OPO_3^{2-} присоединяется к гидроксильным группам в остатках серина, треонина или тирозина. В зависимости от природы фермента фосфорилирование может его активировать или, наоборот, инактивировать. Реакция присоединения фосфатной группы и ее отщепление катализируют специальные ферменты — протеинкиназы и протеинфосфатазы.

Регуляция путем ассоциации-диссоциации субъединиц в олигомерном ферменте. Этот процесс иногда начинается с ковалентной или нековалентной модификации одной из субъединиц. Например, фермент протеинкиназа в неактивной форме построена на тетрамер R_2C_2 (R и C — разные субъединицы). Активная протеинкиназа представляет собой субъединицу C, для освобождения которой необходима диссоциация комплекса. Активация фермента происходит при участии cAMP (циклоаденозинмонофосфорная кислота), которая способна присоединиться к субъединице R, после чего изменяется конформация, комплементарность субъединиц R и C и происходит диссоциация комплекса:



Циклический АМР является продуктом АТР, превращение которой катализирует фермент *аденилатциклаза*:



2.6. АДЕНИЛАТЦИКЛАЗНАЯ СИСТЕМА

Аденилатциклаза и протеинкиназа катализируют взаимосвязанные реакции, которые составляют единую регуляторную систему (рис. 2.9).

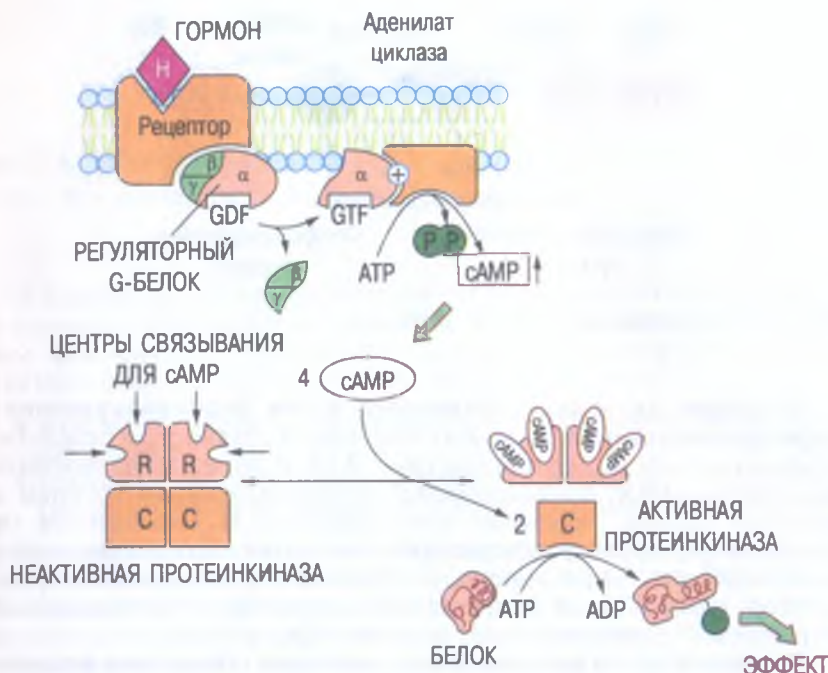


Рис. 2.9. Аденилатциклазная система.

R — регуляторная субъединица; C — каталитическая субъединица.

С помощью этой системы в клетку передаются сигналы из внеклеточной среды и метаболизм клетки изменяется в нужном направлении. Внеклеточным вестником сигнала могут быть разные молекулы, в том числе и гормоны. Эти молекулы не проникают внутрь клетки, но «узнаются» мембранными рецепторами. При активации аденилатциклазы происходит следующее:

- изменение конформации рецептора после присоединения к нему сигнальной молекулы и увеличение его сродства к регуляторному G-белку. В результате образуется комплекс рецептора и протомеров G-белка;
- образование этого комплекса приводит к изменению конформации α -протомеров G-белка, который теряет сродство к GDF, и происходит замена GDF на GTF. В результате комплекс протомеров G-белка распадается;
- α -протомер взаимодействует с аденилатциклазой, что ведет к изменению ее конформации и как следствие этого — к активации;
- после этого активная аденилатциклаза катализирует синтез cAMP, который в свою очередь активирует cAMP-зависи-

мую протеинкиназу. Активация последней связана с диссоциацией комплекса входящих в нее протомеров после присоединения cAMP.

Протеинкиназа фосфорилирует соответствующие ферменты, изменяет их активность и, следовательно, скорость метаболизма в клетке.

Активация ферментов путем частичного протеолиза. Некоторые ферменты синтезируются первоначально неактивными и лишь после секреции из клетки переходят в активную форму. Неактивный предшественник называется *проферментом*. Активация профермента включает модификацию первичной структуры с одновременным изменением конформации. Например, *трипсиноген*, синтезированный в поджелудочной железе, в кишечнике превращается в трипсин путем удаления фрагмента с N-конца:



Расщепление определенных пептидных связей «запускает» новые взаимодействия R-групп по всей молекуле, приводя к новой конформации, в которой R-группы активного центра занимают оптимальное положение для катализа.

3.1. СТРУКТУРА НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Нуклеиновые кислоты представляют собой линейные полимеры нуклеозидмонофосфатов, т.е. полинуклеотиды. Нуклеотиды построены из трех компонентов: пиримидинового или пуринового основания, пентозы и фосфорной кислоты (рис. 3.1). Между собой нуклеотиды связаны в цепь фосфодиэфирной связью. Она образуется за счет этерификации OH -группы 3-го углерода пентозы одного нуклеотида и OH -группы фосфатного остатка другого нуклеотида. В результате один из концов полинуклеотидной цепи заканчивается свободным фосфатом (Р-конец или 5'-конец

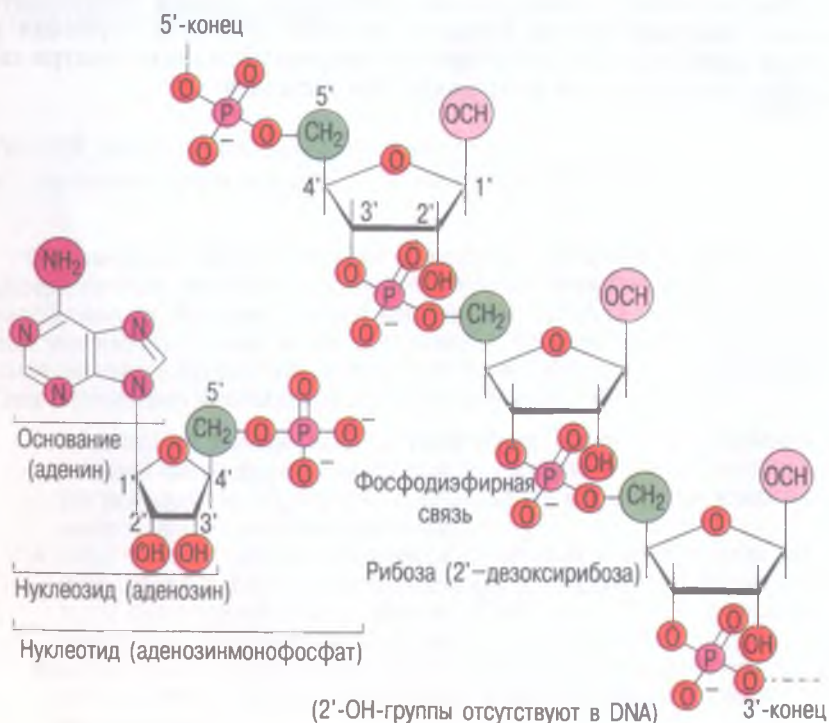


Рис. 3.1. Типичный нуклеотид (AMP). Структура полинуклеотидной цепи.

нец). На другом конце цепи имеется неэстерифицированная ОН-группа 3-го углерода пентозы (3'-конец) (см. рис. 3.1).

Первичная структура нуклеиновых кислот определяется как последовательность нуклеотидных остатков в полимерной цепи. Многообразие молекул DNA и RNA объясняется их первичной структурой. Как многие другие биополимеры, нуклеиновые кислоты имеют еще и *вторичную структуру*, под которой понимают их пространственную организацию.

3.2. ВТОРИЧНАЯ СТРУКТУРА DNA

Молекула DNA представляет собой правозакрученную спираль, состоящую из двух полинуклеотидных цепей с антипараллельным ходом. Это означает, что 3'-конец одной цепи соответствует 5'-конец другой цепи и наоборот (рис. 3.2).

Остатки оснований направлены внутрь спирали. На один виток спирали приходится 10 пар оснований. Цепи DNA неидентичны, так как нуклеотидный состав их различен, однако первичная структура одной цепи предопределяет нуклеотидную последовательность другой цепи, т.е. они *комплементарны* друг другу. Это связано с существованием *комплементарных пар оснований* (рис. 3.3).

Физико-химическую основу комплементарности составляют водородные связи, которые могут образоваться только между аденином одной цепи и тимином другой, противоположно направленной цепи (пара А—Т) и аналогично между гуанином и цитозином (пара G—C).

Вторичная структура RNA несколько иная. Молекула RNA состоит из одной полинуклеотидной цепи. Отдельные участки этой цепи (до 20—30 нуклеотидных пар) могут быть комплементарны между собой и образуют спиральную структуру за счет связей между аденином и урацилом (пара А—U) и гуанином и цитозином (пара G—C). Между спирализованными участками располагаются одноцепочечные петли. Существует несколько разновидностей RNA: матричная (mRNA), транспортная (tRNA), рибосомная (rRNA).

На рис. 3.4 приведена структура tRNA, у которой спирализованные участки определяют специфическую пространственную кон-



Рис. 3.2. Структура двойной спирали DNA.

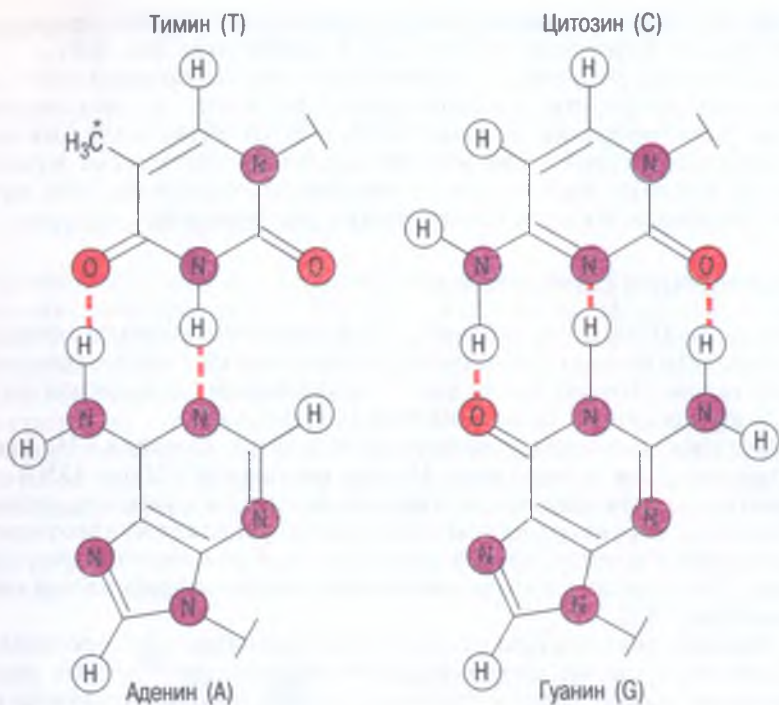


Рис. 3.3. Комплементарные пары оснований. CH_3 -группа в тимине (Т) замещается на Н в урациле (U).

формацию — фигуру клеверного листа. tRNA имеет на 3'-конце ССА для связывания аминокислоты, а в средней части молекулы — антикодонный участок — последовательность нуклеотидов, обеспечивающую взаимодействие tRNA с кодоном mRNA.

3.3. ДЕНАТУРАЦИЯ И РЕНАТУРАЦИЯ DNA

Вторичная структура DNA стабилизируется лишь слабыми водородными и гидрофобными связями. Следовательно, DNA способна к денатурации (плавлению) при повышении температуры до 80–90 °C и ренатурации при последующем охлаждении (рис. 3.5).

При денатурации двухспиральная молекула DNA разделяется на отдельные цепи. Температура, при которой 50 % DNA денатурировано, называется температурой плавления и зависит от качественного состава DNA. Пары G—C стабилизированы тремя водородными связями, а пары A—T — только двумя, поэтому чем больше доля пар G—C, тем стабильнее молекула. При дена-

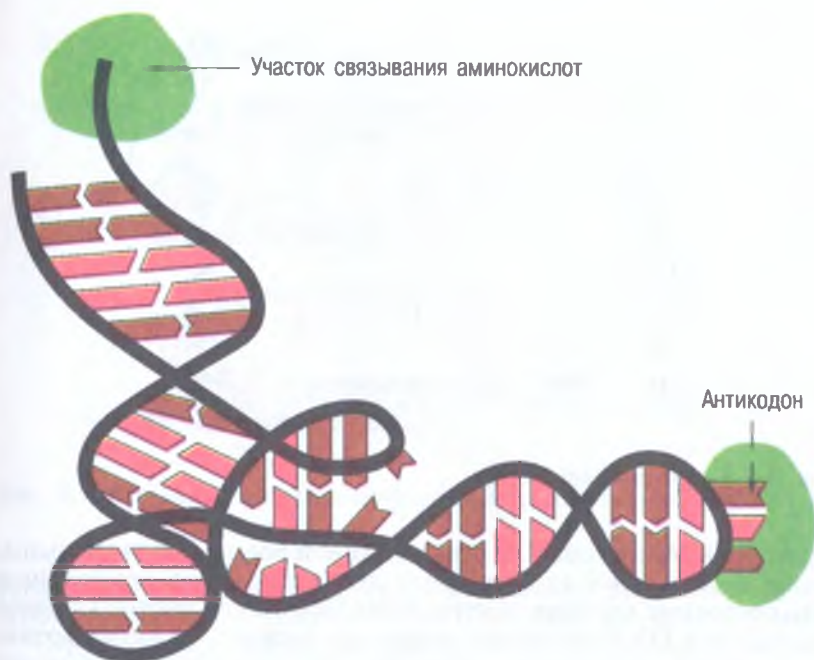


Рис. 3.4. Трехмерная пространственная структура tRNA.



Рис. 3.5. Денатурация и ренатурация DNA.

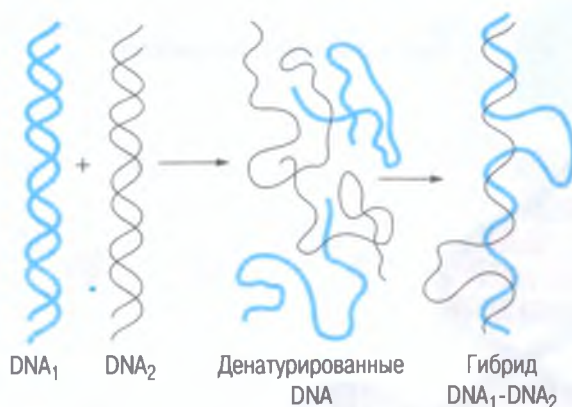


Рис. 3.6. Гибридизация DNA.

турации DNA поглощение света с длиной волны 260 нм повышается (*гиперхромный эффект*), что позволяет легко контролировать состояние вторичной структуры DNA. Если раствор денатурированной DNA медленно охлаждать (отжиг), то вновь возникают слабые связи между комплементарными цепями и может получиться спиральная структура, идентичная исходной (нативной). На способности DNA к денатурации и ренатурации основан метод молекулярной гибридизации, который применяют для изучения строения нуклеиновых кислот (рис. 3.6).

Препараты DNA, выделенные от особей, принадлежащих к разным видам, образуют несовершенные гибриды. Спиральная структура получается не по всей длине молекулы. В неспирализованных участках полинуклеотидные цепи не комплементарны друг другу. Следовательно, DNA особей неидентична.

Нуклеазы. Нуклеиновые кислоты гидролизуются под действием нуклеаз — DNA и RNA. Гидролиз может быть внеклеточным или внутриклеточным (специфическое функциональное расщепление).

Рестрикционные нуклеазы (рестриктазы). Бактерии продуцируют набор нуклеаз, которые разрезают нити DNA в определенных сайтах. *Сайты* представляют собой определенную последовательность нуклеотидов, читаемую одинаково в обоих направлениях. Примеры последовательностей, узнаваемых *E.coli*, *Bacillus amyloliquefaciens*, показаны на рис. 3.7. Разные рестриктазы узнают разные последовательности. Рестриктазы бактерий участвуют в защите от чужеродной DNA, но, кроме того, они используются при изучении первичной структуры DNA.

Молекула DNA животных и человека огромных размеров — 130 млн нуклеотидных пар имеют длину около 4 см. Такие молекулы неудобны для исследования. С помощью набора рестриктаз,

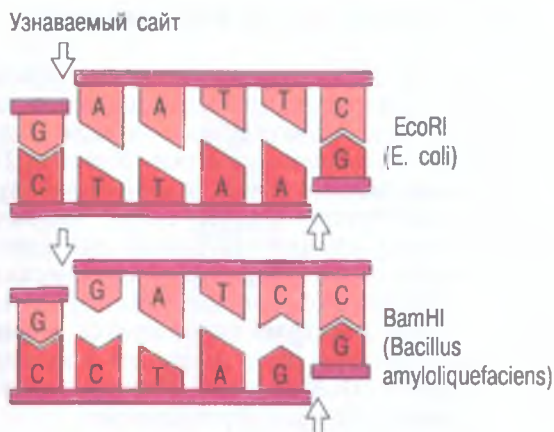


Рис. 3.7. Примеры сайтов, узнаваемых рестрикционными нуклеазами.

узнающих разные последовательности, можно разрезать молекулу DNA на фрагменты желаемой длины, удобной для исследования.

Структурная организация хроматина. В состав хроматина входят DNA и гистоны — белки с высоким содержанием лизина и аргинина. Предполагают, что аминокислотные радикалы этих аминокислот взаимодействуют с кислотными группами DNA. Цепи DNA обвивают глобулу гистонов, образуя четковидную структуру нуклеосом, которые связаны между собой линкерной цепочкой DNA. В дальнейшем эти нуклеосомы упаковываются в крупные хроматиновые структуры, благодаря чему достигается компактная их укладка в хромосомах (рис. 3.8).

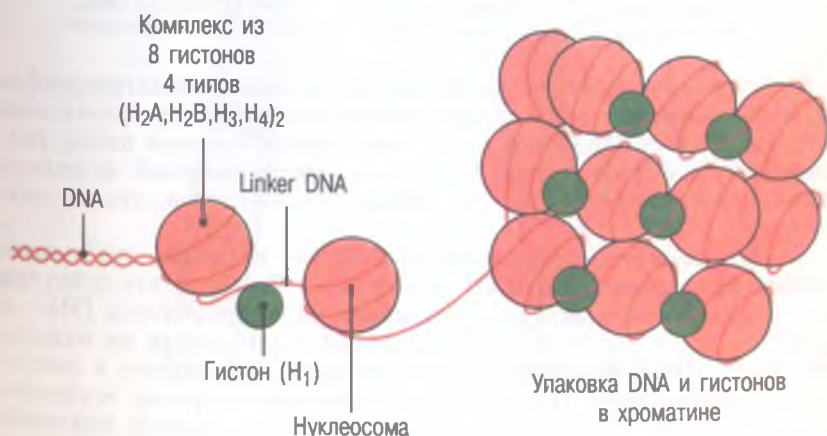


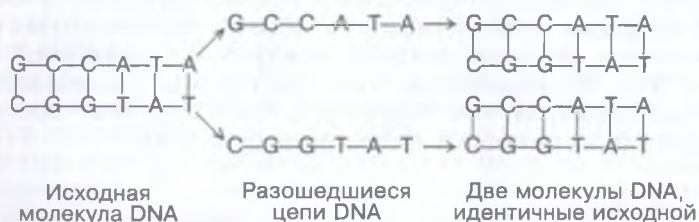
Рис. 3.8. Упаковка DNA и гистонов с образованием хроматина.

3.4. ПОТОК ИНФОРМАЦИИ ОТ DNA К СТРУКТУРЕ БЕЛКА

Нуклеиновые кислоты и белки называют информационными молекулами, так как в чередовании их мономеров заложен определенный смысл. Последовательность нуклеотидов в DNA определяет структуру всех белков клетки. Участки DNA, кодирующие определенные белки (гены), копируются (транскрибируются) в виде полинуклеотидной цепи матричной RNA (mRNA), которая затем служит матрицей для синтеза белка. Таким образом, генетическая информация, записанная в DNA (в генотипе), обеспечивает образование фенотипических признаков клетки, т.е. **генотип трансформируется в фенотип**. Это направление потока информации включает три типа матричных синтезов: 1) синтез DNA — репликацию; 2) синтез RNA — транскрипцию; 3) синтез белка — трансляцию.

3.5. РЕПЛИКАЦИЯ DNA

Репликация DNA (воспроизведение генотипа) происходит по *полуконсервативному механизму*. Каждая нить двойной спирали выступает в роли матрицы для синтеза новой цепи. Следовательно, вновь образованные двухспиральные молекулы состоят из одной «новой» и одной «старой» цепи.



Субстратами синтеза являются дезоксирибонуклеозидтрифосфаты, выполняющие роль строительного материала и источников энергии. Для репликации DNA необходим большой набор разнообразных ферментов и белков — *репликативный комплекс*. Далее описана функция основных компонентов этого комплекса.

Белки, раскручивающие спираль DNA, и белки, стабилизирующие разделенные нити DNA (рис. 3.9). В результате действия этих белков образуется **репликативная вилка** — участок DNA, в пределах которого спираль раскручена и разделена на отдельные цепи. **DNA-полимераза** обеспечивает включение в растущую «новую» цепь нуклеотидов, комплементарных «старой», т.е. матричной цепи. DNA-полимераза не способна начинать синтез новой цепи с ее первого нуклеотида. Она может удли-

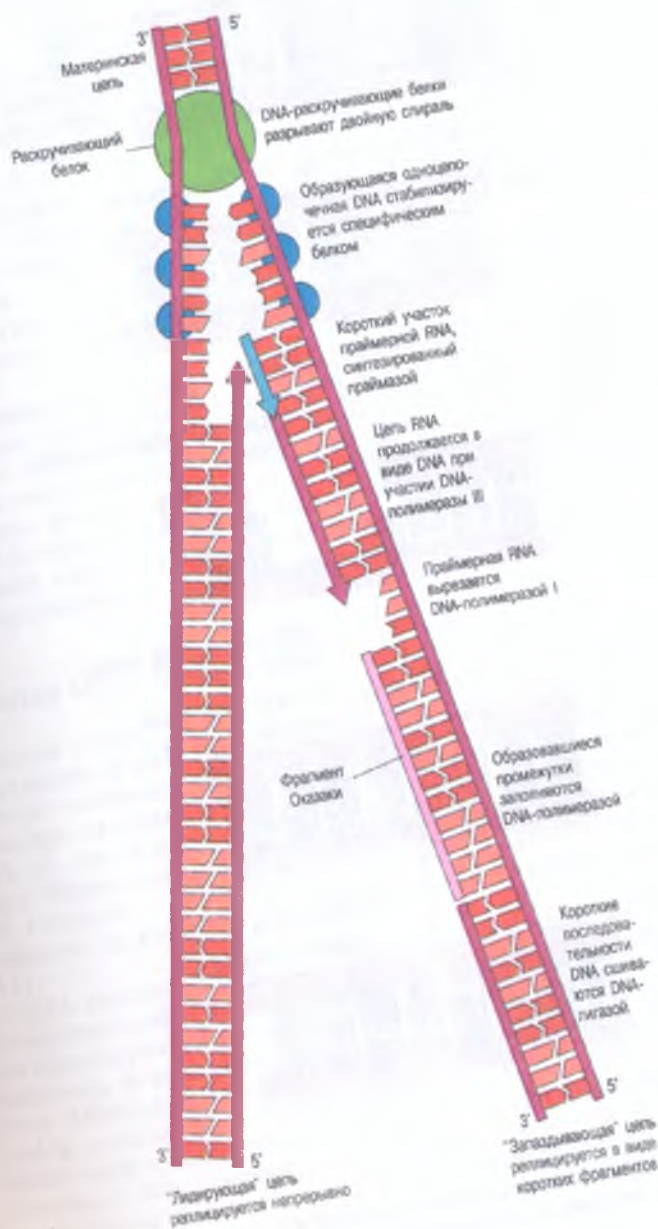


Рис. 3.9. Репликация DNA.

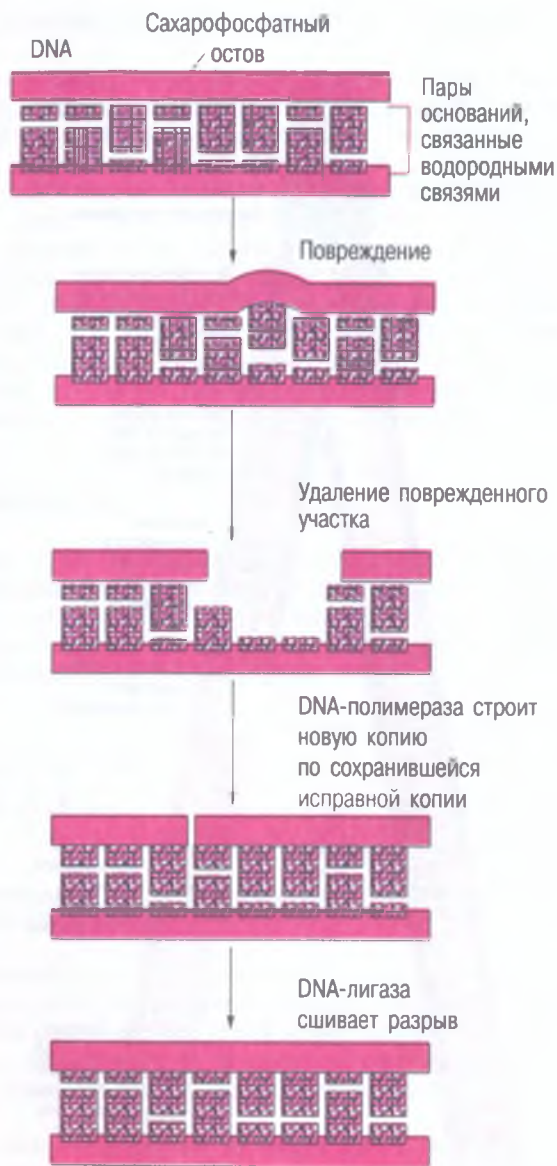


Рис. 3.10. Репарация DNA.

нять уже имеющуюся цепь, поэтому для начала реакции требуется **затравка (праймер)**, которая представляет собой короткий полинуклеотид, комплементарный матричной цепи DNA. Фер-

мент присоединяется к матричной цепи DNA и к праймеру в области 3'-концевого нуклеотида праймера. Перемещаясь по матрице в направлении ее 5'-конца, DNA-полимераза удлиняет затравку, присоединяя к ней нуклеотиды один за другим. Одноцепочечная затравка — праймер синтезируется при участии DNA-зависимой RNA-полимеразы (праймазы). Синтез новых цепей DNA может протекать только в направлении от 5' к 3'. Таким образом, на одной цепи DNA синтезируется непрерывно «*лидирующая*» цепь, а на другой образуются короткие фрагменты — «*запаздывающая*» цепь. Затем праймер удаляется и образовавшийся промежуток заполняется с помощью DNA-полимеразы.

DNA-лигаза способна сшивать полученные короткие фрагменты, после чего формируется новая двухспиральная молекула DNA.

Репарация DNA. Поврежденные участки DNA или ошибочно встроенные нуклеотиды удаляются в результате действия специальных эндо- и экзонуклеаз (рис. 3.10). Образующиеся промежутки заполняются с помощью DNA-полимеразы и затем сшиваются лигазами с исходной нитью DNA. Причиной, вызывающей повреждение DNA, может быть действие факторов окружающей среды: ультрафиолетовое и ионизирующее излучение, определенные химические соединения.

3.6. СИНТЕЗ RNA — ТРАНСКРИПЦИЯ

Молекула DNA, хранящая генетическую информацию, непосредственного участия в синтезе белка не принимает, но с нее по мере необходимости считывается информация, т.е. специфические участки DNA копируются (транскрибируются) в виде RNA с последующей трансляцией в полипептидную цепь белка. Транскрипция, как и репликация DNA, — эндоэргический процесс, сопряженный с использованием нуклеозидтрифосфатов в качестве субстратов и источников энергии (рис. 3.11).

RNA-полимераза катализирует синтез всех типов RNA. Особенностью действия этого фермента является то, что он предварительно «узнает» ту часть DNA, которую необходимо транскрибировать, и присоединяется к ней. Участок, с которым связывается RNA-полимераза, называется **промотором**. Последовательность оснований с направлением от 3' к 5' по ходу цепи DNA ниже сайта промотора используется в качестве матрицы для синтеза RNA. Другая цепь остается нетранскрибируемой. RNA-полимераза вместе с растущей цепью RNA перемещается по матрице до тех пор, пока не достигнет терминирующего кодона. В эукариотической DNA информация, необходимая для синтеза белка, хранится на определенных участках — **экзонах**, разде-

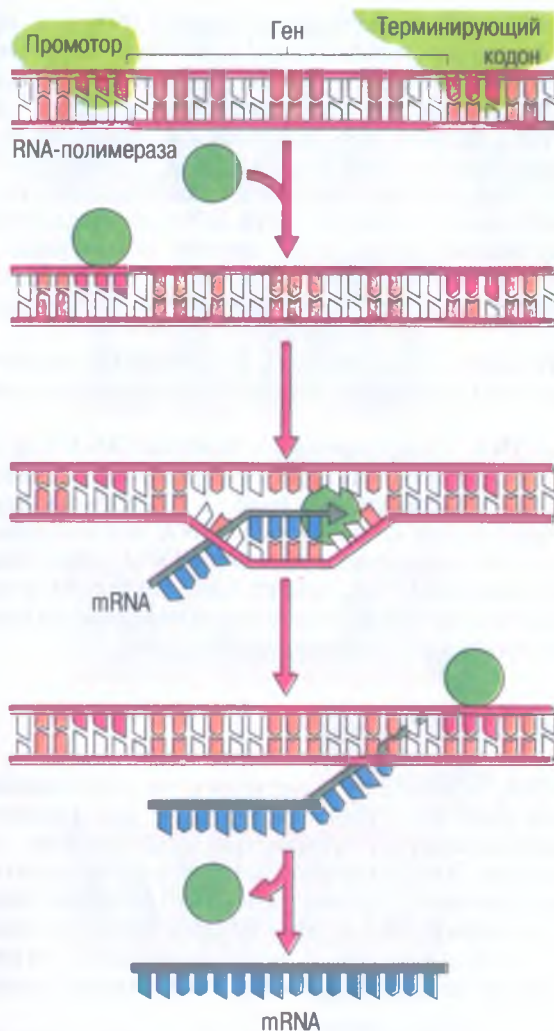


Рис. 3.11. Транскрипция DNA с образованием mRNA.

ленных и н т р о н а м и — участками, не содержащими генетической информации (некодирующие участки).

При транскрипции гена сначала образуется *первичный транскрипт*, который затем подвергается «доработке» — *процессингу*. Суть «доработки» заключается в вырезании интронов (*сплайсинг*) из mRNA перед трансляцией и присоединении характерных для mRNA концевых последовательностей (рис. 3.12).

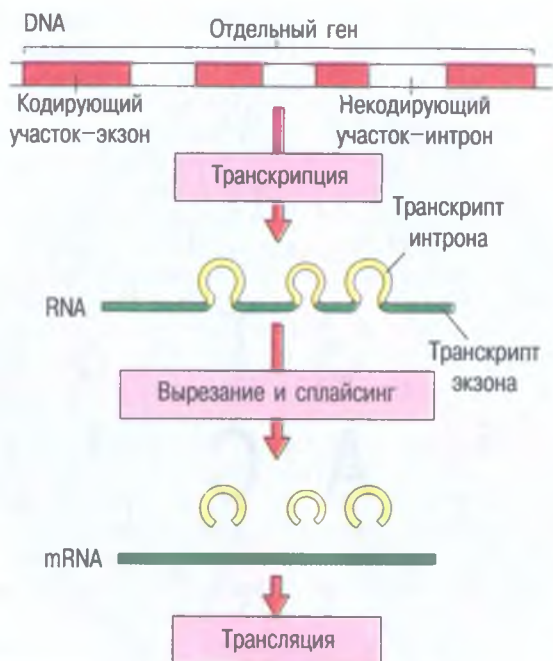


Рис. 3.12. Удаление интронов из mRNA.

3.7. СИНТЕЗ БЕЛКА — ТРАНЛЯЦИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИНФОРМАЦИИ

Синтез белка — это не переписывание информации, а переход от одной системы информации (нуклеотидная последовательность — четырехбуквенный язык) к другой (аминокислотная последовательность — двадцатибуквенный язык). Это объясняет, почему третий матричный синтез называют трансляцией. В основе передачи информации лежит **биологический код** — своеобразный словарь для перевода. Он имеет следующие особенности. Код **специфический**, потому что триплеты нуклеотидов (**кодоны**) mRNA кодируют каждый одну аминокислоту. Так как нуклеиновые кислоты состоят из комбинации четырех нуклеотидов, то существуют 64 различных триплета, кодирующих 20 аминокислот, поэтому код называется **вырожденным** (рис. 3.13). Например, аминокислота серин кодируется триплетами UCU, UCC, UCA, UCG, AGC. Часто при изменении третьего нуклеотида кодона аминокислота не изменяется, что объясняется его меньшей значимостью для трансляции по сравнению с первыми двумя основаниями. Генетический код **непрерывный**, **неперекрывающийся** и по существу **универсальный**. За редким исключением, все организмы используют один и тот же код.

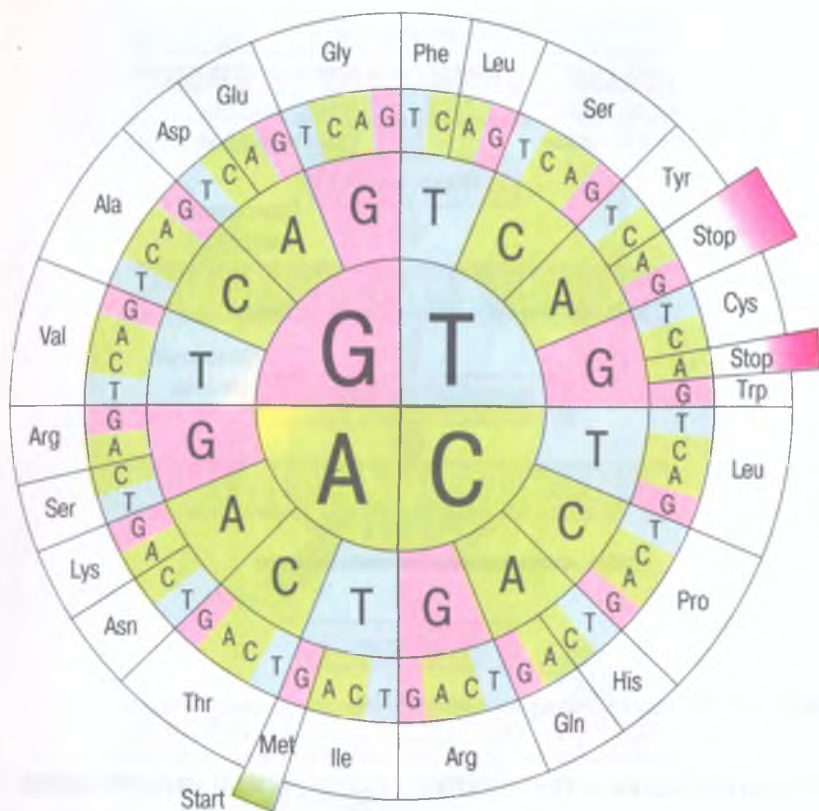


Рис. 3.13. Биологический код. Последовательность нуклеотидов кодо-на считывается от центра к периферии.

3.8. АМИНОАЦИЛ-tRNA-СИИТЕТАЗА И РАСШИФРОВКА КОДА

Наиболее приспособлена к роли молекулы для расшифровки tRNA, так как она может служить **адаптером** между триплетами нуклеотидов на mRNA и соответствующими им аминокислотами. Выполнение адаптерной функции становится возможным после связывания tRNA с определенной аминокислотой. Взаимное «узнавание» аминокислоты и tRNA происходит с помощью фермента аминоксил-tRNA-синтетазы. Этот фермент «узнает» и связывает tRNA, а затем переносит аминокислотный остаток на группу 3'-ОН концевой аденозина, присоединяя ее сложно-эфирной связью:

aa-tRNA-синтетазы



Взаимодействие aa-tRNA с кодоном mRNA обеспечивается тем, что в одной из петель молекулы tRNA имеется триплет нуклеотидов — **антикодон**, комплементарный определенному кодону mRNA (см. рис. 3.4).

Рибосомы — это частицы, на которых происходит синтез белка. Рибосомы прокариот имеют две субъединицы: малую — 30S, состоящую из одной молекулы RNA и 21 белка, и большую — 50S, состоящую из 2 молекул RNA и 34 разных белков. Рибосомы эукариот имеют очень похожую структуру, но несколько более крупные — субъединицы 40S и 60S. Малая субъединица связывается с mRNA, а tRNA соединяется с обеими субъединицами. По мере синтеза белка последовательность кодонов mRNA считывается один раз в процессе движения рибосомы вдоль матрицы. Как только сайт инициации mRNA освобождается одной рибосомой, с ним может связываться другая. Поэтому одна mRNA часто может быть связана с несколькими рибосомами, образуя **полирибосому**.

Инициация (рис. 3.14). До того как начнется синтез белка, формируется иницирующий комплекс, состоящий из малой и большой субъединиц рибосом, белковых факторов инициации и аминоацил-tRNA. Инициация «запускается» специфической последовательностью mRNA, содержащей кодон метионина.

Элонгация (рис. 3.15). Большая субъединица рибосомы несет два рядом расположенных сайта связывания tRNA: один связывается с аминоацил-tRNA (сайт А), а другой — с пептидил-tRNA (сайт Р). Специфичность этих сайтов связывания определяется кодонами mRNA, комплементарными к антикодонам tRNA. Пептидный остаток (или N-формилметионин на первой стадии) переносится на аминокислотный остаток tRNA, связанный с сайтом А, с образованием пептидил-tRNA в сайте А и «пустой» tRNA в сайте Р. Это формирование пептидной связи катализируется рибосомальной **пептидилтрансферазой**.

«Свободная» tRNA покидает сайт Р и новая пептидил-tRNA перемещается из сайта А в освободившийся сайт Р, а рибосома продвигается по mRNA, чтобы поместить в свободный сайт А новый кодон. Этот этап называется **транслокацией**. Этапы инициации, связывания aa-tRNA и транслокации протекают с использованием энергии GTP (см. рис. 3.15).

Терминация. Элонгация цепи продолжается до тех пор, пока рибосома не достигнет терминального кодона (UAG, UAA, UGA). Факторы терминации вызывают отделение «завершенного» полипептида от пептидил-tRNA в сайте Р.

Посттрансляционная модификация. Полипептиды, полученные в результате описанного процесса, спонтанно скручиваются, образуя вторичную и третичную конформации.

В клетках животных многие белки синтезируются в виде молекул-предшественников, требующих модификации для приобретения биологической активности. Например, инсулин синте-

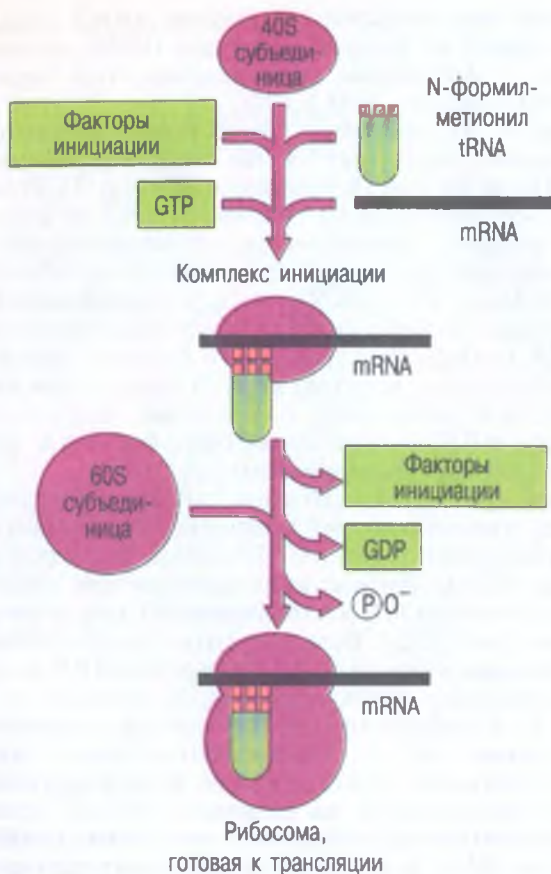


Рис. 3.14. Инициация трансляции у эукариот.

зируется в виде проинсулина и представляет собой одноцепочечную молекулу. После удаления специфическими протеазами полипептидного сегмента он преобразуется в двухцепочечную молекулу с внутри- и межцепочечными дисульфидными мостиками. Присоединение простетической группы с образованием сложных белков и объединение протомеров в олигомерный белок также происходят после завершения трансляции. Известны многие другие посттрансляционные модификации белков: например, такие ковалентные модификации, как ацетилирование, фосфорилирование и гликозилирование. Кроме того, может происходить модификация аминокислотных остатков, например превращение пролина и лизина в окипролин и окилизин в коллагенах, йодирование тирозина в тиреоглобулине и т.д.

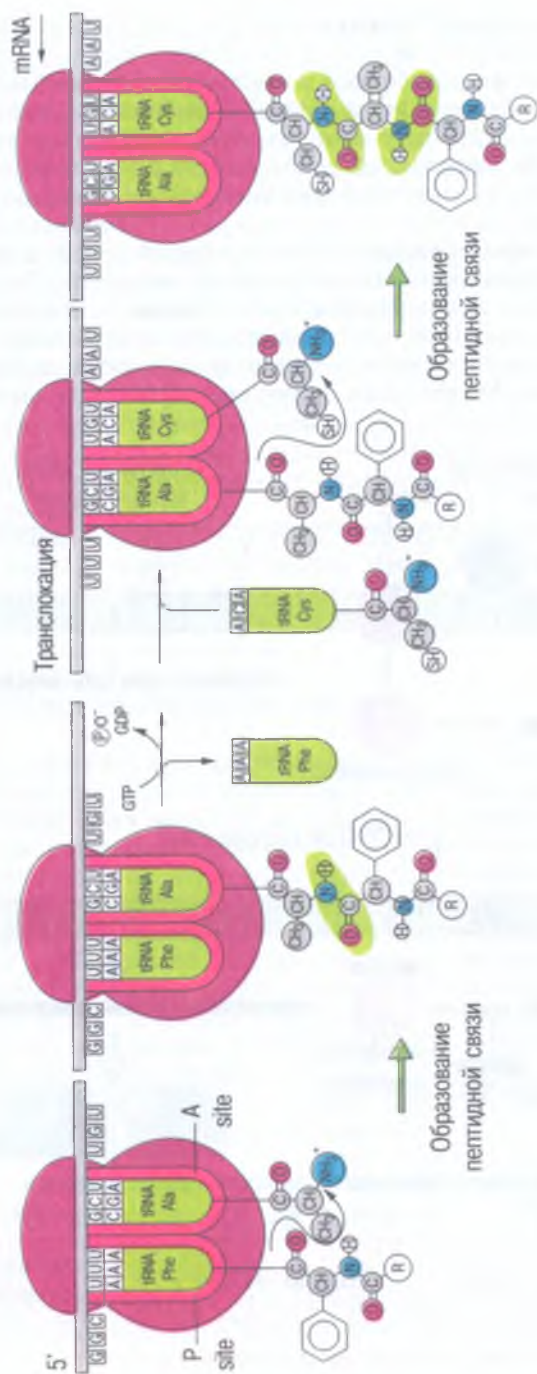


Рис. 3.15. Элонгация.

3.9. РЕГУЛЯЦИЯ СИНТЕЗА БЕЛКА

Концентрация многих белков в клетке непостоянна и изменяется в зависимости от состояния клетки и внешних условий. Это происходит в результате регуляции скоростей синтеза и распада белков. Регуляция экспрессии генов может осуществляться на любой стадии на пути от гена до образования функционально-активного белка.

Регуляция транскрипции. Транскрипция генов может подавляться или активироваться, следовательно, синтез белков может *репрессироваться* или *индуцироваться*. **Оперон** — это участок DNA, кодирующий строение, как правило, функционально связанных белков и содержащий регуляторную зону, контролирующую синтез этих белков. На рис. 3.16 приведена схема лактозного оперона.

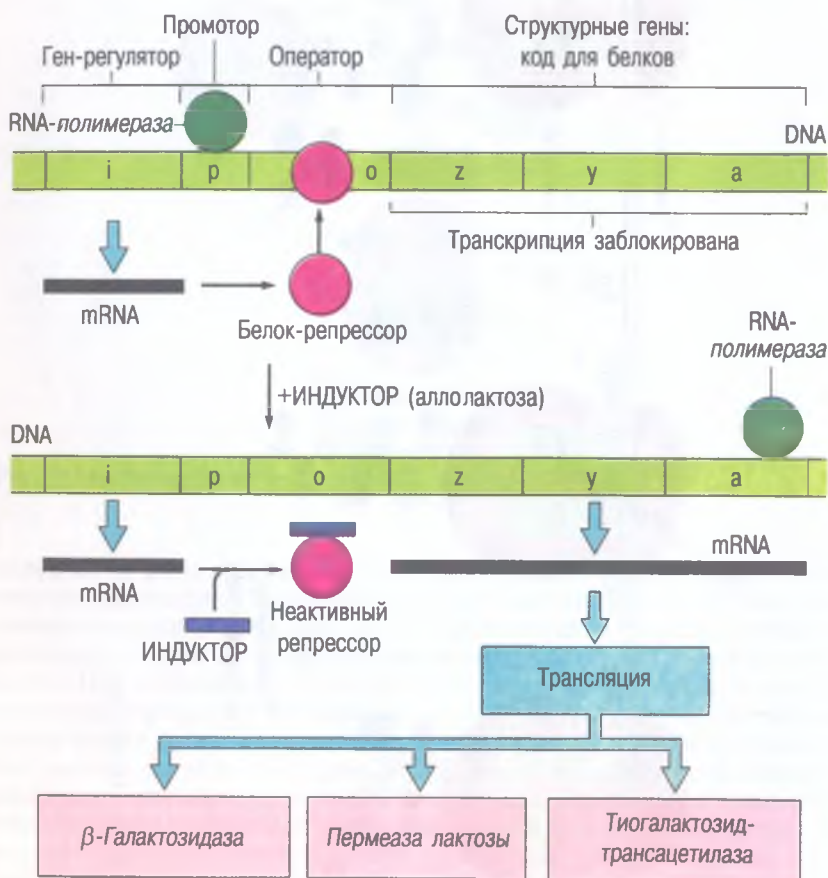


Рис. 3.16. Регуляция экспрессии lac-оперона *E. coli*.

Структурные гены, индуцируемые совместно, располагаются на молекуле DNA рядом с последовательностями нуклеотидов, называемых **промотором** и **оператором**. Для регуляции транскрипции необходим еще один участок DNA — *регуляторный ген*, не всегда располагающийся вблизи указанной группы. Во время транскрипции RNA-полимераза связывается с промотором и продвигается вдоль DNA, образуя транскрипт генов оперона.

Белки-репрессоры — продукты трансляции регуляторных генов. Они связываются с соответствующими операторными участками и блокируют продвижение RNA-полимеразы и, следовательно, препятствуют транскрипции.

Индукторы — небольшие молекулы, которые могут связываться с белками-репрессорами и ингибировать их способность связываться с операторными участками DNA. Таким образом, транскрипция может происходить только в присутствии индуктора. Индукторами транскрипции служат субстраты метаболических путей. Они стимулируют синтез белков, обеспечивающих их превращения.

Корепрессоры — лиганды белков-репрессоров. Корепрессорами, как правило, являются конечные продукты метаболических путей. Роль индукторов и репрессоров могут играть гормоны.

3.10. РЕГУЛЯЦИЯ ДЕЙСТВИЯ ГЕНОВ И КЛЕТОЧНАЯ ДИФФЕРЕНЦИРОВКА

В клетках животных кратковременные адаптивная индукция и репрессия синтеза белков возникают при изменении концентрации определенных веществ: субстратов, продуктов метаболических путей, гормонов. Однако существуют также длительные, часто сохраняющиеся на протяжении всей жизни индукция и репрессия, возникающие в ходе клеточной дифференцировки. Разные дифференцированные клетки одного организма имеют одинаковый набор генов, но, как правило, отличаются белковым составом. Различия клеток при дифференцировке возникают в результате *репрессии одних генов и дерепрессии других*. Молекулярные механизмы регуляции такого типа недостаточно изучены. Но общий принцип действия специфических регуляторов сводится к созданию зон DNA, недоступных для транскрипции за счет конденсации хроматина.

3.11. ИНГИБИТОРЫ МАТРИЧНЫХ БИОСИНТЕЗОВ

Использование некоторых лекарственных средств из группы антибиотиков основано на ингибировании протекающего в патогенных микроорганизмах матричного биосинтеза. Например, тетрациклин ингибирует элонгацию, блокируя центр связыва-

ния aa-tRNA на рибосоме, эритромицин ингибирует транслокацию. *Противобактериальные средства* обладают достаточно высокой избирательностью и малотоксичны для человека. Это объясняется тем, что рибосомы бактерий отличаются от рибосом эукариот по массе; кроме того, некоторые ферменты и белки рибосом различаются строением.

Противоопухолевые антибиотики (актиномицин D, рубомицин и т.д.) нарушают структуру DNA и ингибируют репликацию DNA и(или) транскрипцию. Лекарственные средства этой группы не обладают абсолютной избирательностью по отношению к DNA опухолевых клеток, поэтому они достаточно токсичны. Однако избирательность в их действии все же имеется, но объясняется не наличием DNA, а другими факторами, например проницаемостью мембран опухолевых и здоровых клеток, особенностями метаболизма и т.д.

3.12. ГЕННЫЕ МУТАЦИИ

Различные факторы могут нарушать последовательность нуклеотидов в DNA и, следовательно, изменять генетическую информацию. Такие *изменения первичной структуры DNA, не исправленные репарирующей системой, называются мутациями*. Причинами мутаций могут быть повреждение DNA ультрафиолетовыми лучами, ионизирующей радиацией, химическими соединениями окружающей среды и ошибки репликации. Генетические мутации ведут к синтезу измененного, дефектного белка. Мутации, затрагивающие регуляторную зону оперона, нарушают регуляцию или вызывают прекращение синтеза белка. Выделяют несколько разновидностей мутаций.

1. *Замена нуклеотида в кодоне*. Такое изменение может привести к изменению смысла кодона — **миссенс** мутации и появлению в белке новой аминокислоты. Если в результате замены нуклеотида кодон превращается в терминирующий — **нонсенс** мутации, то синтезируется незавершенный белок, так как его синтез прерывается на этом кодоне. В то же время замена не всегда приводит к изменению смысла кодона. Так как код вырожденный и одна аминокислота кодируется несколькими кодонами, то в результате мутации может получиться новый кодон, но кодирующий ту же аминокислоту.

2. *Делеция — утрата мономера из цепи*. Возможна утрата фрагмента DNA, состоящего из трех нуклеотидов или количества нуклеотидов, кратного трем. В этом случае выпадает один кодон или несколько, а в белке утрачивается одна или несколько аминокислот. Если в DNA утрачивается один мономер (или количество нуклеотидов, не кратное трем), то изменяется смысл всех последующих кодонов. Неполный кодон при считывании дополняется недостающим нуклеотидом из соседнего

кодона и «рамка» считывания при транскрипции смещается. В результате такой мутации синтезируется белок со случайной последовательностью аминокислот после места мутации.

3. *Вставка дополнительных мономеров.* В случае вставки фрагмента из трех нуклеотидов (или количества, кратного трем) синтезируется белок, удлинённый на одну или несколько аминокислот. Если в цепь включается один мономер или количество мономеров, не кратное трем, то происходит мутация со сдвигом «рамки» считывания, как описано выше, и синтезируется белок с изменённой последовательностью аминокислот после места мутации, не способный выполнять свои функции.

Различают мутации нейтральные, полезные и вредные. Мутации в половых клетках передаются по наследству и могут проявляться как *наследственная болезнь*, связанная со структурными и функциональными изменениями белков. Мутации в соматических клетках могут вызывать различные функциональные нарушения, а иногда трансформацию клеток и развитие опухолей.

Если в результате мутации свойства белка изменились в лучшую сторону и повышают жизнеспособность организма, то такие мутации биологически полезны и являются средством естественного отбора.

3.13. ПОЛИМОРФИЗМ БЕЛКОВ

При филогенезе происходит усложнение генома. Причинами этого усложнения являются удвоение генов и независимые мутации в них. Получаются варианты генов, которые, образовавшись у отдельных особей, распространяются в популяции в результате наследования. Так формируется генетическая неоднородность, ведущая к фенотипической неоднородности (гетерогенности). Полиморфизм белков обуславливает существование разных белков, выполняющих одинаковые или очень сходные функции. Появление первого типа полиморфных белков связано с увеличением числа локусов, кодирующих определённый белок в хромосоме в результате удвоения и мутаций, т.е. образуется группа сходных локусов в геноме индивида. Гены этих белков не аллельны, они занимают разные локусы (HbA, HbA₂, HbF). Полиморфные белки — второго типа — это продукты аллельных генов (HbA, HbS), т.е. имеется множество аллелей в генофонде популяции. Полиморфизм белков настолько велик, что можно говорить о биохимической индивидуальности организма.

3.14. МЕТОДЫ РАБОТЫ С ГЕННЫМ МАТЕРИАЛОМ

Трудности в изучении DNA заключаются в следующем:

1) молекулы DNA животных и человека имеют огромные размеры. Такие молекулы неудобны для исследования и их предварительно разрезают, фрагментируют с помощью специ-

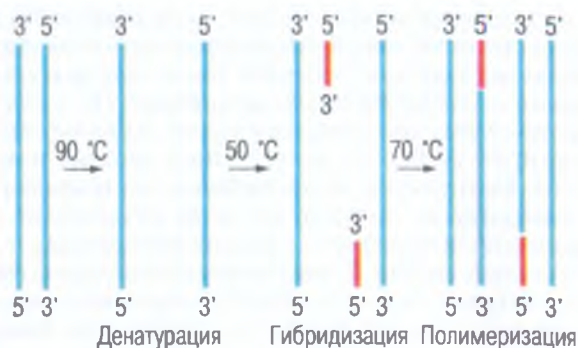


Рис. 3.17. Стадии одного цикла PCR.

альных ферментов — рестриктаз, выделяемых из бактерий. Рестриктазы «узнают» определенные последовательности и разрезают DNA в определенных местах (см. рис. 3.7);

2) количество DNA в клетке невелико, поэтому необходим способ умножения (амплификации) изучаемой DNA *in vitro*. Таким методом является **полимеразная цепная реакция — PCR**, которая позволяет амплифицировать DNA или ее фрагмент в миллионы раз за несколько часов. PCR осуществляют в пробирке с помощью термостабильной DNA-полимеразы (Tag-полимеразы) при участии дезоксинуклеозидтрифосфатов — субстратов и коротких олигонуклеотидных затравок — праймеров. Праймер — это короткие, длиной в 20—30 нуклеотидов, одноцепочечные фрагменты DNA, комплементарные 3'-концевым последовательностям копируемой DNA-матрицы. Благодаря праймерам ограничивается фрагмент DNA, который будет скопирован Tag-DNA-полимеразой, присоединяющейся к 3'-концам праймеров и достраивающей их до заданной длины. Реакция протекает в несколько стадий (рис. 3.17).

1. **Денатурация.** Инкубационную смесь нагревают до температуры 90 °C. При этом происходит разрушение слабых связей в DNA и из одной двухцепочечной молекулы образуются две одноцепочечные.

2. **Гибридизация праймеров.** Температуру снижают до 50 °C. При этом происходит гибридизация цепей DNA с праймерами.

3. **Полимеризация.** Инкубационную смесь нагревают до температуры 70 °C. При этой температуре Tag-полимераза удлиняет оба праймера с их 3'-концов. Праймеры дорастают до размеров матрицы. В результате количество DNA удваивается. Tag-полимераза выделяется из термофильных бактерий и отличается устойчивостью к высокой температуре. При температуре 70 °C гибрид праймер — DNA не денатурирует, а Tag-полимераза способна работать с большой скоростью.

3.15. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РСР

Диагностика болезней (DNA-диагностика). Метод основан на том, что первичная структура DNA разных видов организмов различна. Значит, можно найти последовательности, характерные для DNA возбудителей болезни и подобрать такие праймеры, которые будут гибридизоваться с DNA возбудителя, но не с DNA человека. В этом случае продуктом амплификации будет DNA только возбудителя, а не пациента.

Изучение генома человека. Для этого необходимы выделение и амплификация отдельных генов. Используют праймеры, комплементарные началу изучаемого гена. Последовательность нуклеотидов в таком праймере можно определить по аминокислотной последовательности N-конца и C-конца соответствующего белка и таблице кода. Трудность заключается в том, что код вырожденный и приходится синтезировать несколько праймеров, а затем опытным путем находить праймеры, комплементарные концам гена. Выделение и анализ отдельных фрагментов генов используется для определения мутации и диагностики наследственных болезней.

3.16. КЛОНИРОВАНИЕ ГЕНОВ

Фрагменты DNA можно вырезать из генома эукариот специально подобранными рестриктазами и встраивать в DNA плазмиды или вируса, вскрытую (разрезанную) теми же рестриктазами (рис. 3.18). В результате образуется гибридная плазида, или **рекомбинантная DNA**. Однако таким способом получается очень небольшое количество рекомбинантной DNA. Клонирование — это способ ее накопления. Для этого рекомбинантные плазмиды встраивают в бактерии и получают рекомбинантные бактерии, которые реплицируют, транскрибируют и транслируют «чужие» гены. Из бактериальной массы можно выделить достаточное количество рекомбинантной DNA (рис. 3.19).

Обратная транскриптаза (RNA-зависимая DNA-полимераза) — фермент, катализирующий синтез DNA, используя в качестве матрицы RNA. Этот фермент необходим для получения последовательности DNA, комплементарной mRNA (kDNA), применяемой в генной инженерии. С помощью обратной транскриптазы можно получить kDNA-копии mRNA, в которой отсутствуют интроны. Следовательно, при включении в плазмиды эта молекула не подвергается сплайсингу. Рекомбинантные микроорганизмы нашли практическое применение как продуценты необходимых человеку веществ: белковых гормонов, биологически активных пептидов.

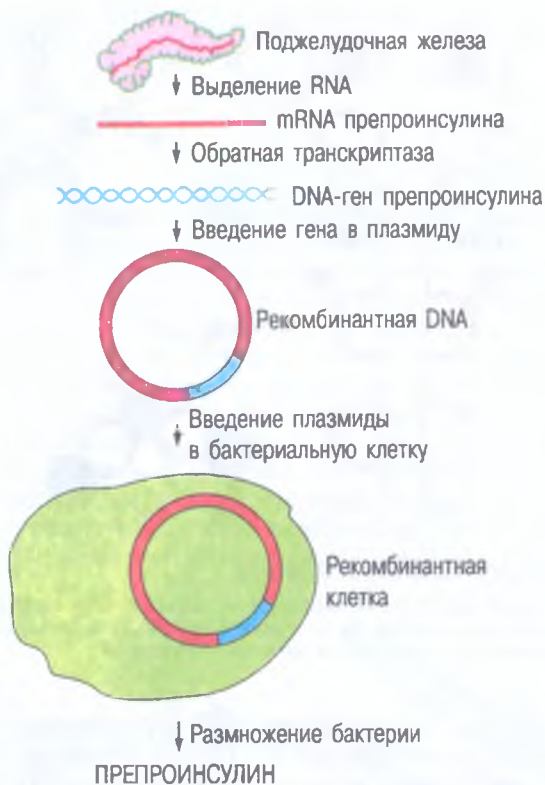


Рис. 3.19. Схема синтеза препроинсулина в трансформированных клетках *E.coli*.

Плазмиды — это кольцевые двухцепочечные молекулы DNA, содержащиеся в бактериальных клетках и способные к репликации и транскрипции независимо от клеточных хромосом.

ответа. Каждая молекула антитела представляет собой белок, имеющий форму буквы Y и состоящий из двух идентичных **тяжелых** (H) и двух идентичных **легких** (L) **цепей** (рис. 3.20).

Существует 5 классов антител, имеющих различные константные области H-цепи. С любым типом H-цепей могут быть связаны L-цепи любого типа. Каждая L- и H-цепь Ig состоит из **вариабельной области** на N-конце и расположенной за ней **константной области**. Вариабельность аминокислотной последовательности N-концевых участков как H-, так и L-цепей обеспечивает структурную основу для разнообразия антигенсвязывающих участков. H-цепи образуют Fc-область («хвостовую») антител. Разные H-цепи придают «хвостовым» областям антител различную конформацию, от которой зависит дальнейшая судьба комплекса антиген—антитело. От того, с какими белками будет связываться Fc-об-

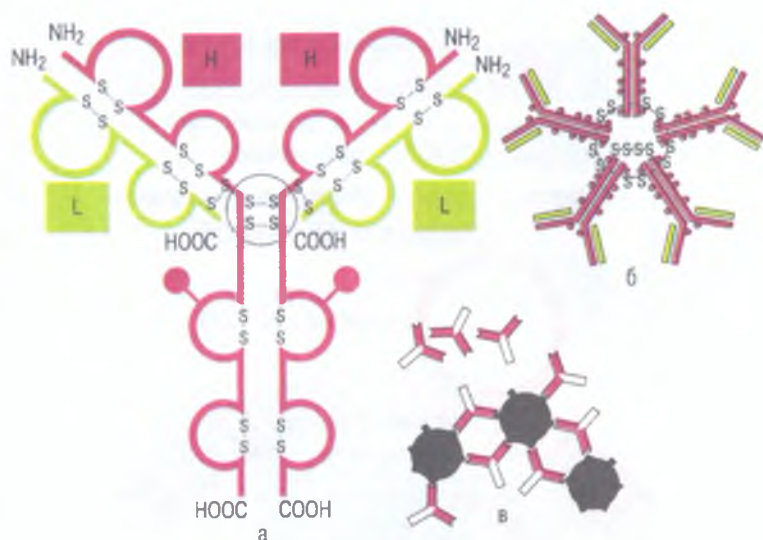


Рис. 3.20. Строение иммуноглобулинов.

а — пептидные цепи иммуноглобулинов (H — тяжелые, L — легкие), пунктиром обозначены варибельные области; б — молекула IgM, 5 мономеров связаны дисульфидными связями; в — комплексы антиген — антитело.

ласть H-цепей, зависят свойства и функции данного класса Ig. Fc-область Ig может связываться не только с фагоцитирующими клетками, но и с первым компонентом системы комплемента, в результате чего активируется та особая система белков крови, которая способствует разрушению антигена.

Разнообразие антител — результат транспозиции генов. Все В-лимфоциты организма образуют большое число клонов, которые синтезируют антитела только одного вида — имеющие одинаковые варибельные области. Антиген, присоединяясь к лимфоцитам соответствующего клона, вызывает пролиферацию этого клона и активирует синтез и секрецию антител клетками этого клона.

В предшественниках лимфоцитов гены, кодирующие разные области пептидных цепей антител, расположены в разных частях молекулы DNA. При дифференцировке лимфоцитов в процессе онтогенеза происходит рекомбинация — перенос генов из одного места в другое в пределах молекулы DNA (транспозиция). DNA, определяющая варибельные области антител, составлена примерно из 400 генов V, около 20 генов D и 4 генов J. В результате транспозиции объединяются 3 гена (V, D и J) в полный ген варибельной области, который соединяется с любым из генов константной области, — получается полный ген тяжелой цепи. Сходным путем образуются гены легких цепей антител. Таким способом возникают миллионы разных генов, ответственных за синтез антител.

Все живые клетки отделены от окружающей среды поверхностью, называемой клеточной мембраной. Кроме того, для эукариот характерно образование внутри клеток нескольких компартментов. Они представлены рядом субклеточных органелл, ограниченных мембранами: например, ядро и митохондрии. Мембраны представляют собой не только статически организованные поверхности раздела, но и включают активные биохимические системы, отвечающие за такие процессы, как избирательный транспорт веществ внутрь и наружу клетки, связывание гормонов и других регуляторных молекул, протекание ферментативных реакций, передача импульсов нервной системы и т.д. (рис. 4.1). Существуют различные типы мембран, отличающиеся своими функциями. Функции мембран обусловлены их строением.

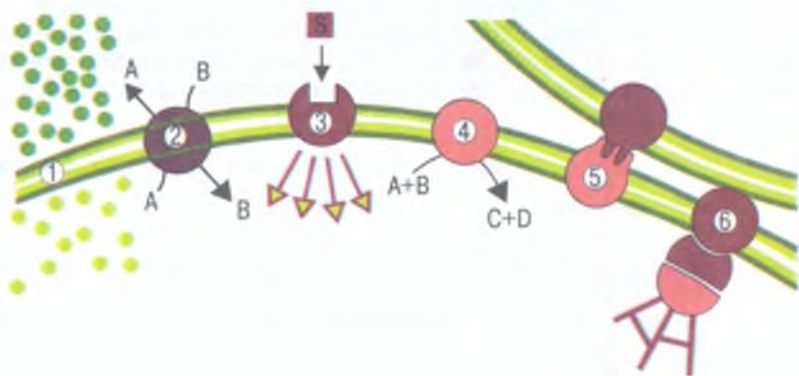


Рис. 4.1. Функции мембран.

1 — граница; 2 — контроль транспорта метаболитов; 3 — рецепция сигналов и их передача; 4 — ферментативные реакции; 5 — контакт с другими клетками; 6 — якорь для цитоскелета.

4.1. ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ МЕМБРАН

Мембраны состоят из липидных и белковых молекул, относительное количество которых варьирует (белка от $\frac{1}{5}$ до $\frac{3}{4}$, липидов от $\frac{4}{5}$ до $\frac{1}{4}$) у разных мембран. Углеводы содержатся в форме гликопротеинов, гликолипидов и составляют 0,5–10 % от вещества мембраны.

4.2. ЛИПИДЫ И БЕЛКИ МЕМБРАН

Основная часть липидов в мембранах представлена фосфолипидами, гликолипидами и холестерином (рис. 4.2). Липиды мембран имеют в структуре две различные части: неполярный гидрофобный «хвост» и полярную гидрофильную «голову». Такую двойственную природу соединений называют **амфифильной**. Липиды мембран образуют *двухслойную структуру*. Каждый слой состоит из сложных липидов, расположенных таким образом, что неполярные гидрофобные «хвосты» молекул находятся в тесном контакте друг с другом. Так же контактируют гидрофильные части молекул. Все взаимодействия имеют нековалентный характер. Два монослоя ориентируются «хвост к хвосту» так, что образующаяся структура двойного слоя имеет внутреннюю неполярную часть и две полярные поверхности.

Белки мембран включены в липидный двойной слой двумя способами: 1) связаны с гидрофильной поверхностью липидного бислоя — **поверхностные мембранные белки** и 2) погружены в гидрофобную область бислоя — **интегральные мембранные белки**. Поверхностные белки своими гидрофильными радикалами аминокислот связаны нековалентными связями с гидрофильными группами липидного бислоя.

Интегральные белки различаются по степени погруженности в гидрофобную часть бислоя. Они могут располагаться по обеим сторонам мембраны и либо частично погружаются в

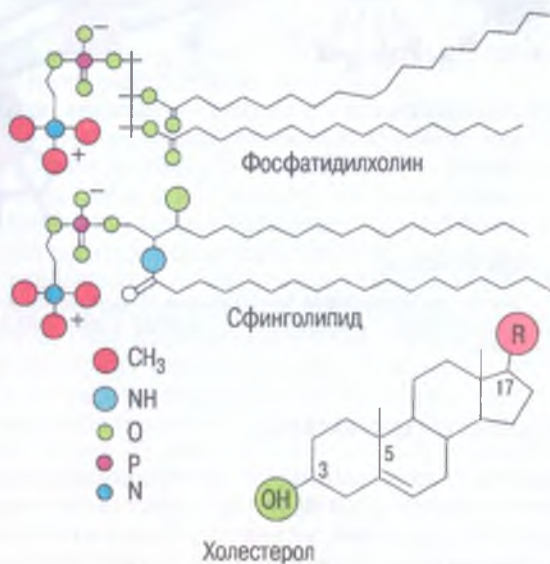


Рис. 4.2. Строение липидов мембран.

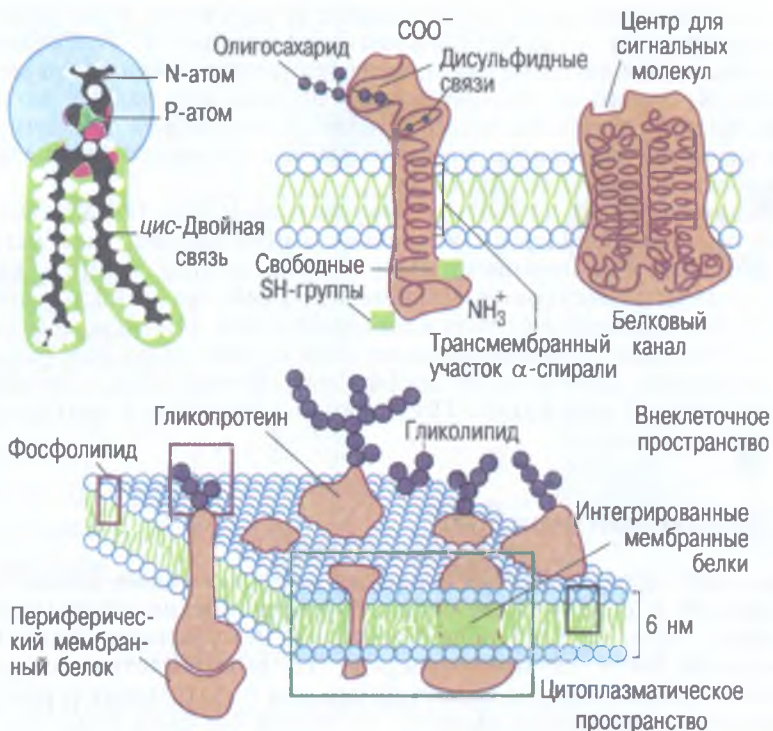


Рис. 4.3. Структура плазматической мембраны.

мембрану, либо пронизывают мембрану насквозь. Погруженная часть интегральных белков содержит большое количество аминокислот с гидрофобными радикалами, которые обеспечивают гидрофобное взаимодействие с липидами мембран. Гидрофобные взаимодействия поддерживают определенную ориентацию белков в мембране. Гидрофильная выступающая часть белка не может переместиться в гидрофобный слой. Часть мембранных белков ковалентно связана с моносахаридными остатками или олигосахаридными цепями и представляет собой гликопротеины. Примеры расположения белков и липидов в мембране представлены на рис. 4.3.

4.3. АСИММЕТРИЯ МЕМБРАН

Каждый монослой образован из липидов, ориентированных одинаковым образом, тем не менее липидный состав монослоев различен. Например, в плазматической мембране эритроци-

тов фосфатидилхолины преобладают в наружном слое, а фосфатидилсерина — во внутреннем слое мембраны. Углеводные части белков и липидов располагаются на наружной части мембраны. Кроме того, поверхности мембраны отличаются по составу белков. Степень такой асимметрии мембран различна у разных типов мембран и может меняться в процессе жизнедеятельности клетки и ее старения.

Подвижность (жесткость) и текучесть мембран также зависят от ее состава. Повышенная жесткость обусловлена увеличением соотношения насыщенных и ненасыщенных жирных кислот, а также холестерина. Физические свойства мембран зависят от расположения белков в липидном слое. Липиды мембран способны к диффузии в пределах слоя параллельно поверхности мембраны (латеральная диффузия). Белки тоже способны к латеральной диффузии. Поперечная диффузия в мембранах сильно ограничена.

4.4. МЕМБРАННЫЙ ТРАНСПОРТ

Транспорт веществ внутрь и наружу клетки, а также между цитоплазмой и различными субклеточными органеллами (митохондриями, ядро и т.д.) обеспечивается мембранами. Если бы мембраны были глухим барьером, то внутриклеточное пространство оказалось бы недоступным для питательных веществ, а продукты жизнедеятельности не могли бы быть удалены из клетки. В то же время при полной проницаемости было бы невозможно накопление определенных веществ в клетке. Транспортные свойства мембраны характеризуются **полупроницаемостью**: некоторые соединения могут проникать через нее, а другие — нет (рис. 4.4).

Одна из главных функций мембран — регуляция переноса веществ. Существует два способа переноса веществ через мембрану: *пассивный и активный транспорт* (рис. 4.5).

Пассивный транспорт. Если вещество движется через мембрану из области с высокой концентрацией к области с низкой концентрацией (т.е. по градиенту концентрации этого вещества) без затраты клеткой энергии, то такой транспорт называется пассивным, или диффузией. Различают два типа диффузии: простую и облегченную.

Простая диффузия характерна для небольших нейтральных молекул (H_2O , CO_2 , O_2), а также для гидрофобных низкомолекулярных органических веществ. Эти молекулы могут проходить без какого-либо взаимодействия с мембранными белками через поры или каналы мембраны до тех пор, пока будет сохраняться градиент концентрации.

Облегченная диффузия характерна для гидрофильных молекул, которые переносятся через мембрану также

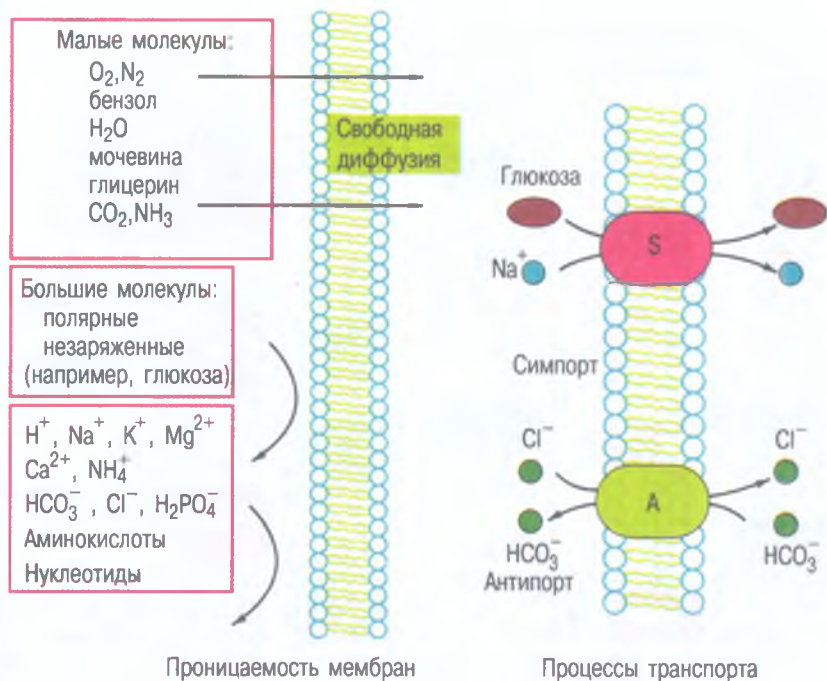


Рис. 4.4. Проницаемость мембран для различных веществ.

по градиенту концентрации, но с помощью специальных мембранных белков-переносчиков. Облегченная диффузия отличается от простой высокой избирательностью, так как белок-переносчик имеет центр связывания, комплементарный транспортируемому веществу, и перенос сопровождается конформационными изменениями белка. Один из возможных механизмов облегченной диффузии следующий: транспортный белок (транслоказа) связывает вещество, затем сближается с противоположной стороной мембраны, освобождает это вещество, принимает исходную конформацию и вновь готов выполнять транспортную функцию. Мало известно о том, как осуществляется передвижение самого белка. Другой возможный механизм переноса предполагает участие нескольких белков-переносчиков. В этом случае первоначально связанное соединение само переходит от одного белка к другому, последовательно связываясь то с одним, то с другим белком, пока не окажется на противоположной стороне мембраны.

Активный транспорт. Такой транспорт имеет место в случае, когда перенос осуществляется против градиента концентрации. Он требует затраты энергии клеткой. Активный транспорт слу-

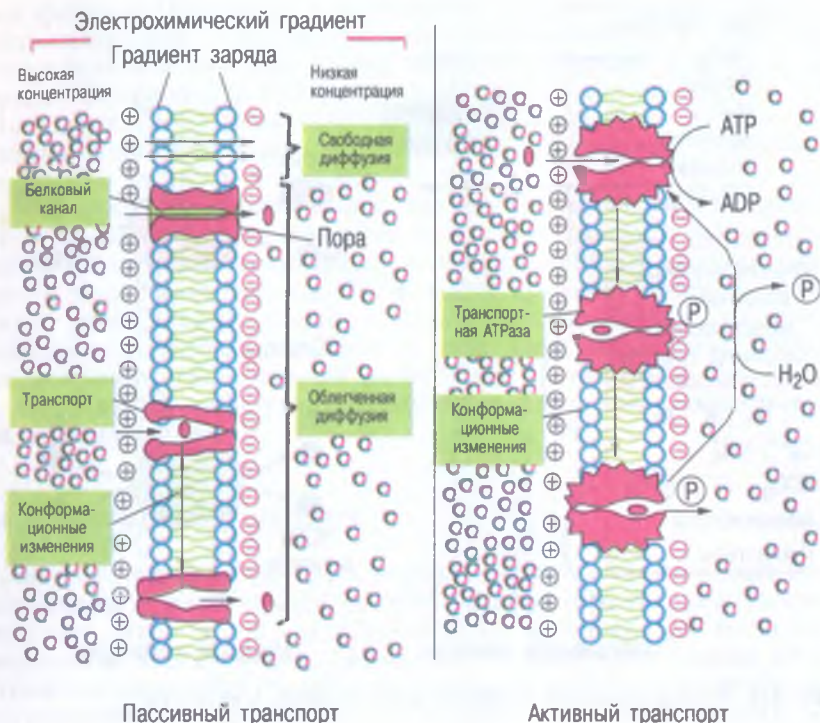


Рис. 4.5. Транспорт веществ через мембраны.

жит для накопления веществ внутри клетки. Источником энергии часто является АТФ. Для активного транспорта, кроме источника энергии, необходимо участие мембранных белков. Одна из активных транспортных систем в клетке животных отвечает за перенос ионов Na^+ и K^+ через клеточную мембрану. Эта система называется **$\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -насос**. Она отвечает за поддержание состава внутриклеточной среды, в которой концентрация ионов K^+ выше, чем ионов Na^+ (рис. 4.6).

Градиент концентрации обоих ионов поддерживается путем переноса K^+ внутрь клетки, а Na^+ наружу. Оба транспорта происходят против градиента концентрации. Такое распределение ионов определяет содержание воды в клетках, возбудимость нервных клеток и клеток мышц и другие свойства нормальных клеток. $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -насос представляет собой белок — **транспортную АТФазу**. Молекула этого фермента является олигомером и пронизывает мембрану. За полный цикл работы насоса из клетки в межклеточное вещество переносится 3 иона Na^+ , а в обратном направлении — 2 иона K^+ , при этом используется энергия молекулы АТФ.

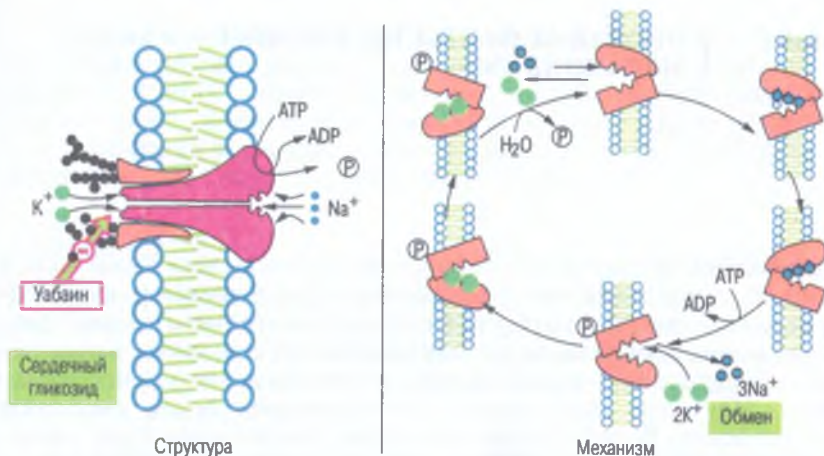


Рис. 4.6. Механизм действия Na^+ , K^+ -АТРазы.

Существуют транспортные системы для переноса ионов кальция (Ca^{2+} -АТРазы), протонные насосы (H^+ -АТРазы) и др.

Симпорт — это активный перенос вещества через мембрану. Он осуществляется за счет энергии градиента концентрации другого вещества. Транспортная АТРаза в этом случае имеет центры связывания для обоих веществ (см. рис.4.4). **Антипорт** — это перемещение вещества против градиента своей концентрации. При этом другое вещество движется в противоположном направлении по градиенту своей концентрации. Симпорт и антипорт могут происходить при всасывании аминокислот из кишечника и реабсорбции глюкозы из первичной мочи, при этом используется энергия градиента концентрации ионов Na^+ , создаваемого Na^+ , K^+ -АТРазой.

Метаболизм представляет собой совокупность всех химических реакций, происходящих в организме. Под термином «*метаболический путь*» подразумевают последовательность реакций, приводящих к образованию определенного продукта. Соединения, образующиеся в ходе превращений, называются *метаболитами*. Изучение отдельных метаболических путей выделяют для удобства. В действительности метаболические пути связаны между собой в сети общими промежуточными продуктами и необходимостью обращения коферментов. В клетке коферменты присутствуют в низких фиксированных концентрациях, поэтому для функционирования метаболических путей необходимы все формы коферментов и, следовательно, их постоянная генерация (рис. 5.1).

Анаболизм и катаболизм. В метаболизме можно выделить пути *анаболизма*, которые предназначены для биосинтезов, и пути *катаболизма*, которые ведут к расщеплению сложных молекул. Катаболические и анаболические пути во многом различаются, но в то же время они тесно связаны друг с другом. Связь между ними обеспечивает оптимальный уровень метаболизма. Катаболизм и анаболизм — это сопряженные взаимодействияющие процессы.

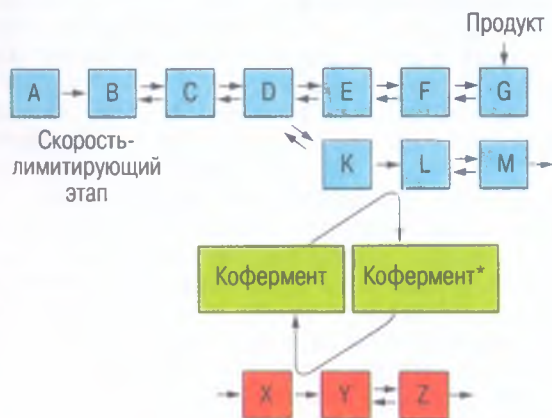


рис. 5.1. Объединение метаболических путей в метаболическую сеть.

Энергия и метаболизм. Живые системы для своей жизнедеятельности требуют постоянного притока энергии. В отсутствие энергии клетку можно сравнить с неработающей машиной. Жизнь, рост, целостность клетки зависят от пищи не только как источника углерода, азота, фосфора и других необходимых элементов, но также как источника энергии.

5.1. РОЛЬ АТФ

Процессы, протекающие с потреблением и выделением энергии, связаны между собой. Центральную роль в этой взаимосвязи выполняет **АТФ — основное высокоэнергетическое соединение клетки**. Роль АТФ в клеточной энергетике можно определить следующим образом:

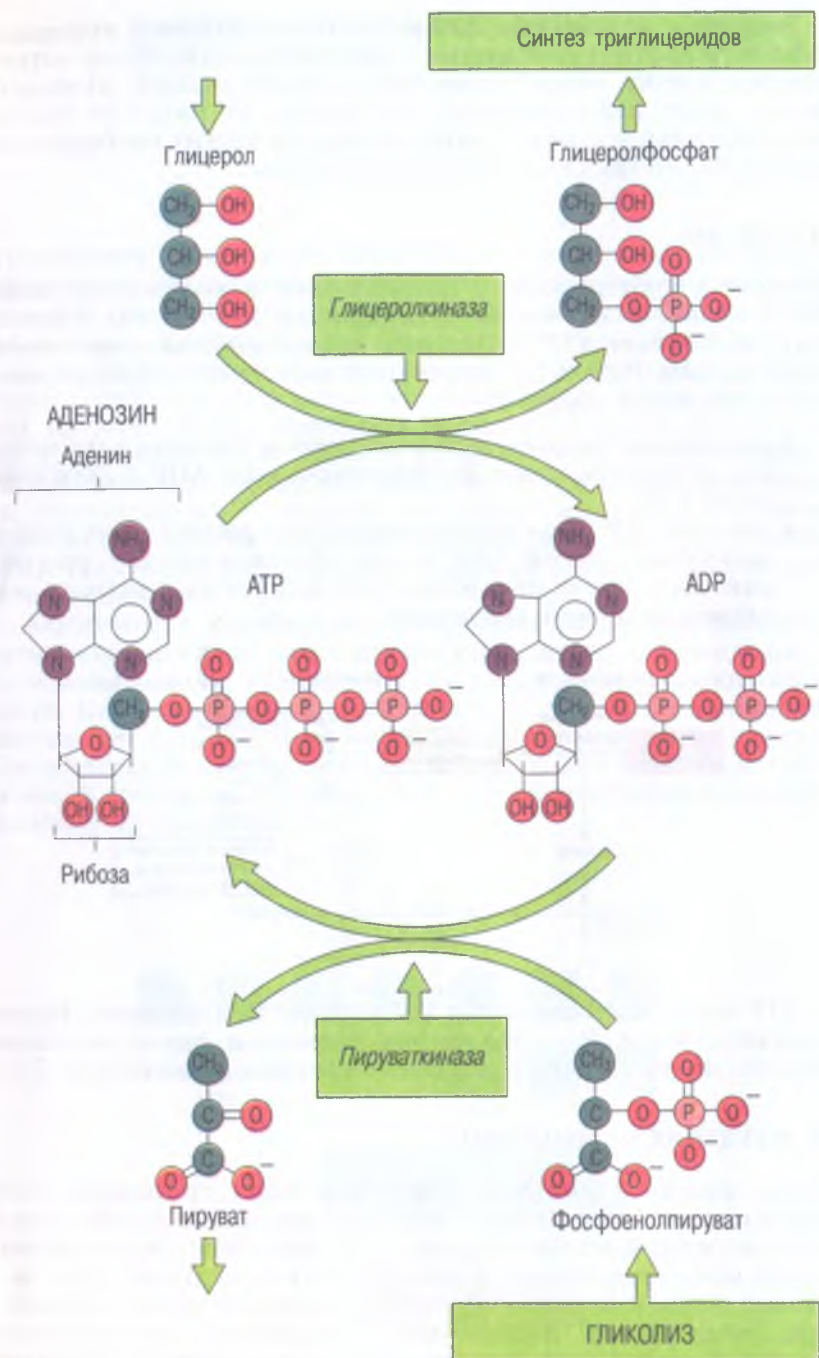
- ♦ химическая энергия, освобождаемая в процессе катаболизма, запасается путем фосфорилирования ADP с образованием АТФ;
- ♦ энергия АТФ затем используется после расщепления макроэргических связей АТФ в ходе эндергонических реакций синтеза и других процессов, требующих затрат энергии, например активного транспорта.



АТФ часто рассматривается как энергетическая валюта. Важно понимать, что АТФ — это не вид энергии, а форма запасаения энергии, получаемой при деградации сложных молекул (рис. 5.2).

5.2. РЕГУЛЯЦИЯ МЕТАБОЛИЗМА

Среди многих ферментов, обеспечивающих протекание того или иного метаболического пути со скоростью, необходимой для удовлетворения физиологических потребностей организма, только некоторые играют ключевую роль в регуляции. Это, во-первых, ферменты одной из начальных стадий цепи превращений, обязательно необратимой. Во-вторых, регуляторной функцией часто наделены ферменты, находящиеся в точках



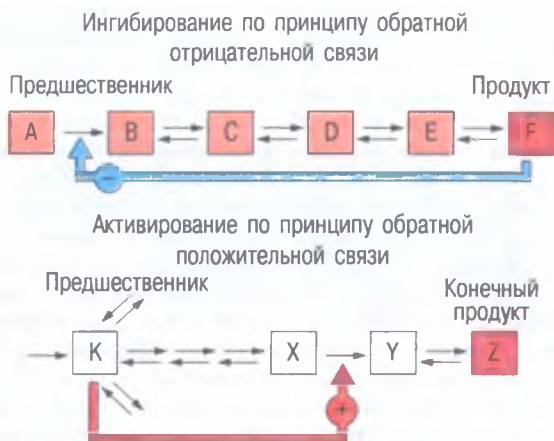


Рис. 5.3. Положительная и отрицательная обратные связи.

разветвления метаболических путей. Кроме того, регуляторные ферменты часто катализируют самые медленные (лимитирующие) стадии метаболического пути. Активность ферментов в этих ключевых точках определяет скорость метаболизма и может модулироваться основными тремя способами.

1. **Аллостерическая модификация ключевых ферментов** позволяет получить немедленный ответ клетки на изменение условий среды. Этот ответ выражается изменением концентрации промежуточных продуктов или коферментов. Например, увеличение потребности клетки в АТФ повышает скорость распада глюкозы в мышечных клетках. Энергетический запас клетки определяется как отношение

$$\frac{\frac{1}{2} [\text{ADP}] + [\text{ATP}]}{[\text{AMP}] + [\text{ADP}] + [\text{ATP}]}$$

Скорость катаболизма глюкозы обратно пропорциональна энергетическому запасу клетки вследствие противоположности влияния $\text{ADP} + \text{AMP}$ или ATP на регуляторные ферменты гликолиза. Аллостерическая модификация ферментов является основным способом регуляции метаболических путей.

Отрицательная обратная связь проявляется в случае, если в простейших саморегулирующихся системах увеличение концентрации конечного продукта подавляет на ранних стадиях его синтез (рис. 5.3).

Рис. 5.2. Структура и рециркуляция АТФ.

Положительная обратная связь наблюдается, когда метаболит-предшественник активирует стадию, контролирующую его дальнейшее превращение, например переход в запасные вещества. Вещество запасается только тогда, когда его количество превосходит потребности метаболического пути.

2. **Ковалентная модификация ключевых ферментов** возможна под влиянием внеклеточных воздействий (гормонов) и приводит как к активации, так и к ингибированию ферментов. В этом случае метаболизм клетки изменяется таким образом, чтобы соответствовать в большей мере потребностям организма, чем потребностям самой клетки. Ковалентная модификация, обычно осуществляемая путем фосфорилирования, катализируется протеинкиназами. Соответствующие им фосфатазы дефосфорилируют фермент и, следовательно, отменяют результаты фосфорилирования. Количество фосфорилированных форм фермента зависит от соотношения активностей киназы и фосфатазы.

3. **Индукция или репрессия синтеза ферментов** приводит к изменению количества ферментов и, значит, скорости метаболизма. Подобным способом обеспечиваются долговременные адаптивные изменения метаболизма. Индукция и репрессия синтеза ферментов могут происходить в клетках в результате влияния на них некоторых гормонов.

5.3. МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ГОРМОНОВ НА МЕТАБОЛИЗМ

Гормоны — это межклеточные химические посредники (мессенджеры). Они секретируются одним типом клеток в ответ на

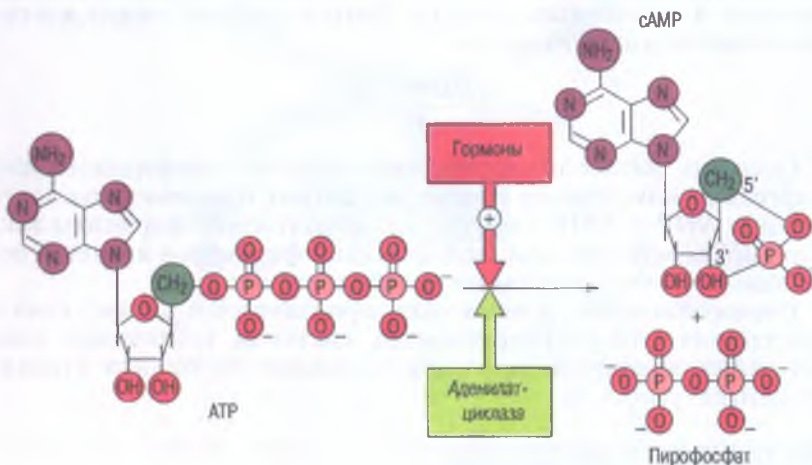


Рис. 5.4. Образование cAMP.

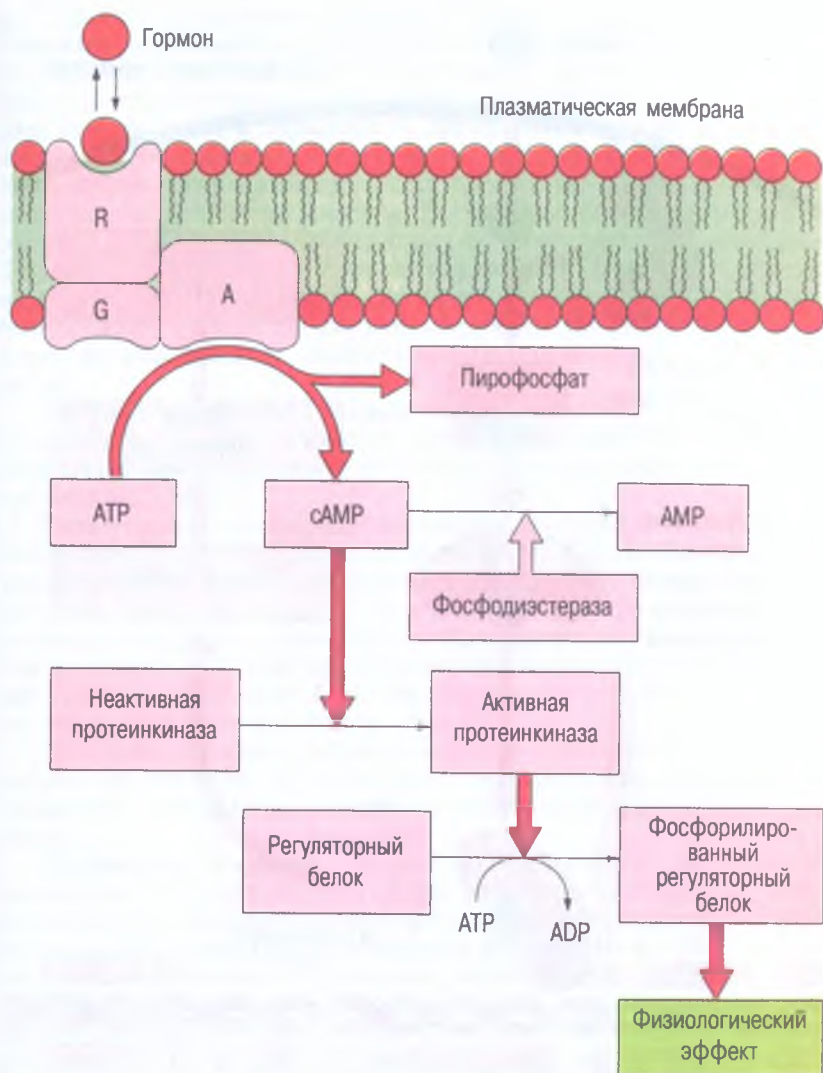


Рис. 5.5. Механизм действия гормонов, опосредованный cAMP.

R — наружный клеточный рецептор; A — аденилатциклаза; G — GTP-связывающий белок.

определенные стимулы (сигналы) и оказывают воздействие на метаболизм клеток другого типа. Например, α -клетки панкреатических островков (островков Лангерганса) секретируют гормон глюкагон в ответ на снижение концентрации глюкозы в крови. Глюкагон стимулирует распад гликогена в клетках печени и поступление запасенной глюкозы в кровь.

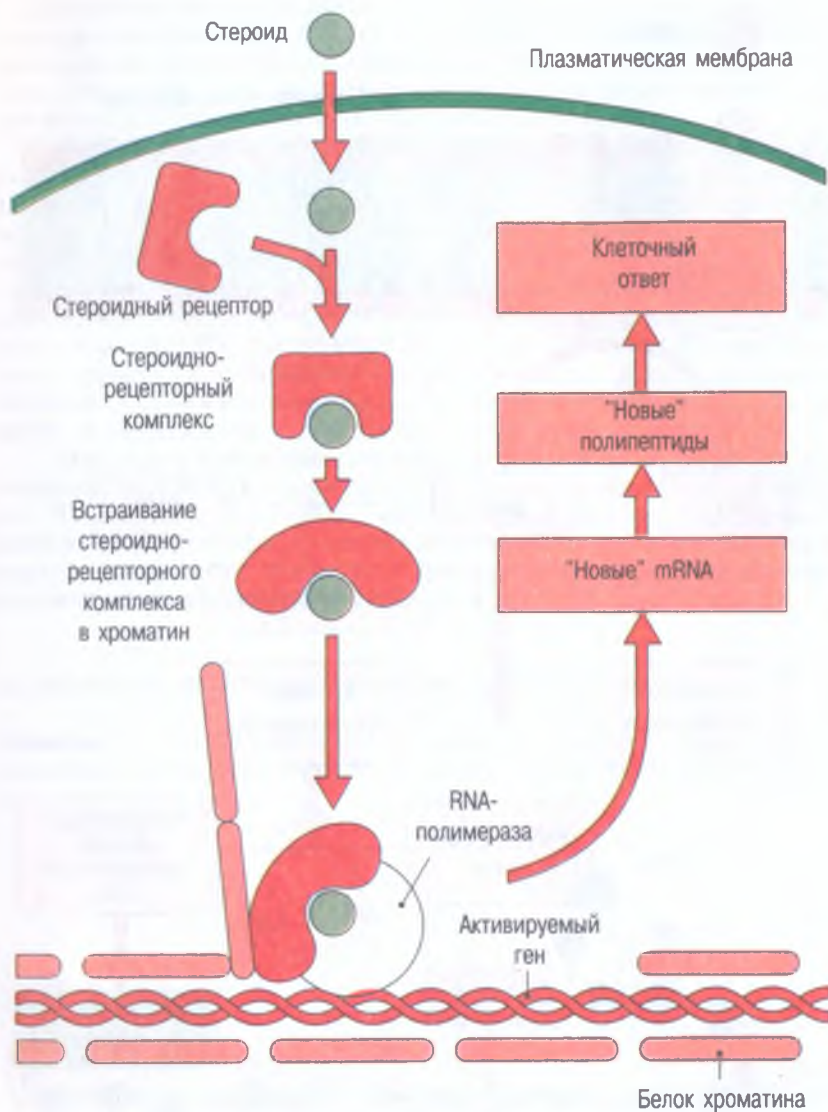


Рис. 5.6. Механизм действия стероидных гормонов.

Гормоны обладают высокой биологической активностью. Их действие проявляется при очень низких концентрациях (10^{-6} — 10^{-10} моль/л). С химической точки зрения гормоны можно разделить на три группы: 1) гормоны — производные аминокислоты; 2) белково-пептидные гормоны; 3) стероидные гормоны.

Гормоны оказывают свое действие, связываясь со **специфическими рецепторами**, располагающимися либо на поверхности мембраны клетки, либо в цитозоле. Связывание с рецепторами — обязательный этап в действии гормона. **Белково-пептидные гормоны и гормоны — производные аминокислот** являются гидрофильными веществами, и проникновение их через плазматическую мембрану, состоящую из липидного бислоя, затруднено или невозможно. Рецепторы таких гормонов находятся на наружной поверхности плазматической мембраны. Гормоны связываются с рецепторными белками тех участков мембран клеток-мишеней, которые соприкасаются с кровью, что в свою очередь активирует ферментную систему, отвечающую за образование вторичного (внутриклеточного) посредника.

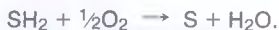
Система вторичных посредников. Появление в клетке вторичного посредника является пусковым моментом для изменения метаболизма, осуществляемого обычно фосфорилированием белков.

Роль вторичных посредников могут выполнять cAMP, cGMP, инозитолтрифосфат, диацилглицерин, Ca^{2+} . Наиболее распространенным и хорошо изученным вторичным посредником является циклический 3', 5'- аденозинмонофосфат (сAMP). Связывание гормона с рецептором активирует аденилатциклазу и, следовательно, способствует повышению внутриклеточной концентрации сAMP (рис. 5.4), что приводит к увеличению скорости фосфорилирования белка (рис. 5.5).

Наличие каскада ферментативных реакций между связыванием гормона с рецептором и изменением метаболизма позволяет значительно усилить первичное воздействие гормона.

Стероидные гормоны являются веществами гидрофобного характера. Они легко преодолевают фосфолипидный барьер мембран и попадают в цитозоль клетки, где связываются с растворимыми **цитоплазматическими рецепторами**. Образующийся комплекс гормон — рецептор перемещается в ядро, взаимодействует с хроматином и стимулирует или репрессирует транскрипцию определенных генов. Таким образом, эти гормоны регулируют метаболические процессы, изменяя скорость биосинтеза ключевых белков (рис. 5.6).

Катаболизм органических веществ в тканях сопровождается потреблением кислорода и выделением окиси углерода. Этот процесс называют тканевым дыханием. Кислород в этом процессе используется как акцептор водорода от окисляемых (дегидрируемых) веществ (субстратов), в результате чего синтезируется вода. Процесс *окисления* можно представить уравнением:



Окисляемые органические вещества S (субстраты) представляют собой метаболиты катаболизма, их дегидрирование является **экзоэргическим процессом**. Энергия, освобождающаяся в ходе реакций окисления, либо полностью рассеивается в виде тепла, либо частично тратится на фосфорилирование ADP с образованием АТР. Организм превращает около 40 % энергии, выделяющейся при окислении, в энергию макроэргических связей АТР. Большинство организмов в биосфере использует этот способ или очень сходный с ним (в качестве терминального акцептора водорода может быть не кислород, а другое соединение) как основной источник энергии, необходимой для синтеза внутриклеточной АТР. Таким путем клетка превращает химическую энергию питательных веществ, поступивших извне, в утилизируемую метаболическую энергию.

Реакция дегидрирования и способ превращения выделившейся энергии путем синтеза АТР — это **энергетически сопряженные реакции**. Целиком весь сопряженный процесс называется **окислительным фосфорилированием** ADP:



↓
Энергия —————> Тепловая энергия



6.1. ЦЕПЬ ТРАНСПОРТА ЭЛЕКТРОНОВ

Уравнение А. окислительно-восстановительной реакции представляет собой обобщенную форму, так как изображает процесс окисления субстратов как прямое дегидрирование, причем кислород выступает в роли непосредственного акцептора водорода. На самом деле кислород участвует в транспорте электронов иным образом. Существуют *промежуточные переносчики*

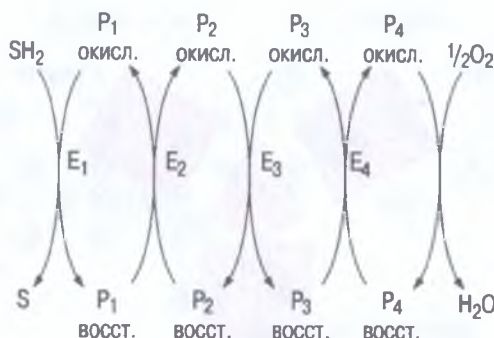


Рис. 6.1. Перенос электронов и протонов с участием промежуточных переносчиков.

SH_2 — исходный донор протонов и электронов; P_1 , P_2 , P_3 , P_4 — промежуточные переносчики; E_1 , E_2 , E_3 , E_4 — ферменты окислительно-восстановительных реакций.

электронов от исходного донора электронов SH_2 к терминальному акцептору O_2 . Полный процесс представляет собой **цепь последовательных окислительно-восстановительных реакций**, в ходе которых происходит взаимодействие между переносчиками. Каждый промежуточный переносчик вначале выступает в роли акцептора электронов и протонов и из окисленного состояния переходит в восстановленную форму. Затем он передает электрон следующему переносчику и возвращается в окисленное состояние. На последней стадии переносчик передает электроны кислороду, который затем восстанавливается до воды. **Совокупность последовательных окислительно-восстановительных реакций называется цепью переноса (транспорта) электронов, или дыхательной цепью** (рис. 6.1).

Промежуточными переносчиками в дыхательной цепи у высших организмов являются коферменты: NAD^+ (никотинамид-адениндинуклеотид), FAD и FMN (флавинадениндинуклеотид и флавиномононуклеотид), кофермент Q (CoQ), семейство гем-содержащих белков — цитохромов (цитохромы b , c_1 , c , a , a_3) и белки, содержащие негеминное железо. Все участники этой цепи разделены на четыре окислительно-восстановительные системы (рис. 6.2).

Процесс начинается с переноса протонов и электронов от окисляемого субстрата на коферменты NAD^+ или FAD . Это определяется тем, является ли дегидрогеназа, катализирующая первую стадию, NAD -зависимой или FAD -зависимой. Если процесс начинается с NAD^+ , то следующим переносчиком будет FMN .

Тип дегидрогеназы зависит от природы субстрата. Однако каким бы ни был исходный субстрат, электроны и протоны от флавинов переносятся к коферменту Q , а дальше пути электронов и протонов расходятся. Электроны с помощью системы

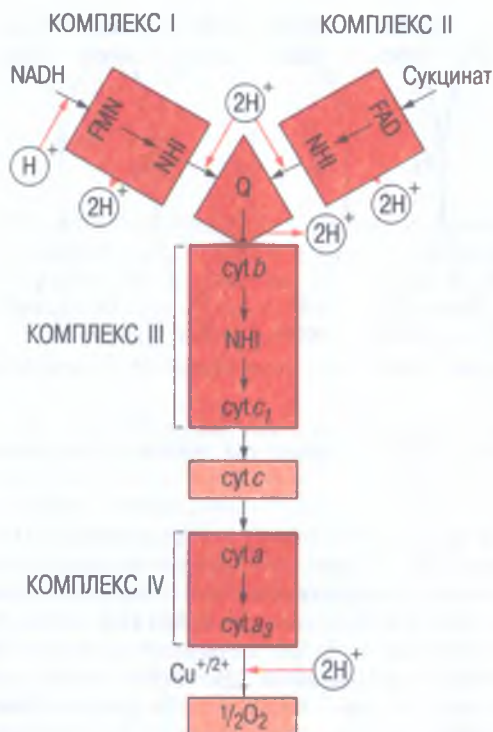


Рис. 6.2. Последовательность промежуточных переносчиков протонов и электронов в дыхательной цепи.

цитохромов достигают кислорода, который затем, присоединяя протоны, превращается в воду. Чтобы разобраться в системе транспорта электронов, необходимо познакомиться с отдельными ее участниками.

NAD-зависимая дегидрогеназа катализирует реакции окисления непосредственно субстрата (первичная дегидрогеназа). NAD^+ является коферментом и выполняет роль акцептора водорода (рис. 6.3). Символ $2H^+$ означает 2 электрона и 2 протона, обычно переносимые в виде гидрид-иона. В этом случае вместо терминов «донор электронов» и «акцептор электронов» иногда используют термины «донор или акцептор водорода».

FAD-зависимая дегидрогеназа также выполняет функцию первичной дегидрогеназы. Коферментом является FAD, который является акцептором водорода от субстрата (см. рис. 6.3).

NADH-дегидрогеназа катализирует окисление NADH и восстановление убихинона (CoQ). Переносчиком водорода является кофермент FMN (комплекс 2 на рис. 6.2). Строение FMN

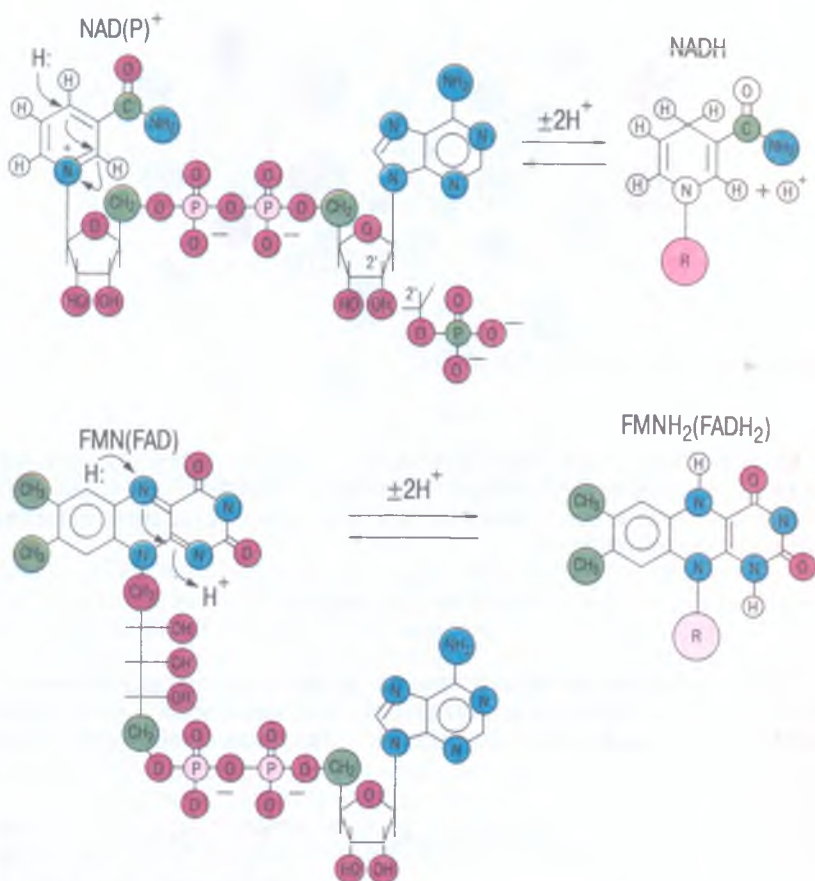


Рис. 6.3. Коферменты дегидрогеназ.

представлено на рис. 6.3. В процессе реакции водород сначала присоединяется к FMN, соединенному с ферментом, а затем передается на убинон. Флавиновые коферменты (FAD и FMN) прочно связаны с ферментом как простетические группы, поэтому ферменты, в состав которых они входят, называются **флавопротенины**. Флавинмонокнуклеотид (FMN), или рибофлавинфосфат, неразрывно связан с белковой частью фермента. Строго говоря, FMN не является нуклеотидом, так как флавиновая часть связана с рибитолом, а не с рибозой.

Убинон — производное изопрена (рис. 6.4). Название «убинон» возникло из-за его повсеместной распространенности в природе. Кофермент Q действует как переносчик электронов на цитохромы.

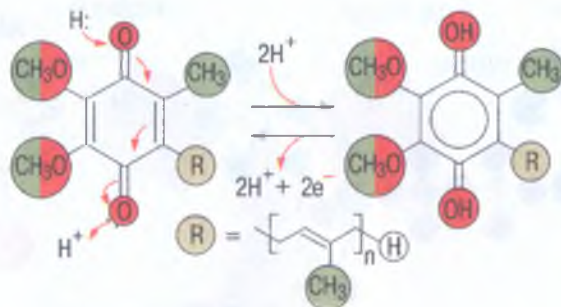
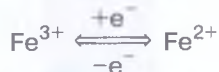


Рис. 6.4. Убихинон (кофермент Q).

Цитохромы — это гемопротеины — белки, содержащие в качестве прочно связанной простетической группы гем (рис. 6.5).

Атом железа в геме может менять валентность, присоединяя или отдавая электроны:



В дыхательной цепи цитохромы служат переносчиками электронов и располагаются соответственно величине окислительно-восстановительного потенциала следующим образом: *b*, *c*,

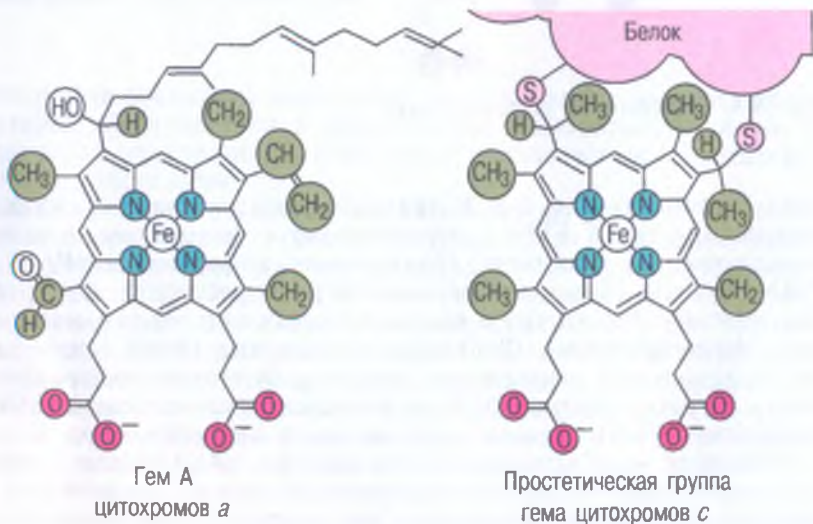


Рис. 6.5. Простетическая группа гема в структуре цитохромов.

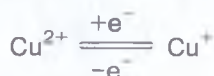


Рис. 6.6. Связывание гема с белковой частью цитохромов *c*.

c, *a*, *a*₃. Гемовые группы цитохромов связаны с белковой частью донорно-акцепторными связями между ионом железа и соответствующими аминокислотными остатками (рис. 6.6).

В цитохромах *c* и *c*₁ дополнительные ковалентные связи формируются между тиогруппами цистеина и боковыми винильными группами гема. *ОН*₂-дегидрогеназа (комплекс III на рис. 6.3) представляет собой комплекс цитохромов *b* и *c*₁. Этот фермент катализирует окисление восстановленного кофермента Q и перенос электронов на цитохром *c*. Электроны последовательно переносятся атомами железа цитохромов *b* и *c*₁, а затем поступают на цитохром *c*. Протоны после окисления QH₂ освобождаются в раствор.

Цитохромоксидаза включает комплекс цитохромов *a* и *a*₃ (комплекс IV на рис. 6.2). Цитохромоксидаза, кроме гема, содержит ионы меди, которые способны менять валентность и таким способом участвовать в переносе электронов:



Цитохромоксидаза переносит электроны с цитохрома *c* на кислород. В переносе электронов участвуют сначала ионы железа цитохромов *a* и *a*₃, а затем ион меди цитохрома *a*₃. Молекула кислорода связывается с железом в геме цитохрома *a*₃. Следовательно, переход электронов на кислород с иона меди цитохрома *a*₃ происходит на молекуле фермента. Каждый из атомов молекулы кислорода присоединяет по 2 электрона и протона, образуя при этом молекулу воды.

Белки, содержащие негеминное железо. Некоторое количество атомов железа в митохондриях связано не в геме цитохромов, а образует комплексы с другими белками. Эти белки называют также железосерными, так как атомы железа связаны с атомами серы цистеиновых остатков. Белки, содержащие негеминное железо, участвуют в переносе электронов на нескольких стадиях, однако не совсем ясны их локализация и механизм действия.

6.2. ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ

Энергия, образующаяся при прохождении потока электронов по дыхательной цепи, используется для сопряженного фосфорилирования ADP. Эти два процесса взаимозависимы: окисление не может протекать в отсутствие ADP. Соотношение окисления и фосфорилирования определяется коэффициентом P/O (количество фосфорилированного ADP в молях на $\frac{1}{2}$ моль кислорода). Коэффициент P/O называется **коэффициентом фосфорилирования** и зависит от точки вхождения восстановительных эквивалентов в цепь транспорта электронов. Например, для субстратов, окисляемых NAD-зависимой дегидрогеназой, $P/O = 3$, так как в дыхательной цепи есть 3 участка, на которых перенос электронов сопряжен с синтезом ATP. Не все субстраты передают электроны и протоны на NAD, некоторые окисляются FAD-зависимыми дегидрогеназами, которые переносят протоны и электроны сразу на убихинон, минуя первый комплекс. В этом случае $P/O = 2$. В действительности коэффициент фосфорилирования всегда меньше теоретической величины, потому что часть энергии, высвобождающейся при транспорте электронов, расходуется не на синтез ATP, а на перенос веществ через митохондриальную мембрану.

В сутки человек потребляет в среднем 27 моль кислорода. Основное его количество (примерно 25 моль) используется в митохондриях в дыхательной цепи. Следовательно, ежедневно синтезируется 125 моль ATP, или 62 кг (при расчете использовали коэффициент $P/O = 2,5$, т.е. среднее значение коэффициента фосфорилирования). Масса всей ATP, содержащейся в организме, составляет примерно 20—30 г. Следовательно, каждая молекула ATP за сутки 2500 раз проходит процесс гидролиза и синтеза, что и характеризует интенсивность обмена ATP.

6.3. СОПРЯЖЕНИЕ РАБОТЫ ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ С ПРОЦЕССОМ СИНТЕЗА ATP

Существование такого сопряжения доказывается тем, что можно ингибировать образование ATP, не нарушая процесса транспорта электронов. Это достигается добавлением хими-

ческих веществ, названных разобщителями. После удаления разобщителей синтез АТР восстанавливается.

Изучение механизма сопряжения дает ответ на основные вопросы: каким образом транспорт электронов служит источником энергии и как эта энергия передается в реакцию $ADP + P_i \rightarrow ATP$.

Существует несколько гипотез, объясняющих механизм сопряжения. Одной из них является хемоосмотическая теория. Цепь транспорта электронов функционирует как *протонная (H^+) помпа*, осуществляя перенос протонов из матрикса через внутреннюю мембрану в межмембранное пространство. Эндоэргический процесс выброса протонов из матрикса возможен за счет экзоэргических окислительно-восстановительных реакций дыхательной цепи. Перенос протонов приводит к возникновению разности концентрации H^+ с двух сторон митохондриальной мембраны: более высокая концентрация будет снаружи и более низкая — внутри. Митохондрия в результате переходит в «энергизованное» состояние, так как возникает *градиент концентрации H^+* и одновременно разность *электрических потенциалов* со знаком плюс на наружной поверхности. *Электрохимический потенциал* способен совершать «полезную» работу, он заставляет протоны двигаться в обратном направлении, но мембрана непроницаема для них, кроме отдельных участков, называемых *протонными каналами*. Обратный перенос протонов в матрикс является экзоэргическим процессом, высвобождающаяся при этом энергия используется на фосфорилирование ADP. Эту реакцию катализирует фермент H^+ — *АТР-синтетаза*, располагающаяся в области протонных каналов на внутренней поверхности внутренней мембраны (рис. 6.7; 6.8).

Разобщение дыхания и фосфорилирования. Убедительные экспериментальные доказательства в пользу описанного механизма сопряжения дыхания и фосфорилирования были получены с помощью *ионофоров*. Молекулы этих веществ, как правило, липофильны и способны переносить ионы через мембрану. Например, *2,4-динитрофенол (протонофор)* легко диффундирует через мембрану в ионизированной и неионизированной форме, перенося протоны в сторону их меньшей концентрации в обход протонных каналов.

Таким образом 2,4-динитрофенол уничтожает электрохимический потенциал и синтез АТР становится невозможным, хотя окисление субстратов при этом происходит. Энергия дыхательной цепи в подобном случае полностью рассеивается в виде теплоты. Этим объясняется пирогенное действие разобщителей. Разобщающее действие оказывают некоторые антибиотики, такие, как валиномицин и грамицидин.

Дыхательный контроль. Скорость дыхания митохондрий может контролироваться концентрацией ADP. Это объясняется

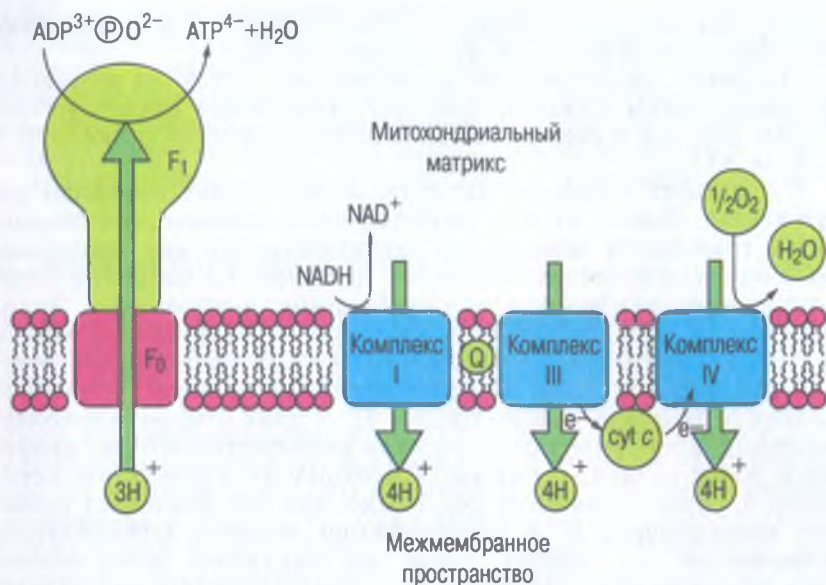


Рис. 6.7. Сопряжение цепи транспорта электронов и фосфорилирования ADP посредством протонного градиента.

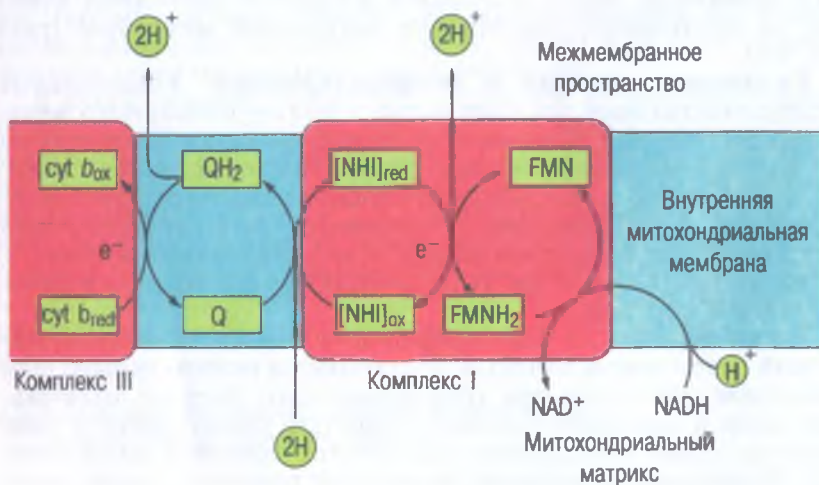


Рис. 6.8. Структура компонентов комплекса I, обеспечивающего функционирование «протонной помпы» при окислении $NADH$.

тем, что окисление и фосфорилирование жестко сопряжены. Энергия, необходимая клетке для совершения работы, поставляется за счет гидролиза АТФ. Концентрация АДФ при этом увеличивается; в результате создаются условия для ускорения дыхания, что и ведет к восполнению запасов АТФ.

Ингибиторы цепи транспорта электронов и окислительного фосфорилирования. Ингибиторы, блокирующие дыхательную цепь, действуют в определенных местах, препятствуя работе дыхательных ферментов. Существуют также вещества, ингибирующие окислительное фосфорилирование. Например, барбитураты ингибируют активность NADH-дегидрогеназы, а цианиды и оксид углерода (CO) — активность цитохромоксидазы. В присутствии этих ингибиторов транспорт электронов прекращается, а значение Р/О равно 0.

Если процесс катаболизма рассматривать с общей точки зрения, то можно выделить три основные его части (рис. 7.1).

I. Расщепление в пищеварительном тракте. Это гидролитические реакции, превращающие сложные пищевые вещества в относительно небольшое число простых метаболитов: глюкозу, аминокислоты, глицерин, жирные кислоты.

II. Специфические пути катаболизма. Простые метаболиты подвергаются специфическим реакциям расщепления, в результате которых образуется либо пировиноградная кислота, либо ацетил-СoА. Следует отметить, что ацетил-СoА может образоваться из пирувата вследствие окислительного декарбоксилирования. Могут также образоваться другие соединения, непосредственно включающиеся в цитратный цикл.

III. Цитратный цикл и дыхательная цепь. Это завершающие звенья расщепления пищевых веществ до конечных продуктов — CO_2 и H_2O .

Следовательно, начиная со стадии образования пирувата, происходит унификация путей катаболизма. Из большого числа исходных соединений образуется всего два — пируват и аце-

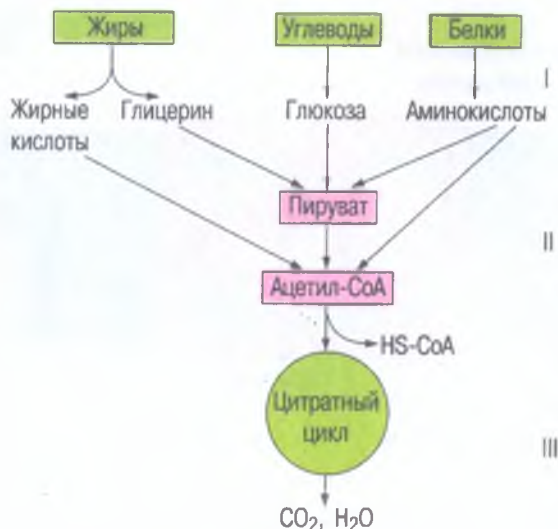
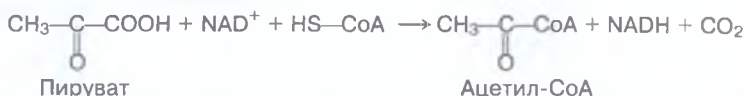


Рис. 7.1. Катаболизм основных пищевых веществ.

тил-СоА. Процесс, начинающийся с пирувата, называется общим путем катаболизма. Он в свою очередь состоит из окислительного декарбоксилирования пирувата и цитратного цикла. Именно в общем пути катаболизма образуется основная масса субстратов для реакций дегидрирования. Совместно с дыхательной цепью и окислительным фосфорилированием общий путь катаболизма является основным источником энергии в форме АТР.

7.1. ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ДЕКАРБОКСИЛИРОВАНИЕ ПИРОВИНОГРАДНОЙ КИСЛОТЫ

Суммарный результат многостадийной реакции выглядит следующим образом:



Реакция катализируется тремя ферментами, работающими в определенной последовательности и объединенными в **пируватдегидрогеназный комплекс** (рис. 7.2). Этот комплекс ферментов работает подобно конвейеру, в котором продукт передается от фермента к ферменту. Такой принцип повышает эффективность работы ферментов, так как снижает случайность в контакте реагирующих веществ с ферментом. Далее приводятся названия ферментов и характеристика катализируемых реакций.

Пируватдекарбоксилаза (1). В качестве кофермента в реакции участвует *тиаминдифосфат* — производное витамина В₁. Фермент катализирует отщепление карбоксильной группы в виде СО₂, а ацетильный остаток присоединяет к липоевой кислоте — коферменту второго фермента. Получается ацетил-липоат.



Рис. 7.2. Пируватдегидрогеназный комплекс.

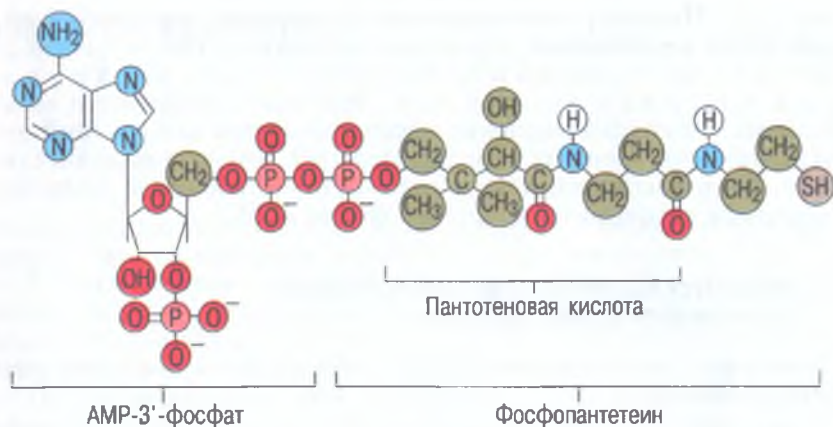


Рис. 7.3. Строение HS-CoA.

Дигидролипоатацетилтрансфераза (2). Это второй фермент комплекса. Катализирует перенос ацетильного остатка, соединенного с липоевой кислотой, на второй кофермент HS-CoA (рис. 7.3) с образованием ацетил-CoA. Таким образом, в этой реакции участвуют два кофермента: липоевая кислота, прочно соединенная с ферментом, и кофермент А, объединяющийся с ферментом в момент реакции. Водород остается связанным с липоевой кислотой, которая превращается в дигидролипоат.

Дегидрогеназа дигидролипоевой кислоты (3). Данный фермент отщепляет водород от липоевой кислоты и переносит его на NAD^+ . Далее водород транспортируется дыхательной цепью. Главные продукты реакции — это $\text{NADH} + \text{H}^+$ и ацетил-CoA. $\text{NADH} + \text{H}^+$ затем окисляется в дыхательной цепи, где энергия используется на синтез 3 молей АТФ, а ацетил-CoA окисляется в цитратном цикле. Пируватдекарбоксилазный комплекс находится на внутренней мембране митохондрий и соединен с ней со стороны матрикса.

7.2. ЦИТРАТИЙ ЦИКЛ

Цитратный цикл (цикл Кребса, цикл трикарбоновых кислот) — это система реакций, приводящая к полному окислению двухуглеродного ацетильного фрагмента, имеющего различное происхождение. Цитратный цикл является общим конечным путем окисления белков, жиров и углеводов. Все реакции цитратного цикла, как и окислительного декарбоксилирования пирувата, локализованы в митохондриях. Результатами одного полного цикла являются:

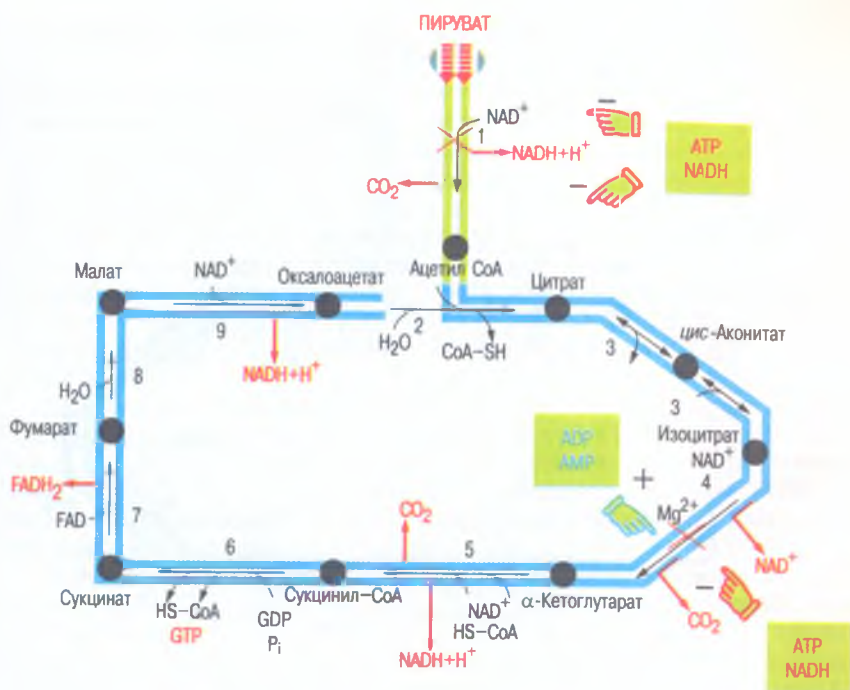


Рис. 7.4. Схема цитратного цикла.

Ферменты: 1 — пируватдегидрогеназный комплекс; 2 — цитратсинтаза; 3 — аконитаза; 4 — изоцитратдегидрогеназа; 5 — α -кетоглутаратдегидрогеназный комплекс; 6 — сукцинил-CoA-тиокиназа; 7 — сукцинатдегидрогеназа; 8 — фумараза; 9 — малатдегидрогеназа.

- ♦ полное окисление ацетильного остатка до 2 молекул CO_2 ;
- ♦ образование 3 молекул восстановленного NAD^+ и одной молекулы FADH_2 ;
- ♦ образование одной молекулы GTP в результате субстратного фосфорилирования.

Реакции цитратного цикла, их характеристика и ферменты приведены на рис. 7.4 и 7.5.

7.3. СОПРЯЖЕНИЕ ОБЩИХ ПУТЕЙ КАТАБОЛИЗМА С ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПЬЮ

В общих путях катаболизма происходит 5 реакций дегидрирования: одна на стадии окислительного декарбоксилирования пирувата и четыре в цитратном цикле. Все 10 атомов водорода переносятся на коферменты дегидрогеназ, которые в свою очередь окисляются в дыхательной цепи. Окисленные коферменты возвращаются в реакции общих путей катаболизма. **Регенера-**

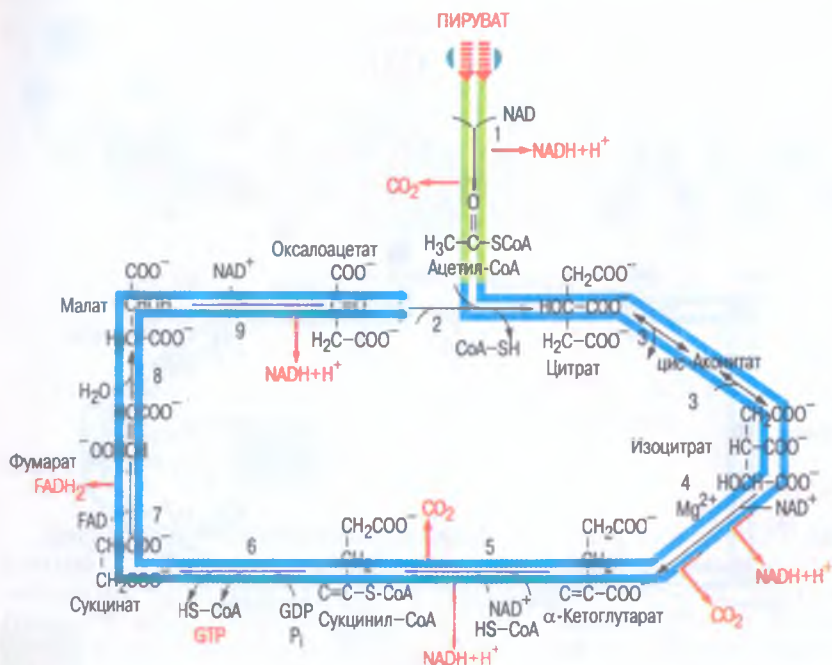


Рис. 7.5. Схемы цитратного цикла и регуляции общего пути катаболизма. Названия ферментов, обозначенных цифрами, такие же, как на рис. 7.4.

ция коферментов — обязательное условие для протекания реакции дегидрирования. Таким образом, общий путь катаболизма и дыхательная цепь непрерывно связаны между собой и отдельно функционировать не могут.

7.4. ЭНЕРГЕТИКА ЦИТРАТИНОГО ЦИКЛА И ОБЩИХ ПУТЕЙ КАТАБОЛИЗМА

За один оборот цитратного цикла синтезируется 12 молекул АТФ. Девять из них образуются за счет энергии транспорта в дыхательной цепи 3 пар водорода от 3 молекул $\text{NADH} + \text{H}^+$. Две молекулы АТФ синтезируются при окислении одной молекулы FADH_2 , так как в дыхательной цепи в данном случае действуют только 2 пункта сопряжения с окислительным фосфорилированием АДФ. Кроме того, в цитратном цикле происходит одна реакция субстратного фосфорилирования, дающая 1 моль ГТФ (АТФ).

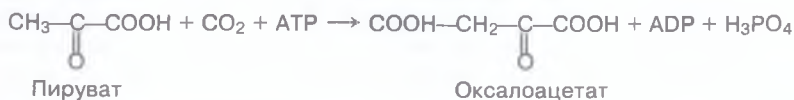
В общих путях катаболизма синтезируется 15 молекул АТФ: три при окислительном декарбоксилировании пирувата и 12 — в цитратном цикле.

7.5. РЕГУЛЯЦИЯ ОБЩИХ ПУТЕЙ КАТАБОЛИЗМА

Главный фактор, регулирующий скорость дыхания и фосфорилирования — *энергетические потребности организма*. Основная масса восстановленных эквивалентов для дыхательной цепи поступает из общих путей катаболизма. Следовательно, регуляция общих путей катаболизма и дыхательной цепи тесно связана. Все контролирующие механизмы осуществляются на уровне ферментов, причем многие из них с помощью аллостерических эффекторов. Для оценки энергетического состояния клетки используют величину *энергетического заряда*, отражающую соотношение концентрации АТФ к продуктам ее распада — АДФ и АМР.

При увеличении энергетического заряда в клетке (в состоянии покоя) скорость реакций общих путей катаболизма снижается, а при уменьшении энергетического заряда — увеличивается. Это достигается тем, что **АТФ действует как аллостерический ингибитор, а АДФ и АМР — как аллостерические активаторы некоторых ферментов** (см. рис. 7.5).

Другой механизм регуляции связан с необходимостью регенерации NAD^+ в дыхательной цепи. При уменьшении расхода АТФ в клетке скорость дыхания митохондрий снижается (дыхательный контроль), уменьшается также скорость окисления NADH в дыхательной цепи и увеличивается концентрация NADH . В этом случае NADH ингибирует некоторые ферменты общих путей катаболизма, что приводит к замедлению реакций катаболизма и, следовательно, замедлению наработки восстановленных коферментов и замедлению синтеза АТФ (см. рис. 7.5). При увеличении энергетических потребностей организма происходит все наоборот. Ряд промежуточных продуктов цитратного цикла служат предшественниками для синтеза необходимых организму веществ. Так, сукцинил- CoA используется для синтеза гема, оксалоацетат и α -кетоглутарат — для синтеза аспарагиновой и глутаминовой кислот. Очевидно, что выведение хотя бы одного метаболита нарушает работу цикла, так как уменьшает регенерацию оксалоацетата. Для компенсации концентрации метаболитов цикла в митохондриях происходит реакция карбоксилирования пирувата с образованием оксалоацетата. Таким образом, пируват включается в цитратный цикл двумя путями: окислительное декарбоксилирование с образованием ацетил- CoA , карбоксилирование с образованием оксалоацетата. Последнюю реакцию катализирует пируваткарбоксилаза, коферментом является биотин:



7.6. ГИПОЭНЕРГЕТИЧЕСКИЕ СОСТОЯНИЯ

Наиболее частой причиной гипознергетических состояний является **гипоксия**, которая возникает при следующих нарушениях:

- ♦ *нарушении поступления кислорода в кровь*, что наблюдается при недостаточности O_2 во вдыхаемом воздухе или нарушении легочной вентиляции;
- ♦ *нарушении транспорта кислорода в ткани* при нарушении кровообращения или снижении транспортной функции гемоглобина;
- ♦ *нарушении функций митохондрий*, вызванное действием ядов, разобщителей.

Кроме того, причиной гипознергетических состояний могут быть **гиповитаминозы**, так как в реакциях общих путей катаболизма и дыхательной цепи участвуют коферменты, содержащие витамины. Так, витамин B_1 входит в состав тиаминдифосфата, B_2 является составной частью FMN и FAD, витамин PP в виде никотинамида входит в состав NAD и NADP, пантотеновая кислота — в состав CoA, биотин также выполняет коферментную функцию.

8.1. ФУНКЦИИ УГЛЕВОДОВ

Углеводы выполняют в основном *энергодативную функцию*. Главным источником энергии является глюкоза, образующаяся из углеводов пищи. В промежутках между едой в качестве легко мобилизуемого резерва глюкозы используется гликоген. Кроме того, из углеводов могут синтезироваться липиды, некоторые аминокислоты, пентозы. Углеводы входят как составная часть в структурно-функциональные компоненты клетки — гликолипиды и гликопротеины. Углеводы используются для синтеза нуклеиновых кислот, участвуют в построении иммуноглобулинов и входят в состав коферментов.

8.2. РАСЩЕПЛЕНИЕ УГЛЕВОДОВ

Суточная норма углеводов в пище составляет 400—500 г. Основными углеводами пищи являются следующие: 1) **крахмал** — разветвленный гомополисахарид из глюкозы. Момеры линейных участков соединены α -1,4-гликозидными связями, а в местах разветвления — α -1,6-связями; 2) **дисахариды**: **сахароза** [Глк-(α -1,2)-фру], **лактоза** [Гал-(β -1,4)-Глк], **мальтоза** [Глк-(α -1,4)-Глк].

При переваривании углеводов в пищеварительном тракте происходят ферментативный гидролиз гликозидных связей и образование моносахаридов, главным из которых является глюкоза. Гидролиз крахмала начинается в полости рта при участии *амилазы слюны*, которая частично расщепляет внутренние α -1,4-гликозидные связи, образуя менее крупные, чем крахмал, молекулы — декстрины. Далее гидролиз крахмала продолжается в верхнем отделе кишечника под воздействием *панкреатической амилазы*, также расщепляющей α -1,4-гликозидные связи. В результате из крахмала образуются дисахаридные остатки мальтозы и изомальтозы [Глк-(α -1,6)-Глк]. Гидролиз всех дисахаридов происходит на поверхности клеток кишечника и катализируется специфическими ферментами: *сахаразой, лактазой, мальтазой и изомальтазой*. Эти гликозидазы синтезируются в клетках кишечника.

Всасывание моносахаридов из кишечника в кровь осуществляется путем облегченной диффузии. Если концентрация глюкозы в кишечнике невелика, то ее транспорт может происходить за счет градиента концентрации ионов Na^+ , создаваемого Na^+ , K^+ -АТФазой.

8.3. МЕТАБОЛИЗМ ГЛЮКОЗЫ

Глюкоза играет главную роль в метаболизме, так как именно она является основным источником энергии. Глюкоза может превращаться практически во все моносахариды, однако возможно и обратное превращение. Основные пути метаболизма глюкозы:

- ♦ катаболизм глюкозы — гликолиз;
- ♦ синтез глюкозы — глюконеогенез;
- ♦ депонирование и распад гликогена;
- ♦ синтез пентоз — пентозофосфатные пути.



8.4. ТРАНСПОРТ ГЛЮКОЗЫ В КЛЕТКИ

С кровью воротной вены большая часть глюкозы (около половины) из кишечника поступает в печень, остальная глюкоза через общий кровоток транспортируется в другие ткани. Концентрация глюкозы в крови в норме поддерживается на постоянном уровне и составляет 3,33—5,55 мкмоль/л, что соответствует 80—100 мг в 100 мл крови. Транспорт глюкозы в клетки носит характер *облегченной диффузии*, но регулируется во многих клетках гормоном поджелудочной железы **инсулином**, действие которого приводит к перемещению белков-переносчиков из цитозоля в плазматическую мембрану (рис. 8.1). Затем с помощью этих белков глюкоза транспортируется в клетку по градиенту концентрации. Скорость поступления глюкозы в мозг и печень не зависит от уровня инсулина и определяется только концентрацией ее в крови. Эти ткани называются инсулиннезависимыми.

8.5. КАТАБОЛИЗМ ГЛЮКОЗЫ

Гликолиз — это серия реакций, в результате которых глюкоза распадается на 2 молекулы пирувата (аэробный гликолиз) или 2 молекулы лактата (анаэробный гликолиз). Все 10 реакций гликолиза протекают в цитозоле и характерны для всех органов и

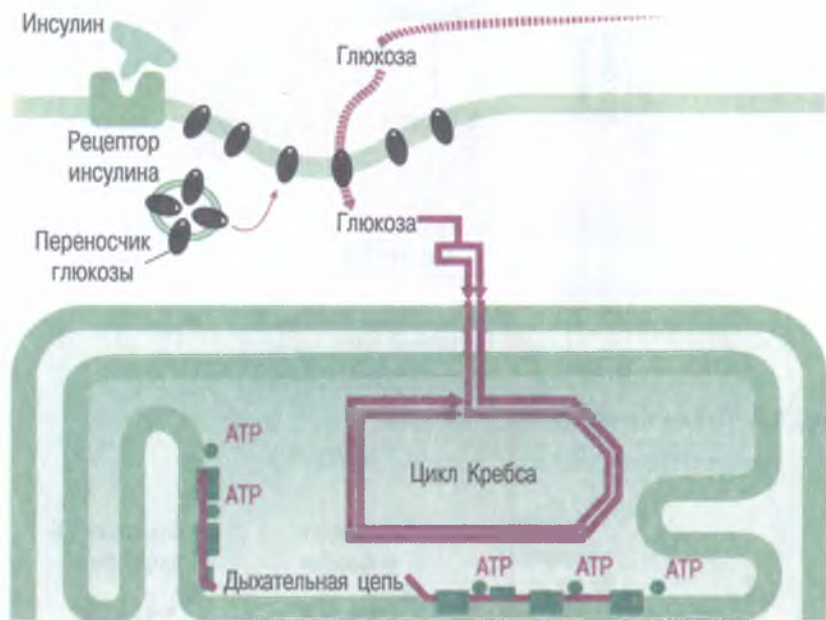


Рис. 8.1. Транспорт глюкозы в клетку.

тканей. *Аэробный распад глюкозы* включает реакции аэробного гликолиза и последующее окисление пирувата в реакциях катаболизма (рис. 8.2). Таким образом, аэробный распад глюкозы — это предельное ее окисление до CO_2 и H_2O . *Анаэробный гликолиз* — это специфический путь катаболизма, т.е. часть аэробного распада глюкозы. Анаэробный распад включает те же реакции специфического пути распада глюкозы до пирувата, но с последующим превращением пирувата в лактат (т.е. термины «анаэробный распад» и «анаэробный гликолиз» совпадают).

Последовательность реакций гликолиза приведена на рис. 8.3 и 8.4.

В гликолизе можно выделить три основных этапа. На I этапе превращениям подвергаются гексозы, на II — триозы, на III — карбоновые кислоты.

Х а р а к т е р и с т и к а г л и к о л и з а :

- ◆ большинство реакций обратимо, за исключением трех (реакции 1, 3, 10);
- ◆ все метаболиты находятся в фосфорилированной форме;
- ◆ источником фосфатной группы в реакциях фосфорилирования являются АТФ (реакции 1 и 3) или неорганический фосфат (реакция 6);



Рис. 8.2. Схема катаболизма глюкозы.

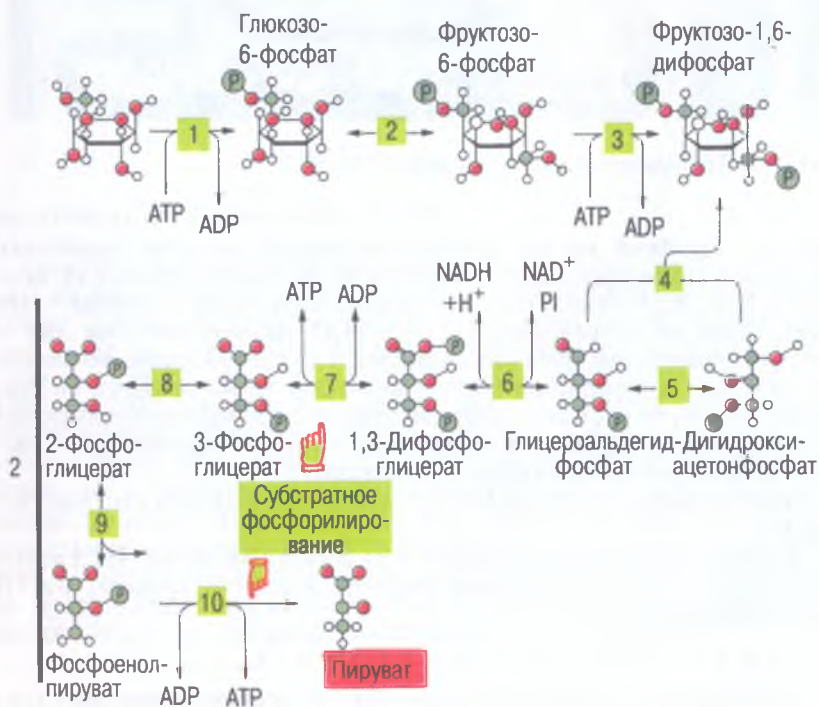


Рис. 8.3. Последовательность реакций гликолиза.

1 — гексокиназа; 2 — глюкозо-6-фосфатизомераза; 3 — фосфофруктокиназа; 4 — фруктозодифосфотальдолаза; 5 — триозофосфотизомераза; 6 — глицероальдегиддегидрогеназа; 7 — фосфоглицераткиназа; 8 — фосфоглицератмутаза; 9 — фосфопируватгидратаза; 10 — пируваткиназа.

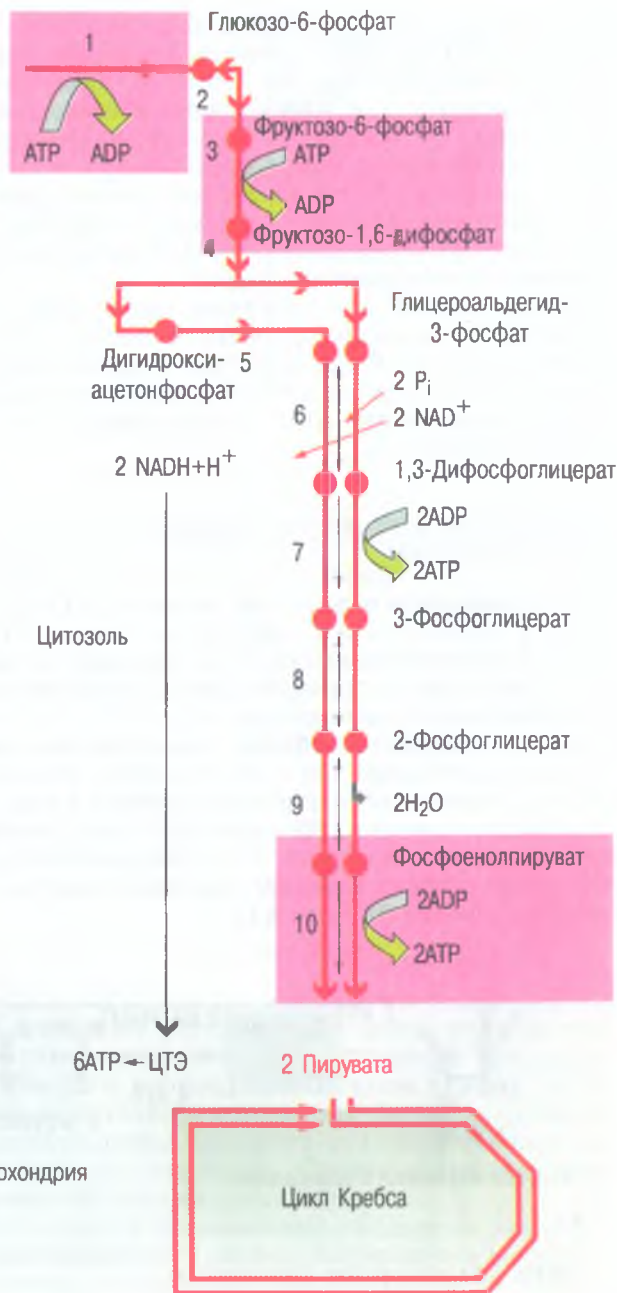


Рис. 8.4. Аэробный распад глюкозы.

- ♦ регенерация NAD^+ , являющаяся необходимым условием протекания гликолиза, происходит при аэробном гликолизе посредством дыхательной цепи. В этом случае водород транспортируется в митохондрии с помощью челночного механизма при участии переносчиков. Это происходит потому, что мембрана митохондрий непроницаема для протонов. При анаэробном гликолизе регенерации NAD^+ осуществляется независимо от дыхательной цепи. В этом случае акцептором водорода от NADH является пируват, который восстанавливается в лактат;
- ♦ образование АТФ при гликолизе может идти двумя путями: либо субстратным фосфорилированием, когда для фосфорилирования ADP используется энергия макроэргической связи субстрата (реакции 7 и 9), либо путем окислительного фосфорилирования ADP , сопряженного с дыхательной цепью (реакция 6).

8.6. ЭНЕРГЕТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ АЭРОБНОГО РАСПАДА ГЛЮКОЗЫ

В аэробном гликолизе образуется 10 молей АТФ на 1 моль глюкозы. Так, в реакциях 7 и 10 образуется 4 моль АТФ путем субстратного фосфорилирования, а в реакции 6 синтезируется 6 молей АТФ (на 2 моль глицероальдегидфосфата) путем окислительного фосфорилирования (рис. 8.5).

Суммарный эффект аэробного гликолиза составляет 8 молей АТФ, так как в реакциях 1 и 3 используется 2 моль АТФ. Дальнейшее окисление 2 молей пирувата в общих путях катаболизма сопровождается синтезом 30 молей АТФ (по 15 молей на каждую молекулу пирувата) (см. рис. 7.3). Следовательно, суммарный энергетический эффект аэробного распада глюкозы до конечных продуктов составляет 38 молей АТФ.

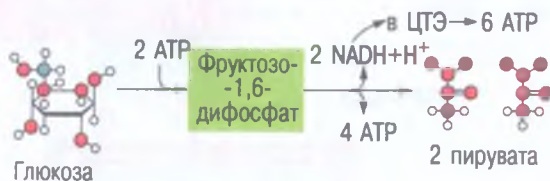


Рис. 8.5. Баланс аэробного гликолиза.

8.7. ЗНАЧЕНИЕ АНАЭРОБНОГО ГЛИКОЛИЗА

Анаэробный и аэробный гликолиз энергетически неравноценны. Образование 2 молей лактата из глюкозы сопровождается



Рис. 8.6. Анаэробный распад глюкозы. Ферменты реакций 1—10 см. на рис. 8.3. Реакцию 11 катализирует лактатдегидрогеназа.

синтезом всего 2 моль АТФ (рис. 8.6), потому что NADH, полученный при окислении глицероальдегидфосфата, не используется дыхательной цепью, а акцептируется пируватом. Анаэробный гликолиз, несмотря на небольшой энергетический эффект, является основным источником энергии для скелетных мышц в начальном периоде интенсивной работы, т.е. в условиях, когда снабжение кислородом ограничено.

Кроме того, зрелые эритроциты извлекают энергию за счет анаэробного окисления глюкозы, потому что не имеют митохондрий.

8.8. ДЕПОНИРОВАНИЕ И РАСПАД ГЛИКОГЕНА

Гликоген — основная форма депонирования глюкозы в клетках животных. У растений эту функцию выполняет крахмал. В структурном отношении гликоген, как и крахмал, представляет собой разветвленный полимер из глюкозы (рис. 8.7), однако гликоген более разветвлен и компактен. Ветвление обеспечивает быстрое освобождение большого количества концевых мономеров при распаде гликогена. Синтез и распад гликогена происходят разными путями (рис. 8.8).

Биосинтез гликогена — **гликогенез** показан на рис. 8.8. и 8.9.

Гликоген синтезируется в период пищеварения (в течение 1—2 ч после приема углеводной пищи). Особенно интенсивно гликогенез протекает в печени и скелетных мышцах. В начальных реакциях образуется UDP-глюкоза (реакция 3), которая

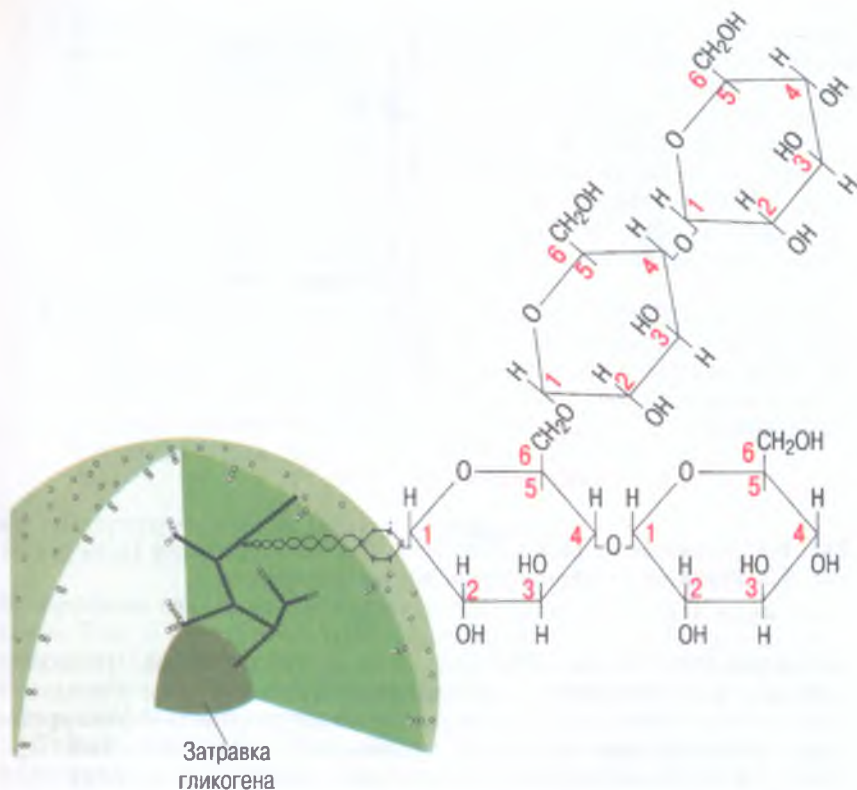


Рис. 8.7. Строение гликогена.

является активированной формой глюкозы, непосредственно включающейся в реакцию полимеризации (реакция 4). Эта последняя реакция катализируется *гликогенсинтазой*, которая присоединяет глюкозу к олигосахариду или к уже имеющейся в клетке молекуле гликогена, наращивая цепь новыми мономерами. Для подготовки и включения в растущую полисахаридную цепь требуется энергия 1 моль АТФ и 1 моль УТФ. Ветвление полисахаридной цепи происходит при участии фермента *амило- α -1,4- α -1,6-гликозилтрансферазы* путем разрыва одной α -1,4-связи и переноса олигосахаридного остатка от конца растущей цепи к ее середине с образованием в этом месте α -1,6-гликозидной связи. Молекула гликогена содержит до 1 млн остатков глюкозы, следовательно, на синтез расходуется значительное количество энергии. Необходимость превращения глюкозы в гликоген связана с тем, что накопление значительного количества глюкозы в клетке привело бы к повышению осмо-

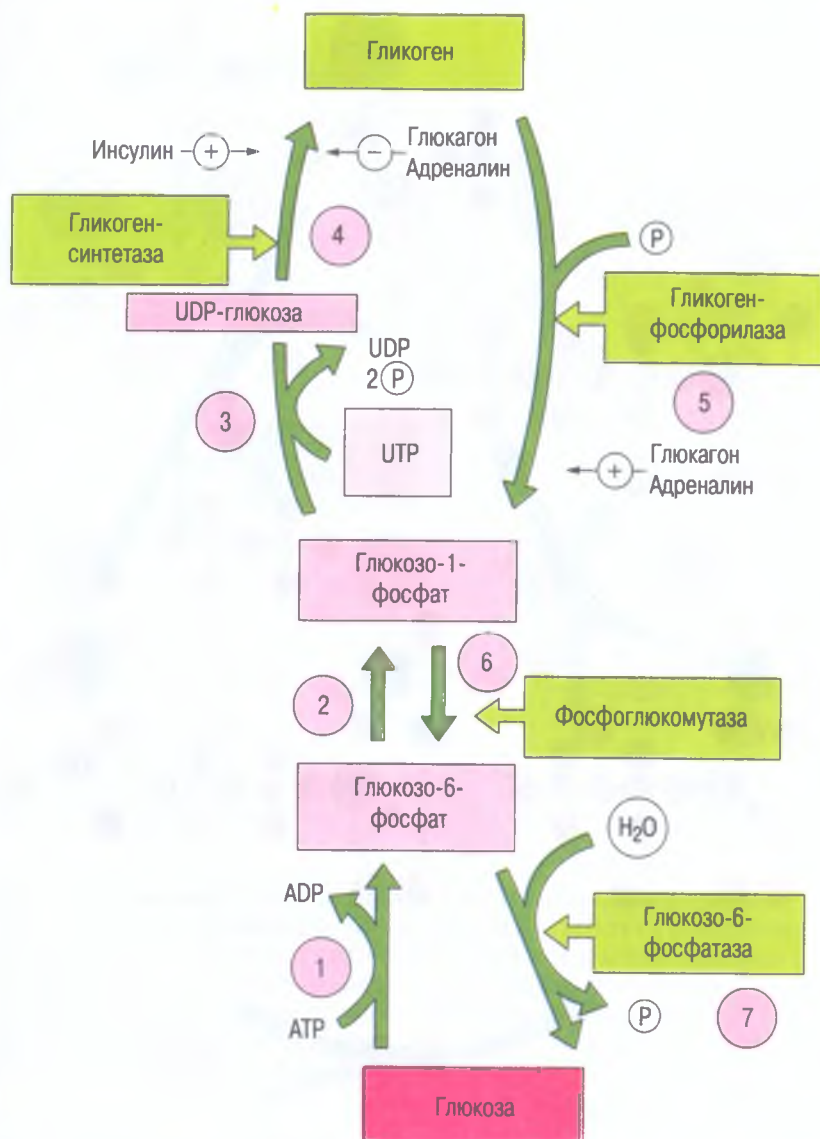


Рис. 8.8. Синтез и распад гликогена.

тического давления, так как глюкоза — хорошо растворимое вещество. Напротив, гликоген содержится в клетке в виде гранул и малорастворим.

Распад гликогена — гликогенолиз (см. рис. 8.8) происходит в период между приемами пищи. Глюкоза в виде глюкозо-1-фос-

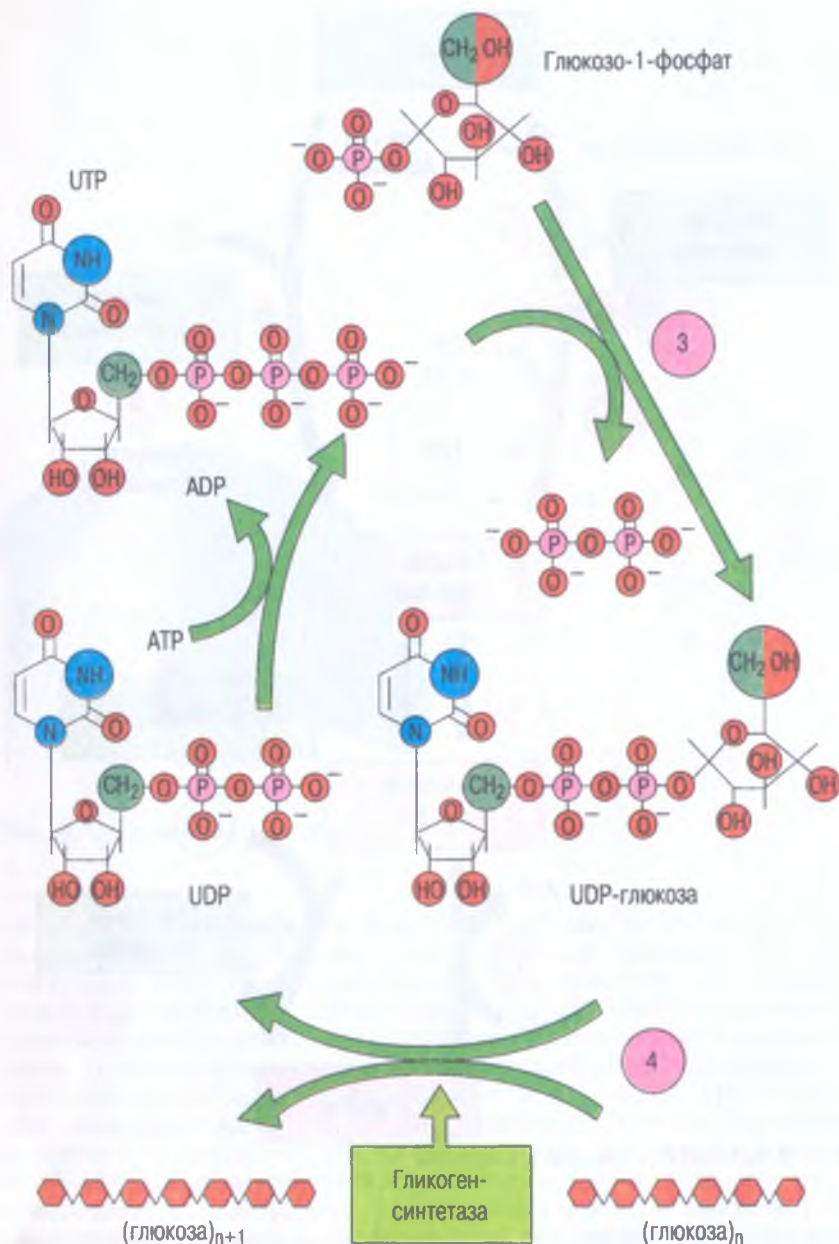


Рис. 8.9. Синтез гликогена.

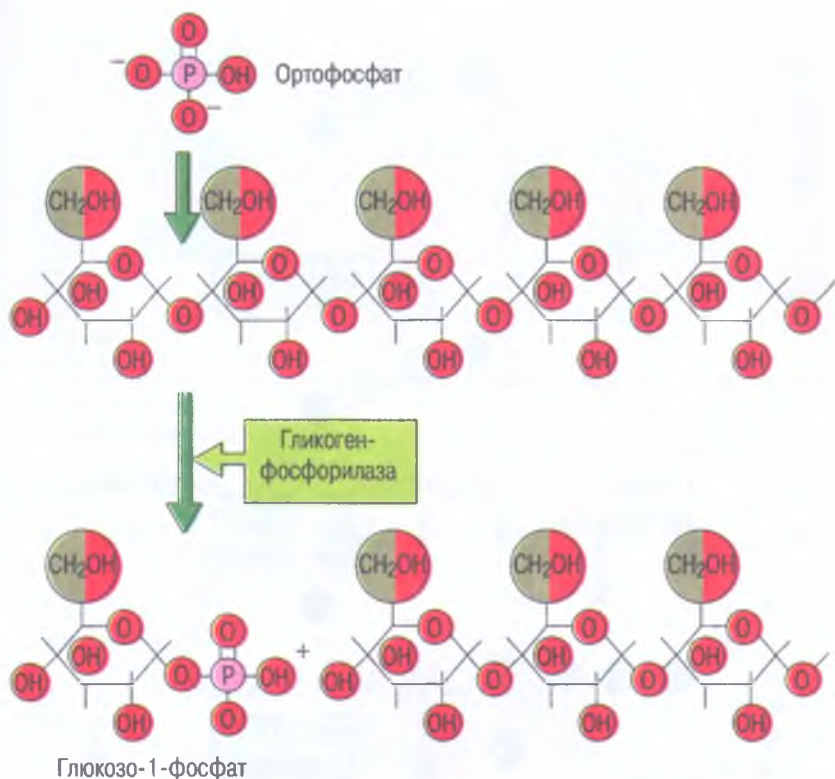


Рис. 8.10. Распад гликогена.

фата (реакция 5) освобождается в результате **фосфоролиза**, катализируемого *фосфорилазой*. Фермент отщепляет концевые остатки один за другим, укорачивая цепи гликогена. Однако этот фермент расщепляет только α -1,4 гликозидные связи. Связи в точке ветвления гидролизуются ферментом амило- α -1,6-гликозидазой, которая отщепляет мономер глюкозы в свободном виде (рис. 8.10, 8.11; см. также рис. 8.12).

8.9. ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЗМА ГЛИКОГЕНА В ПЕЧЕНИ И МЫШЦАХ

Включение глюкозы в метаболизм начинается с образования фосфоэфира — глюкозо-6-фосфата. В мышцах и других органах эту реакцию катализирует фермент *гексокиназа*, его K_m менее 0,1 ммоль/л. В клетках печени эту же реакцию катализирует *глюкокиназа*, значение K_m которой примерно 10 ммоль/л. Это значит,

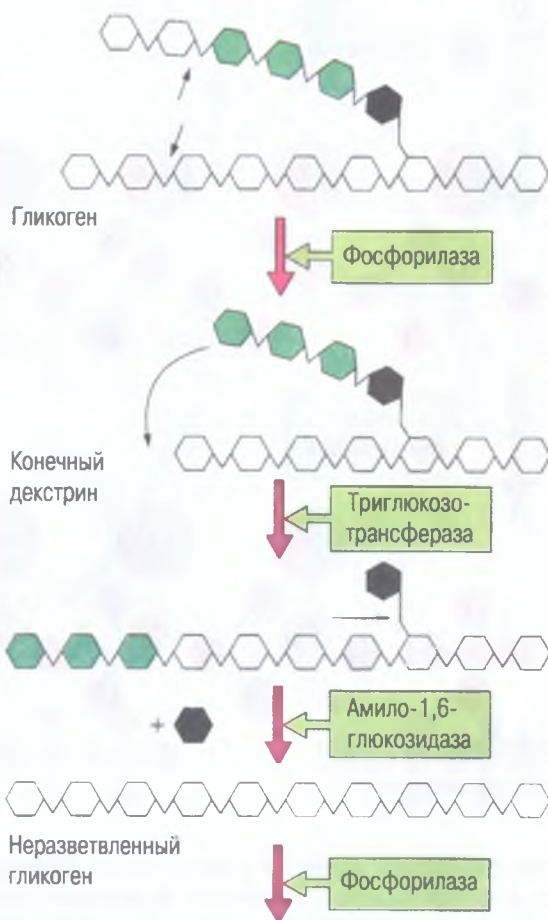
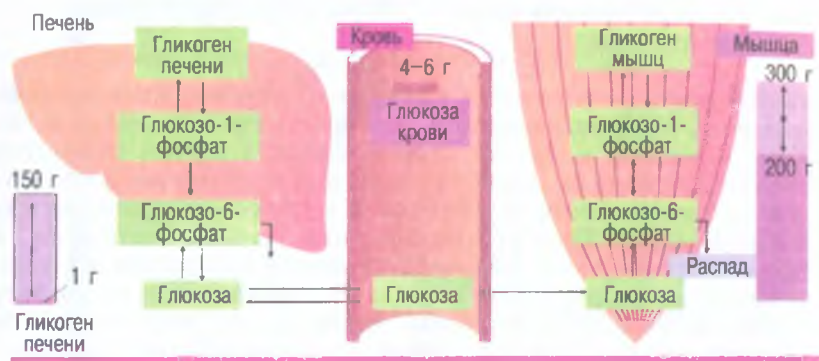


Рис. 8.11. Механизм действия фосфорилазы гликогена.

что насыщение глюкокиназы происходит только при высокой концентрации глюкозы. Различия в свойствах ферментов объясняют, почему в период пищеварения глюкоза задерживается в основном в печени. Глюкокиназа при высокой концентрации глюкозы в этот период максимально активна. Напротив, гексокиназа, обладая большим сродством к глюкозе, способна выхватывать ее из общего кровотока, где концентрации глюкозы ниже.

Физиологическое значение гликогенолиза в печени и мышцах различно. Мышечный гликоген является источником глюкозы для самой клетки. Гликоген печени используется главным образом для поддержания физиологической концентрации глюкозы в



α -1,4-Глюкановая цепь
(неразветвленная)

α -1,4-Глюкановая цепь
(α -1,6-разветвленная)



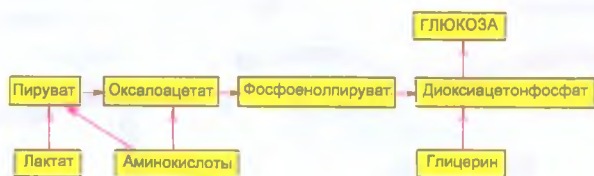
Рис. 8.12. Обмен гликогена в печени и мышцах.

1 — УТР-глюкозо-1-фосфатуридилтрансфераза; 2 — гликогенсинтетаза; 3 — ветвящий фермент; 4 — фосфорилаза; 5 — 4- α -глюканотрансфераза; 6 — амило-1,6-глюкозидаза.

крови. Различия обусловлены тем, что в клетке печени присутствует фермент *глюкозо-6-фосфатаза*, катализирующая отщепление фосфатной группы и образование свободной глюкозы, после чего глюкоза поступает в кровоток. В клетках мышц нет этого фермента, и распад гликогена идет только до образования глюкозо-6-фосфата, который затем используется в клетке (рис. 8.12).

8.10. БИОСИНТЕЗ ГЛЮКОЗЫ — ГЛЮКОНЕОГЕНЕЗ

Глюконеогенез — это синтез глюкозы из неуглеводных предшественников. У млекопитающих эту функцию выполняет в основном печень, в меньшей мере — почки и клетки слизистой оболочки кишечника. Запасов гликогена в организме достаточно для удовлетворения потребностей в глюкозе в период между приемами пищи. При углеводном или полном голодании, а также при длительной физической работе концентрация глюкозы в крови поддерживается за счет глюконеогенеза. В этот процесс могут быть вовлечены вещества, которые способны превратиться в пируват или любой другой метаболит глюконеогенеза.



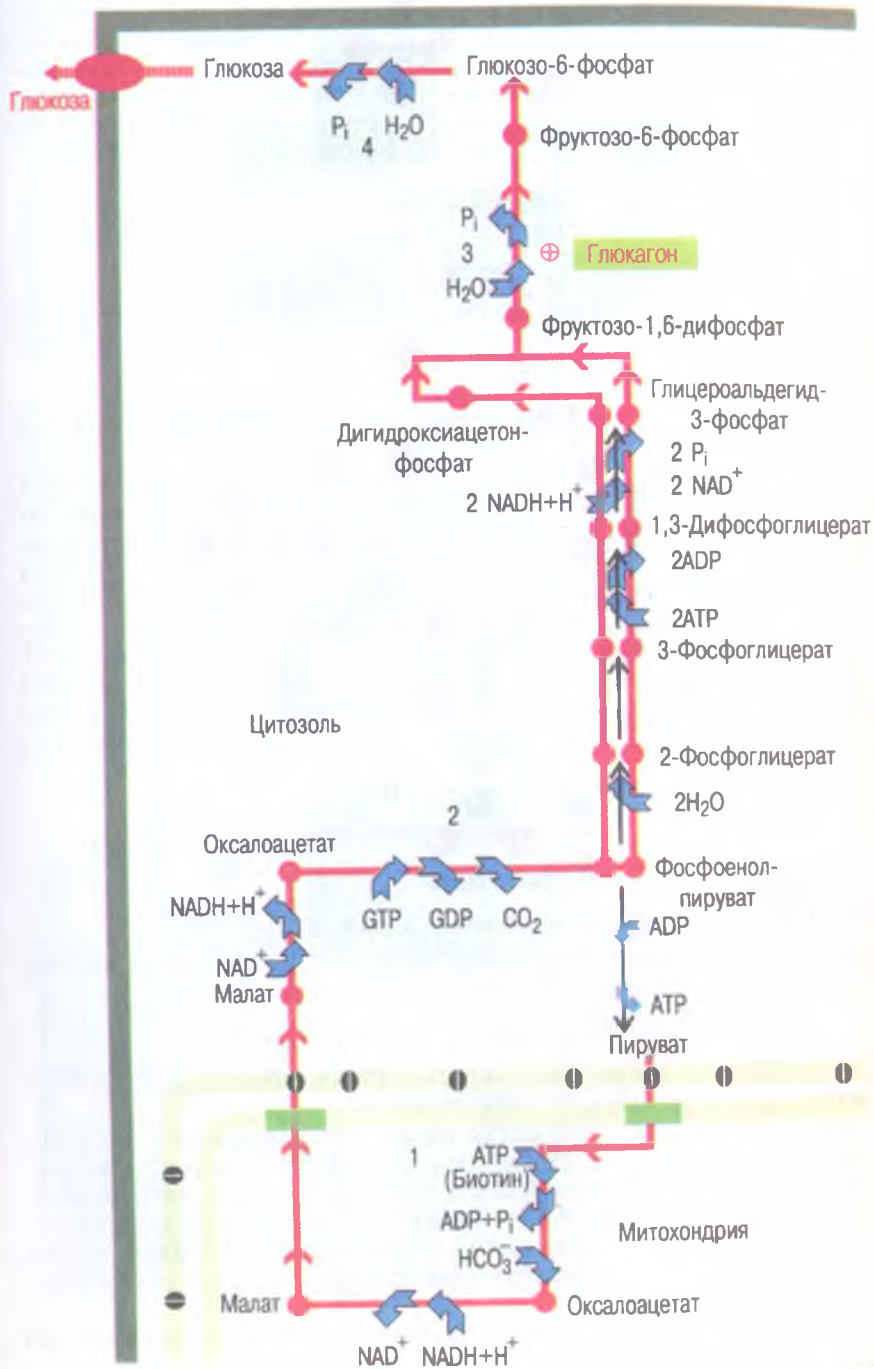
Использование первичных субстратов в глюконеогенезе происходит при различных физиологических состояниях. Так, в условиях голодания часть тканевых белков распадается до аминокислот, которые затем используются в глюконеогенезе. При распаде жиров образуется глицерин, который через диоксиацетонфосфат включается в глюконеогенез. Лактат, образующийся при интенсивной физической работе в мышцах, печени превращается в глюкозу. Следовательно, физиологическая роль глюконеогенеза из лактата, аминокислот и глицерина различна.

Синтез глюкозы из пирувата протекает, как при гликолизе, но в обратном направлении (рис. 8.13; 8.14).

Семь реакций гликолиза легкообратимы и используются в глюконеогенезе. Три киназные реакции необратимы и должны шунтироваться. Так, фруктозо-1,6-дифосфат и глюкозо-6-фосфат дефосфорилируются специфическими фосфатазами, а пируват фосфорилируется до образования фосфоенолпирувата посредством двух промежуточных стадий через оксалоацетат. Образование оксалоацетата катализируется пируваткарбоксилазой. Этот фермент содержит в качестве кофермента биотин.

Рис. 8.13. Глюконеогенез.

Ферменты: 1 — пируваткарбоксилаза; 2 — фосфоенолпируваткарбоксикиназа; 3 — фосфатаза фру-1,6-дифосфата; 4 — глюкозо-6-фосфатаза.



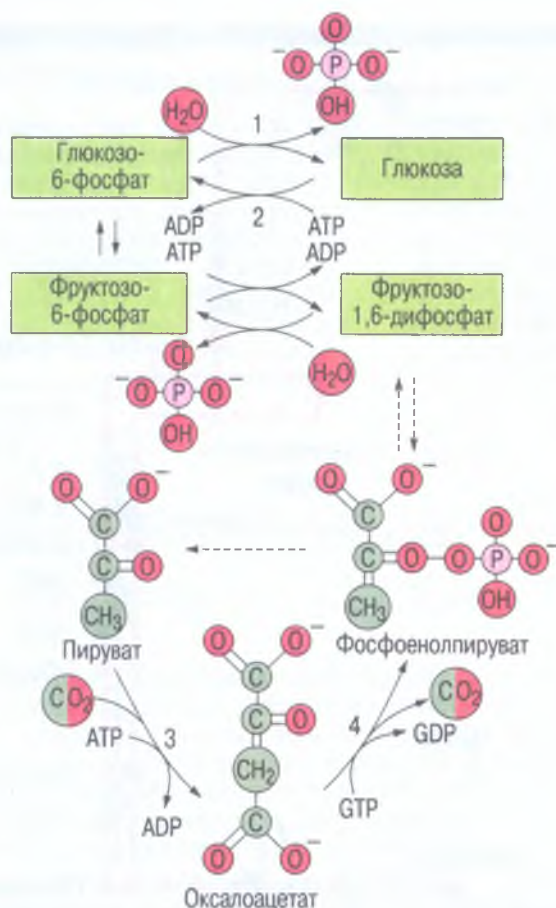


Рис. 8.14. Глюконеогенез, необратимые реакции.

Ферменты: 1 — глюкозо-6-фосфатаза; 2 — гексокиназа; 3 — пируваткарбоксилаза; 4 — фосфоенолпируваткарбоксикиназа.

Оксалоацетат образуется в митохондриях, транспортируется в цитозоль и включается в глюконеогенез.

Следует обратить внимание на то, что каждая из необратимых реакций гликолиза вместе с соответствующей ей необратимой реакцией глюконеогенеза составляют цикл, называемый субстратным (см. рис. 8.14). Таких циклов три соответственно трем необратимым реакциям. Результатом одновременного протекания реакций субстратных циклов является расходование энергии.

Субстратные циклы могут протекать в условиях нормально-

го обмена веществ в печени и имеют вполне определенное биологическое значение. Кроме того, эти циклы служат точками приложения регуляторных механизмов, в результате чего изменяется поток метаболитов либо по пути распада глюкозы, либо по пути ее синтеза.

Суммарное уравнение глюконеогенеза из пирувата:



За сутки в организме человека может синтезироваться до 80 г глюкозы. На синтез 1 моль глюкозы из пирувата расходуется шесть макроэргических связей (4 ATP и 2 GTP).

8.11. ГЛЮКОЗОЛАКТАТИВНЫЙ ЦИКЛ (ЦИКЛ КОРИ)

Глюкозолактатный цикл начинается с образования лактата в мышцах в результате анаэробного гликолиза (особенно в белых мышечных волокнах, в которых митохондрий меньше, чем в красных). Лактат переносится кровью в печень, где в процессе глюконеогенеза превращается в глюкозу, которая затем с током крови может возвращаться в работающую мышцу (рис. 8.15). Таким образом, печень снабжает мышцу глюкозой и, следовательно, энергией для сокращений. В печени часть лактата может окисляться до CO_2 и H_2O , превращаясь в пируват и далее в общих путях катаболизма.

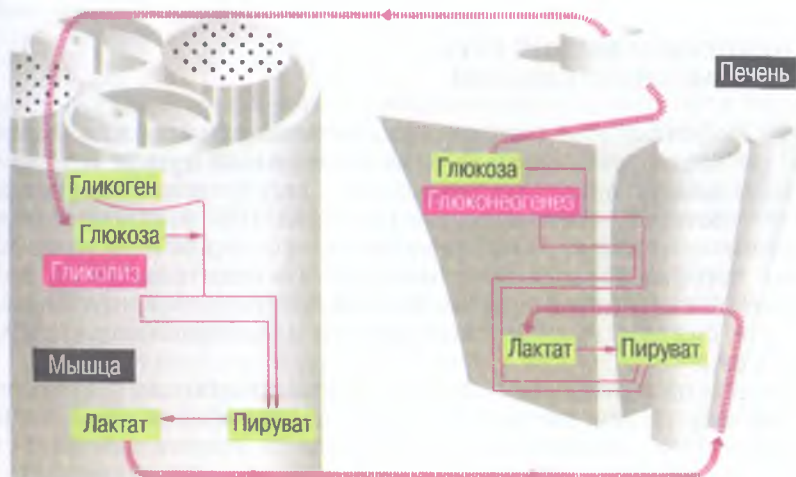


Рис. 8.15. Цикл Кори.

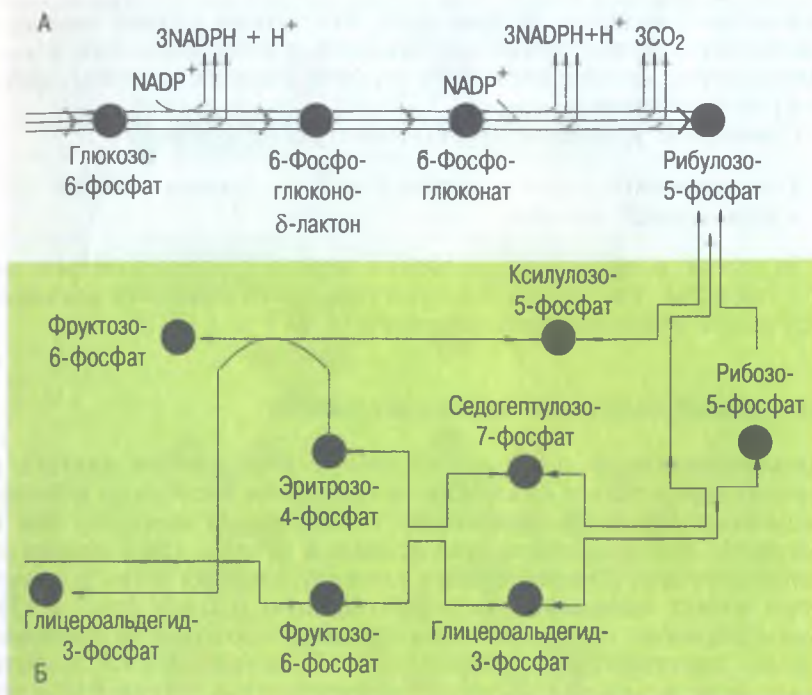


Рис. 8.16. Пентозофосфатный путь превращения глюкозы. Объяснение в тексте.

8.12. ПЕНТОЗОФОСФАТНЫЙ ПУТЬ В МЕТАБОЛИЗМЕ ГЛЮКОЗЫ

В пентозофосфатном пути превращения глюкозы можно выделить две части (рис. 8.16): А — **окислительный путь** и Б — **неокислительный путь**. Коферментом дегидрогеназ является NADP^+ , который восстанавливается в NADPH и используется клетками в реакции восстановления и гидроксирования. Кроме того, пентозофосфатный путь (окислительный и неокислительный) поставляет клетке **пентозофосфаты**, необходимые для синтеза нуклеиновых кислот и коферментов (NAD , FAD , CoA).

Все реакции пентозофосфатного пути происходят в цитозоле. Реакции неокислительного этапа пентозофосфатного пути являются обратимыми, поэтому становится возможным синтез гексоз из пентоз. Некоторые метаболиты неокислительного пути являются также и метаболитами гликолиза. Из этого следует, что оба пути тесно связаны и в зависимости от потреб-

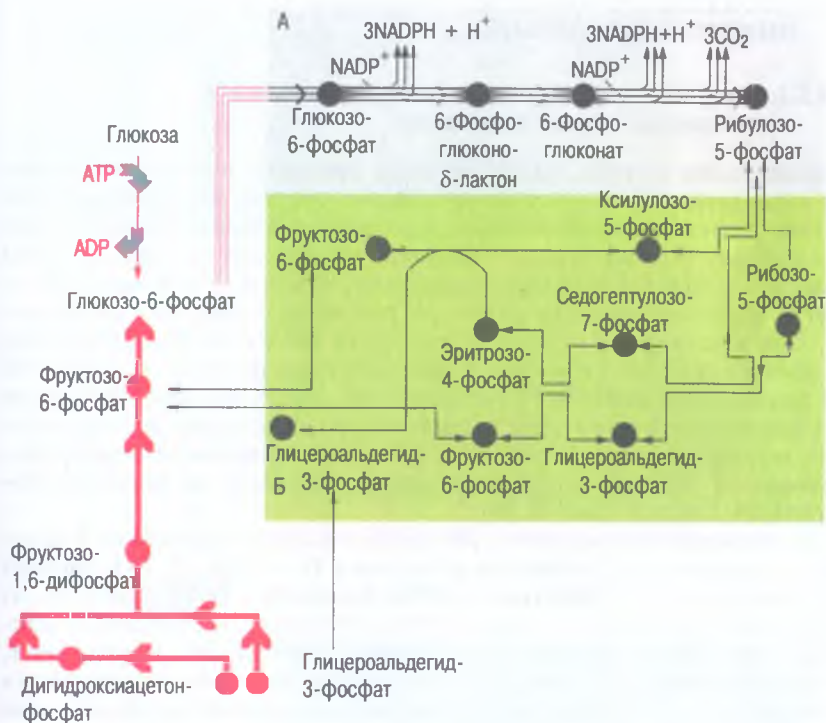


Рис. 8.17. Связь пентозофосфатного пути превращения глюкозы с гликолизом и глюконеогенезом.

ностей клетки возможны переключения с одного пути на другой. При сбалансированной потребности в $NADPH$ и пентозах в клетке происходит окислительный путь синтеза пентоз. Если потребности в пентозах превышают потребности в $NADPH$, то окислительный путь шунтируется за счет использования метаболитов гликолиза: фруктозо-6-фосфат и глицероальдегидфосфат в реакциях неокислительного пути превращаются в пентозы. В случае, если $NADPH$ необходим в большей степени, чем пентозы, то возможны два варианта:

1) при высоком энергетическом статусе клетки излишки пентоз путем обратных реакций неокислительного пути превращаются в фруктозо-6-фосфат и глицероальдегидфосфат, из которых в процессе глюконеогенеза образуется глюкоза;

2) при низком энергетическом статусе клетки из пентоз также образуются глицероальдегидфосфат и фруктозо-6-фосфат, которые затем включаются в гликолиз (рис. 8.17).

8.13. РЕГУЛЯЦИЯ МЕТАБОЛИЗМА УГЛЕВОДОВ (НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ)

8.13.1. Регуляция метаболизма глюкозы в печени, связанная с ритмом питания

Направление метаболизма глюкозы меняется при смене периода пищеварения на постабсорбтивное состояние. При пищеварении глюкоза задерживается в печени и депонируется в виде гликогена. Кроме того, глюкоза используется для синтеза жиров. Исходные субстраты для синтеза жира — α -глицерофосфат и ацетил-СоА образуются из глюкозы в процессе гликолиза. Следовательно, гликолиз в печени имеет особое значение. В постабсорбтивном периоде направление процессов меняется на распад гликогена и глюконеогенез. Координация процессов осуществляется путем аллостерической регуляции и ковалентной модификацией ферментов (*фосфорилирование и дефосфорилирование*). Регуляторные влияния направлены на реакции субстратных циклов (рис. 8.18).

Активность ферментов субстратного цикла фруктозо-6-фосфат — фруктозо-1,6-бисфосфат (цикл II на рис. 8.18) зависит от концентрации фруктозо-2,6-бисфосфата, образующегося из фруктозо-6-фосфата в дополнительной реакции. Синтез и распад этого регуляторного метаболита происходят в реакциях, составляющих еще один субстратный цикл, оба направления которого катализируются одним *бифункциональным ферментом (БИФ)*. Киназная или фосфатазная активность БИФ зависит от фосфорилированного или дефосфорилированного состояния этого фермента. Концентрация фруктозо-2,6-бисфосфата при пищеварении повышается, так как БИФ в этом случае дефосфорилирован и проявляет киназную активность. Фруктозо-2,6-бисфосфат является аллостерическим активатором гликолитического фермента и ингибитором фермента глюконеогенеза. Следовательно, при пищеварении ускоряется гликолитическое направление цикла и тормозится направление глюконеогенеза. Фруктозо-1,6-дифосфат служит аллостерическим активатором пируваткиназы (гликолитический фермент III цикла).

В период пищеварения фруктозо-2,6-дифосфат активирует фосфофруктокиназу и концентрация фруктозо-1,6-дифосфата увеличивается, что приводит к активации пируваткиназы. Так достигается согласованность в регуляции двух субстратных циклов. Регуляция I субстратного цикла достигается следующим образом: при пищеварении концентрация глюкозы повышается до 10—20 мкмоль/л. Активность глюкокиназы в этих условиях максимальная, и глюкозо-6-фосфат идет на синтез гликогена и жиров. Кроме того, глюкоза при такой концентрации участвует в активации гликогенсинтазы.

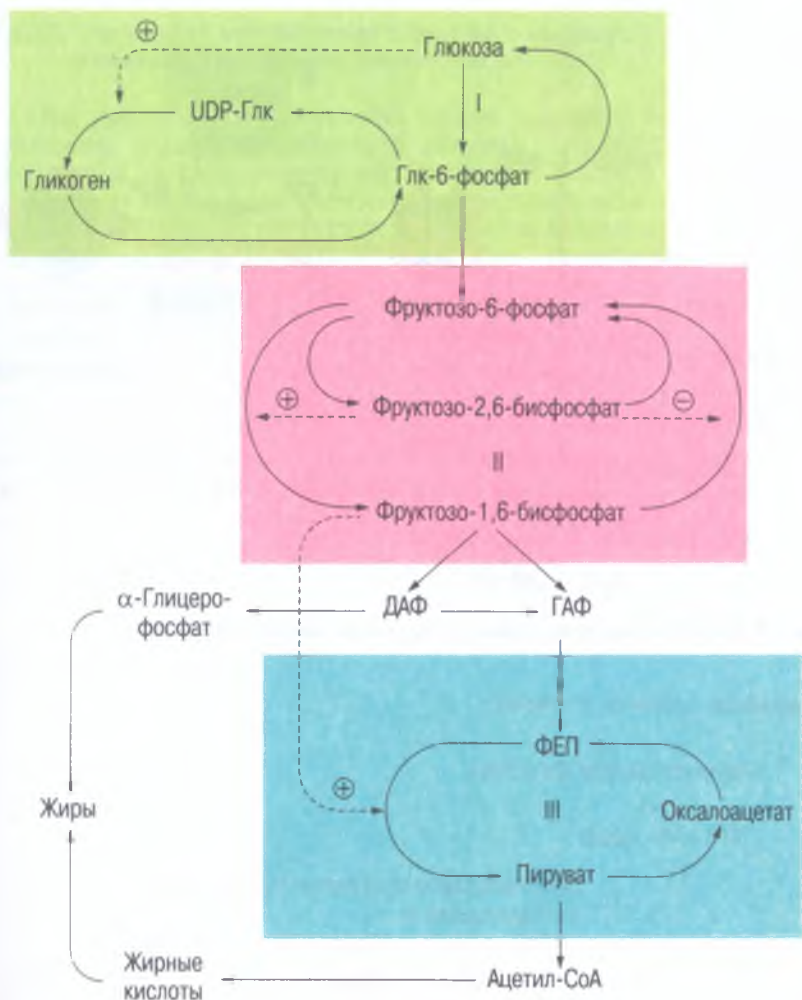


Рис. 8.18. Регуляция обмена глюкозы в печени.

I, II, III — субстратные циклы.

Активность пируватдегидрогеназного комплекса в период пищеварения также повышается, потому что в этих условиях комплекс дефосфорилирован. В результате ускоряются образование ацетил-CoA и использование его для синтеза жирных кислот (рис. 8.19). Переход ферментов из дефосфорилированного состояния в фосфорилированное находится под контролем гормонов, а метаболизм глюкозы в печени регулируется в основном глюкагоном и инсулином.

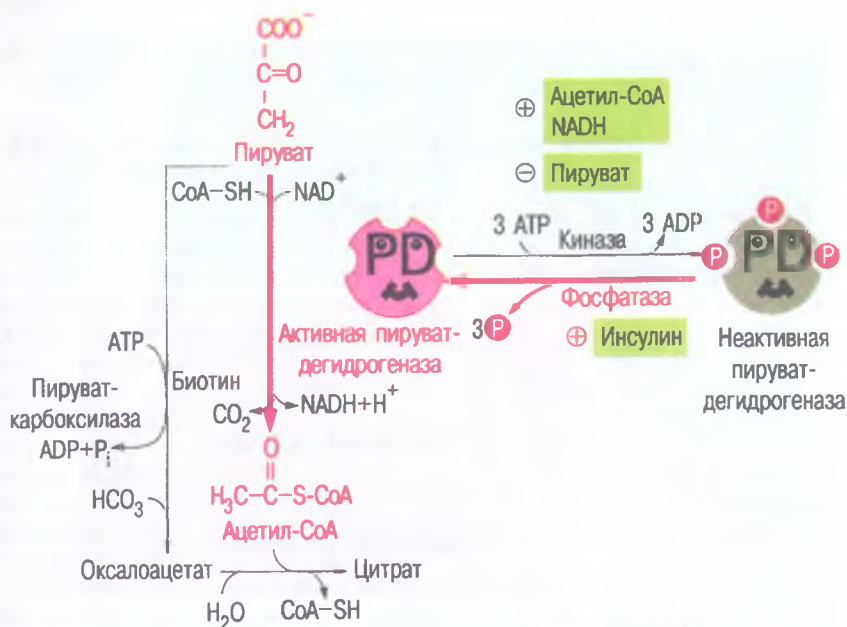


Рис. 8.19. Регуляция пируватдегидрогеназного комплекса.

Адреналин (глюкагон в печени)

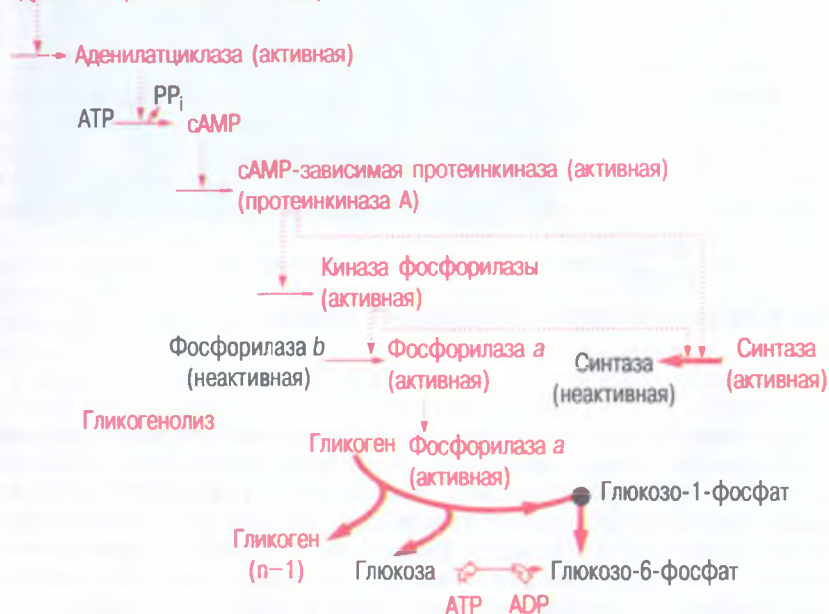


Рис. 8.20. Регуляция синтеза и распада гликогена.

8.13.2. Регуляция метаболизма глюкозы в мышцах, связанная с режимом мышечной работы

При переходе от состояния покоя к работе возрастает потребность мышечных клеток в энергии. Эта потребность восполняется за счет ускорения процессов распада гликогена и гликолиза. Изменение интенсивности гликолиза обеспечивается аллостерической регуляцией ферментов необратимых стадий энергетического статуса клетки. Так, ингибитором фосфофруктокиназы служит АТФ, если в ходе гликолиза синтез АТФ превышает потребности клетки. В основе регуляции обмена гликогена лежит изменение активности ключевых ферментов *гликогенсинтазы* и *гликогенфосфорилазы*. Регуляция активности этих ферментов осуществляется путем фосфорилирования — дефосфорилирования (рис. 8.20). Соотношение процессов синтеза гликогена, распада гликогена и гликолиза в мышцах контролируют инсулин и адреналин (см. рис. 8.1; 8.8).

Биологическая функция липидов. Жиры (триацилглицерины) являются источниками энергии. Энергетическую функцию выполняют жирные кислоты, освобождающиеся после распада жиров. Фосфолипиды, гликолипиды и холестерин участвуют в образовании клеточных мембран.

Производные некоторых полиненасыщенных жирных кислот (простагландины) выполняют регуляторную функцию. Такие жирные кислоты представляют собой незаменимые пищевые факторы. Холестерин является не только структурным компонентом мембран, но также предшественником желчных кислот и стероидных гормонов. Кроме того, вместе с жирами при всасывании в организм поступают жирорастворимые витамины (A, E, D, K). Строение основных липидов представлено на рис. 9.1. Следует обратить внимание, что гидрофобность — общее свойство всех липидов. Однако некоторые липиды (гликолипиды, фосфолипиды, желчные кислоты) амфифильны, так как имеют в своем составе гидрофильные и гидрофобные части.

9.1. РАСЩЕПЛЕНИЕ ЛИПИДОВ В ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОМ ТРАКТЕ

Расщепление липидов происходит в двенадцатиперстной кишке, куда поступают липаза с соком поджелудочной железы и конъюгированные желчные кислоты в составе желчи.

Эмульгирование жира — обязательное условие для переваривания, так как делает гидрофобный субстрат более доступным для действия гидролитических ферментов — липаз. Эмульгирование происходит при участии *желчных кислот*, которые вследствие своей амфифильности окружают каплю жира и снижают поверхностное натяжение, что приводит к дроблению капли.

Гидролиз жира осуществляется при участии *панкреатической липазы*, которая, сорбируясь на поверхности капель жира, расщепляет эфирные связи в триацилглицеринах (ТАГ). Жирные кислоты отщепляются прежде всего из α -положения. В результате образуется диацилглицерин, затем β -моноацилглицерин, который является основным продуктом гидролиза.

Кислота	Строение
Пальмитиновая 16:0	
Стеариновая 18:0	
Олеиновая 18:1(9)	
Леноловая 18:2(9,12)	

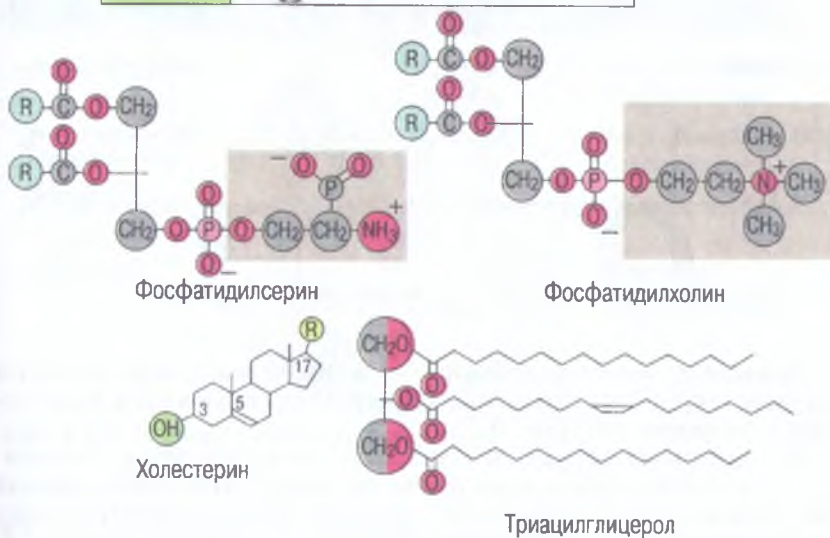
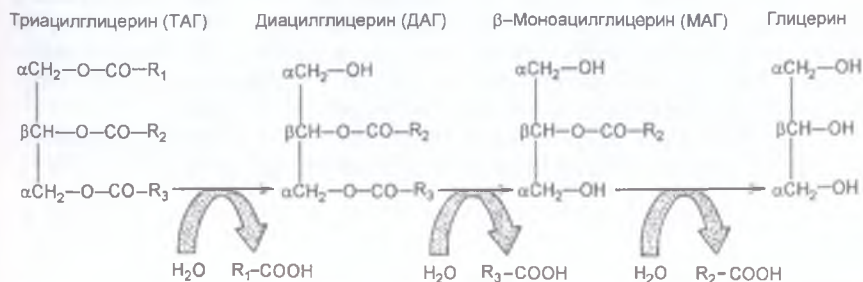
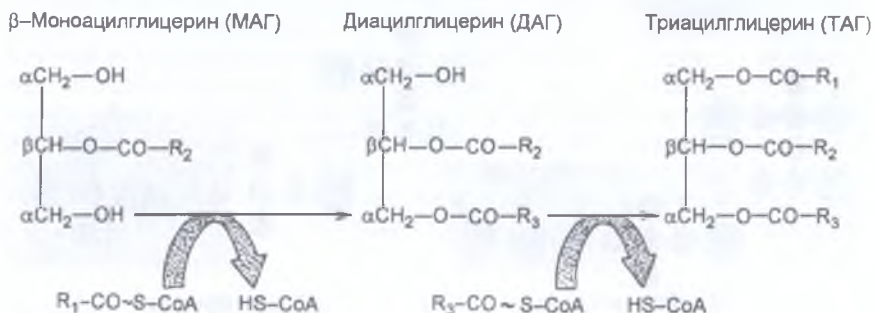


Рис. 9.1. Строение жирных кислот, жиров, стероидов, фосфолипидов.



Всасывание происходит также при участии желчных кислот, которые вместе с моноацилглицеринами, холестерином и жирными кислотами образуют смешанные мицеллы — растворимые комплексы, обеспечивающие переход продуктов гидролиза в клетки слизистой оболочки кишечника. Желчные кислоты с током крови доставляются в печень, затем снова секретируются желчью в кишечник, т.е. повторно используются, циркулируя по кругу: печень — кишечник — печень. Однако в течение суток примерно 0,3 г желчных кислот не всасывается, а выводится с калом. Потери восполняются за счет синтеза их в печени из холестерина. Нарушение желчеобразования или поступления желчи в кишечник нарушает расщепление жиров и их выделение в составе кала (стеаторея).

Ресинтез триацилглицеринов из продуктов расщепления происходит в клетках слизистой оболочки кишечника.



Транспорт ресинтезированного жира через лимфатическую систему и кровотоков возможен только после включения его в состав **липопротеинов** (рис. 9.2).

В кишечнике образуются два типа липопротеинов: хиломикроны и в небольшом количестве липопротеины очень низкой плотности (ЛОНП). В составе хиломикронов экзогенные жиры доставляются в органы и ткани.

Липопротеинлипаза (ЛП-липаза) — фермент, обеспечивающий потребление экзогенных жиров тканями. Она локализуется в эндотелии сосудов, взаимодействует с хиломикронами кровотока и гидролизует триацилглицерины на глицерин и жирные кислоты, которые поступают в клетку. По мере извлечения ТАГ из хиломикронов последние превращаются в остаточные хиломикроны и затем поступают в печень.

Потребность в жирах составляет 50—100 г в сутки в зависимости от характера питания и энергетических затрат.

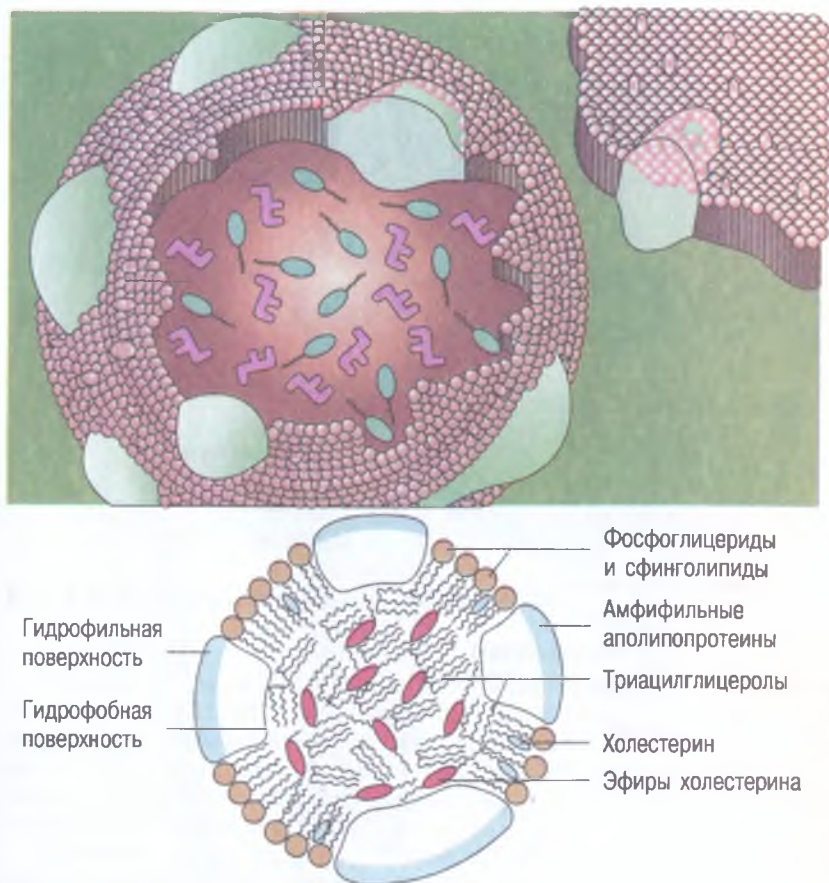


Рис. 9.2. Строение липопротеинов.

9.2. ДЕПОНИРОВАНИЕ И МОБИЛИЗАЦИЯ ЖИРОВ

Жиры, как и гликоген, являются формами депонирования энергетического материала, причем жиры — наиболее долговременные и более эффективные источники энергии. При голодании запасы жира у человека истощаются за 5—7 нед, тогда как гликоген полностью расходуется примерно за сутки. Если поступление жира превышает потребности организма в энергии, то жир депонируется в адипоцитах — специализированных клетках жировой ткани. Кроме того, если количество поступающих углеводов больше, чем надо для депонирования в виде гликогена, то часть глюкозы также превращается в жиры.

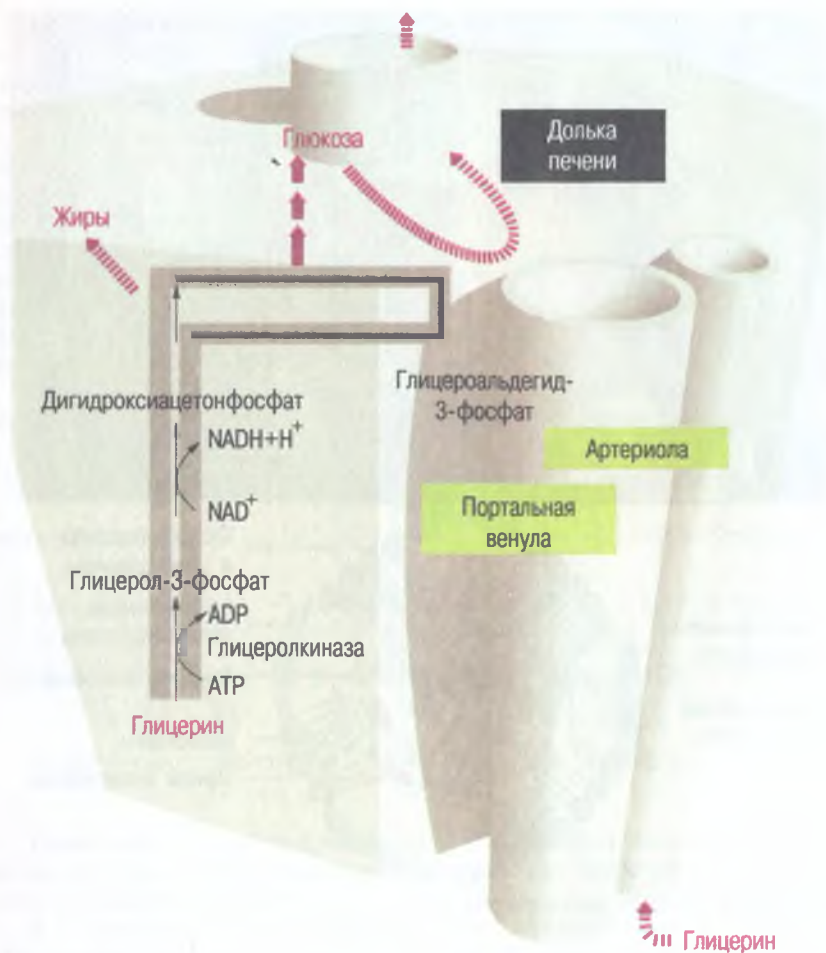


Рис. 9.3. Метаболизм глицерола в печени.

Таким образом, жиры в жировой ткани накапливаются в результате трех процессов: 1) поступают из хиломикронов, которые приносят экзогенные жиры из кишечника; 2) поступают из ЛОНП, которые транспортируют эндогенные жиры, синтезированные в печени из глюкозы; 3) образуются из глюкозы в самих клетках жировой ткани. В первом и втором случае жиры в составе липопротеинов гидролизуются ЛП-липазой и в клетку поступают жирные кислоты, которые затем используются для синтеза ТАГ. Перед включением в ТАГ жирные кислоты сначала активируются путем образования тиоэфиров кофермента А (рис. 9.3), а затем взаимодействуют с глицеролфосфатом.



Рис. 9.4. Роль инсулина в депонировании жира.

Глицерол не может быть фосфорилирован в адипоцитах (в этих клетках отсутствует глицеролкиназа), поэтому глицеролфосфат образуется при восстановлении диоксиацетонфосфата. Следовательно, синтез ТАГ может протекать только в присутствии глюкозы, из которой в процессе гликолиза образуется диоксиацетонфосфат.

Инсулин стимулирует синтез ТАГ, потому что в его присутствии повышается проницаемость мембран клеток жировой ткани для глюкозы (рис. 9.4).

Мобилизацию (липолиз) депонированных ТАГ катализирует тканевая липаза. В результате жиры распадаются на глицерин и свободные жирные кислоты (рис. 9.5).

Адреналин и глюкагон активируют внутриклеточную липазу. Действие этих гормонов опосредовано аденилатциклазным каскадом реакций, начиная с активации аденилатциклазы и заканчивая фосфорилированием липазы, которая при этом переходит в активную форму и расщепляет эфирные связи в ТАГ.

Глицерол как растворимое в плазме вещество транспортируется в печень, где используется в реакциях глюконеогенеза. Жирные кислоты транспортируются кровью в виде комплексов с сывороточными альбуминами в разные органы и ткани, где включаются в процесс окисления (см. рис. 9.5; 9.6).



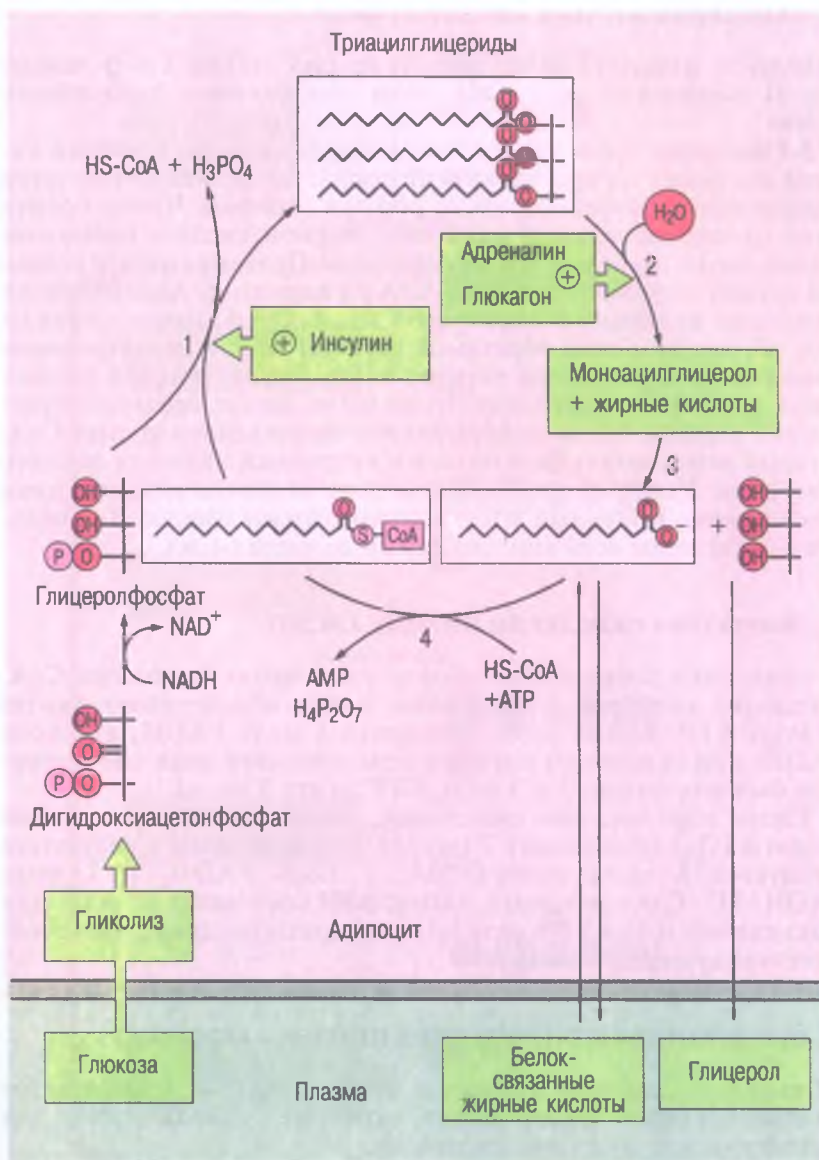


Рис. 9.6. Синтез и мобилизация триацилглицеридов.

Ферменты: 1 — триацилглицеролсинтаза; 2 — тканевая липаза; 3 — моноглицеридлипаза; 4 — ацил-КоА-синтаза(тиокиназа).

Рис. 9.5. Мобилизация жира и его окисление в мышцах.

9.3. ОКИСЛЕНИЕ ЖИРНЫХ КИСЛОТ

Окисление жирных кислот состоит из двух этапов: I — β -окисление; II-цитратный цикл. Оба этапа сопряжены с дыхательной цепью.

β -Окисление происходит в митохондриях клетки, а жирная кислота поступает из кровотока в цитозоль, где активируется путем конденсации с коферментом А, образуя тиоэфир. Чтобы пройти через митохондриальную мембрану, жирной кислоте необходим специальный переносчик — *карнитин*. Поэтому сначала ацильная группа переносится с ацил-СоА на карнитин. Ацилкарнитин пересекает мембрану и отдает свой ацильный фрагмент снова на СоА. Ферментом этой обратимой реакции служит *ацилкарнитин-трансфераза*. В результате четырех последующих реакций β -окисления (рис. 9.7) происходит отщепление двухуглеродного фрагмента и перенос его на кофермент А с образованием ацетил-СоА, который затем может включаться в цитратный цикл для полного окисления. Укороченная ацильная цепь вторично входит в цикл β -окисления. Конечный итог повторяющихся циклов β -окисления — окисление всей ацильной цепи до ацетил-СоА.

9.4. ЭНЕРГЕТИКА ОКИСЛЕНИЯ ЖИРНЫХ КИСЛОТ

За один цикл β -окисления образуется 1 молекула ацетил-СоА, окисление которого в цитратном цикле обеспечивает синтез 12 моль АТФ. Кроме того, образуется 1 моль FADH_2 и 1 моль NADH , при окислении которых в дыхательной цепи синтезируется соответственно 2 и 3 моль АТФ (всего 5 моль).

Таким образом, при окислении, например, пальмитиновой кислоты (C_{16}) происходит 7 циклов β -окисления и в результате образуется 8 моль ацетил-СоА, 7 моль FADH_2 и 7 моль $\text{NADH} + \text{H}^+$. Следовательно, выход АТФ составляет 35 АТФ при β -окислении и 96 АТФ в результате цитратного цикла, что соответствует сумме 131 моль АТФ.

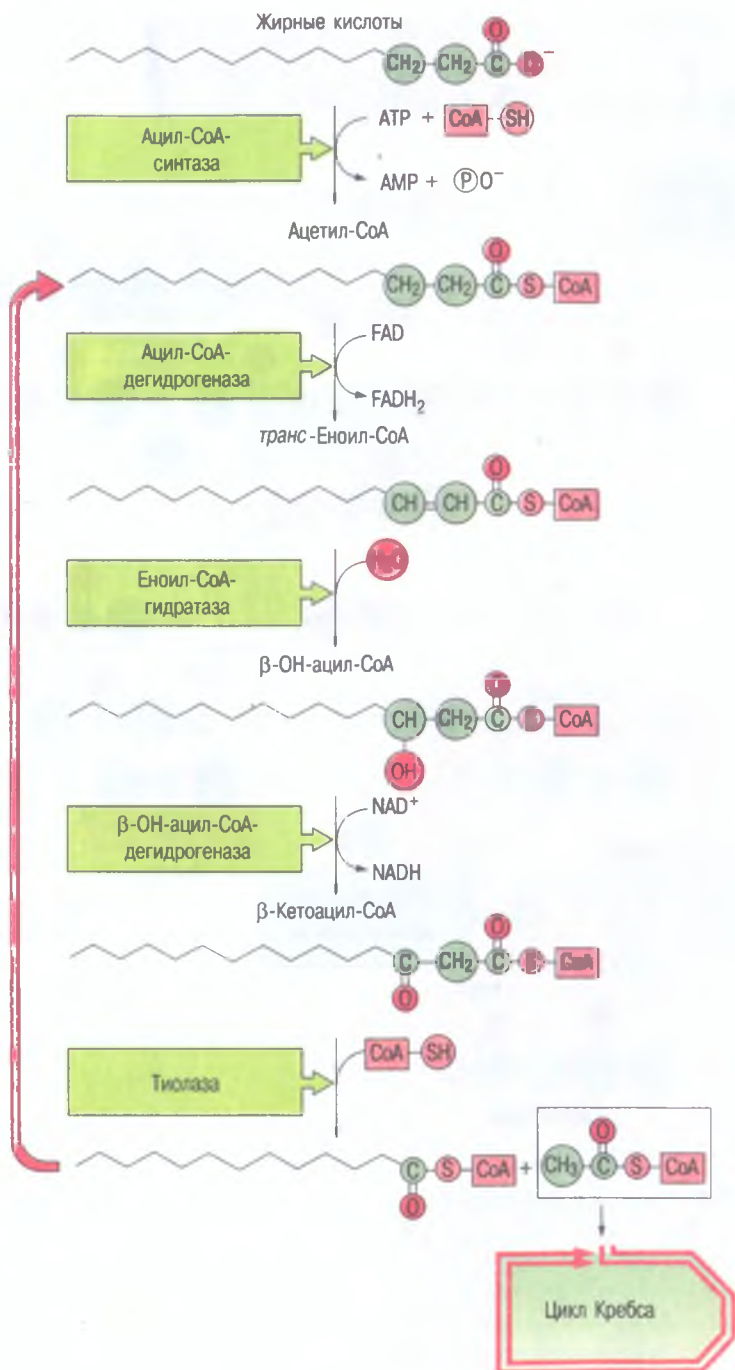
9.5. ОБРАЗОВАНИЕ КЕТОНОВЫХ ТЕЛ В ПЕЧЕНИ — КЕТОГЕНЕЗ

β -Окисление жирных кислот в печени ведет к образованию восстановленных коферментов, которые используются для энергетических нужд клеток печени.

Основным путем дальнейшего использования ацетил-СоА, образовавшегося при β -окислении в печени, является синтез кетонных тел. Этот синтез происходит следующим образом (рис. 9.8): двухуглеродные молекулы конденсируются друг с другом с об-

Рис. 9.7. Окисление жирных кислот.





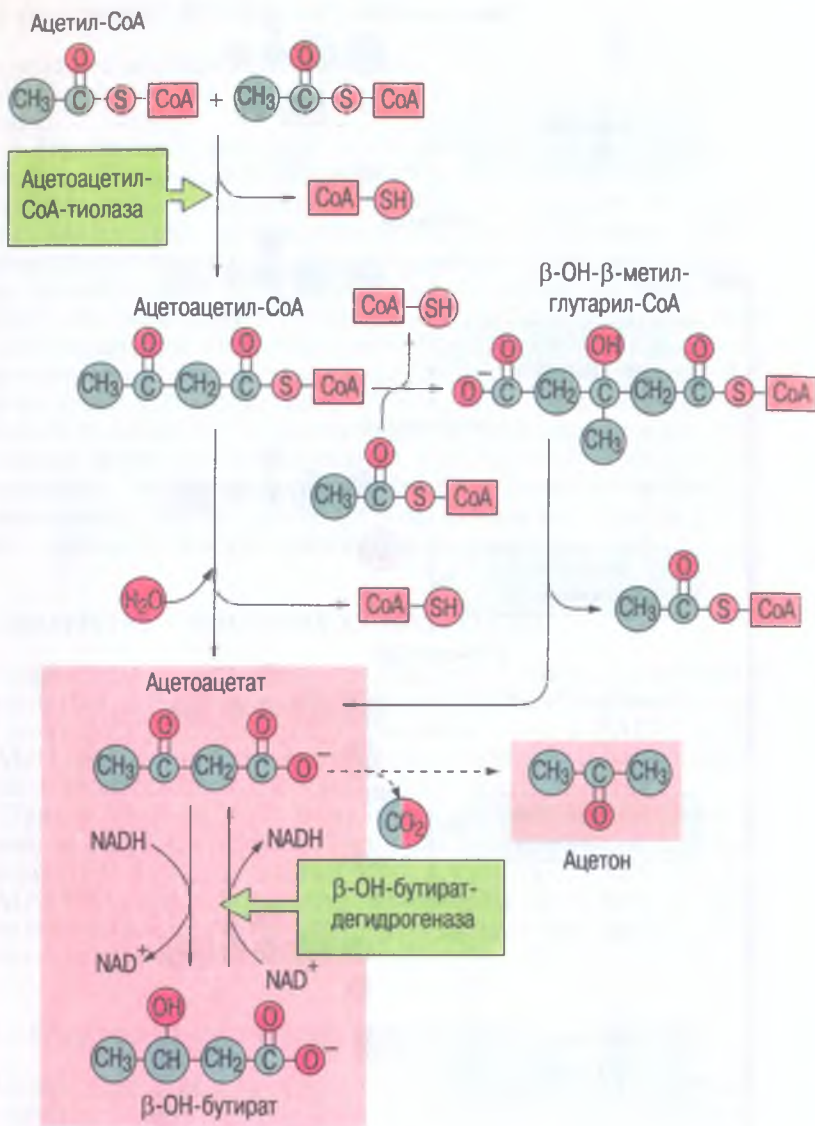
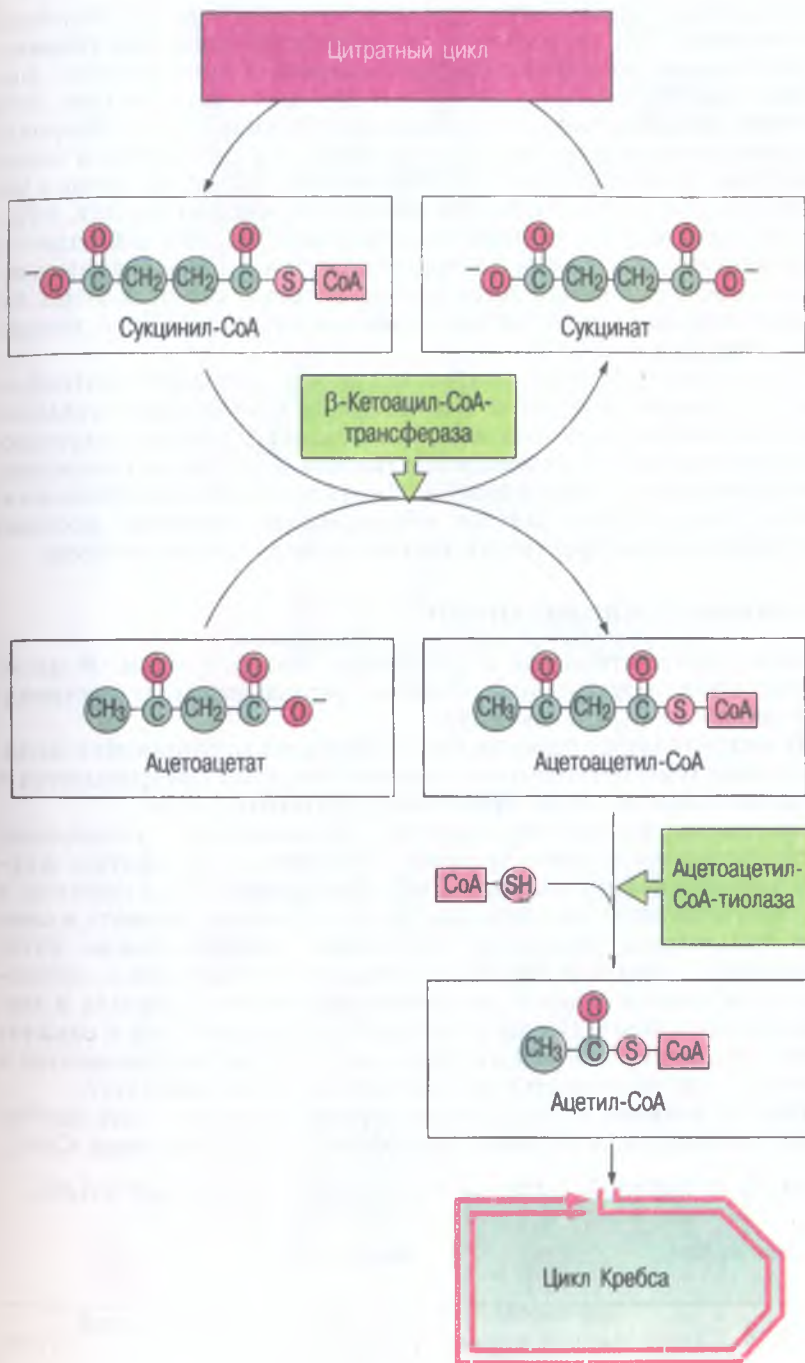


Рис. 9.8. Синтез кетоновых тел.

Рис. 9.9. Окисление кетоновых тел.



разованием в дальнейших реакциях *ацетоацетата* и β -гидроксисибутирата. Эти две кислоты называются **кетоновыми телами**.

Кетоновые тела диффундируют в кровь и используются внепеченочными тканями в качестве источников энергии (рис. 9.9). В норме концентрация кетоновых тел в крови 2 мг/дл. Ферменты, катализирующие синтез кетоновых тел, находятся в митохондриях. В определенных метаболических условиях, когда в печени происходит интенсивное окисление жирных кислот, образуется значительное количество кетоновых тел. Это наблюдается в состояниях, связанных с затруднениями в использовании углеводов, когда основным источником энергии для организма являются жирные кислоты (длительная мышечная работа, голодание, сахарный диабет).

Скорость синтеза кетоновых тел может превышать потребление их тканями и вести к накоплению. Значительное увеличение концентрации кетоновых тел создает опасную ситуацию, которую называют **кетоацидозом (кетоз)**. При сильно выраженном кетоацидозе ацетоацетат неферментативно декарбоксилируется, что сопровождается образованием *ацетона*, поэтому при кетозе характерен запах ацетона в выдыхаемом воздухе.

9.6. БИОСИНТЕЗ ЖИРНЫХ КИСЛОТ

Процесс осуществляется в различных частях клетки. В цитоплазме синтезируются насыщенные жирные кислоты с углеродной цепью до C_{16} (пальмитат).

В митохондриях происходит дальнейшее наращивание цепи, а в ретикулуме насыщенные жирные кислоты превращаются в ненасыщенные и также происходит удлинение цепи.

Основным продуктом синтеза, происходящего в цитозоле, является *пальмитиновая кислота*. Субстратом для синтеза жирной кислоты служит *ацетил-CoA*, образующийся из глюкозы в результате окисления пирувата. Использование пирувата в синтезе пальмитата включает следующие метаболические пути: окисление глюкозы в процессе гликолиза до пирувата в цитозоле, затем окислительное декарбоксилирование пирувата в митохондриях и последующая конденсация ацетил-CoA с оксалоацетатом с образованием цитрата. Далее цитрат перемещается в цитозоль, где распадается на ацетил-CoA и оксалоацетат.

Первая реакция в биосинтезе жирной кислоты — это карбоксилирование ацетил-CoA и превращение его в малонил-CoA:

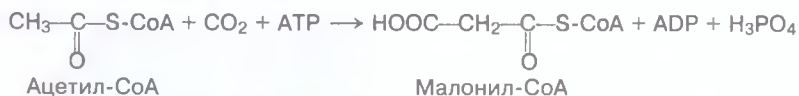
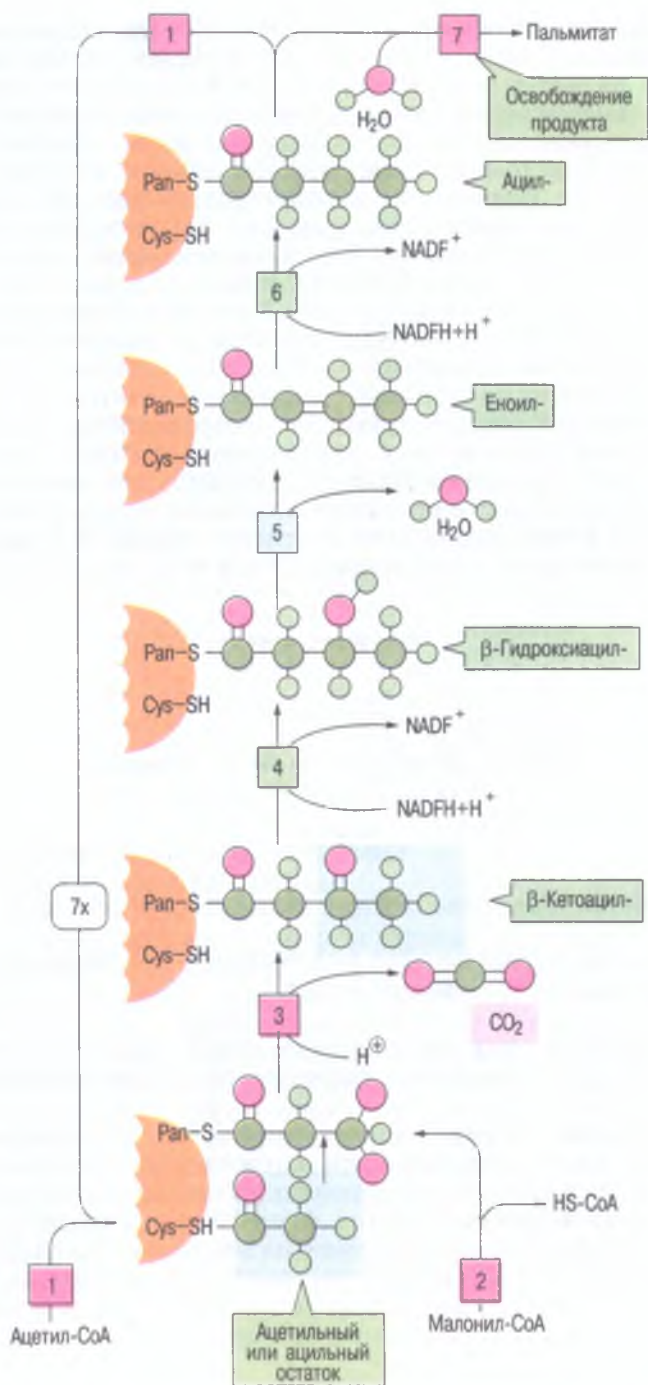


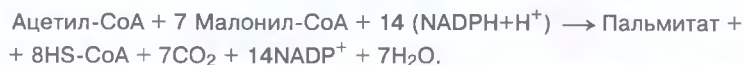
Рис. 9.10. Синтез высших жирных кислот.



Реакция катализируется *ацетил-СоА-карбоксилазой*, кофактором которой является *биотин*. Затем следуют повторяющиеся циклы из шести реакций (рис. 9.10). Катализирует весь процесс *пальмитилсинтетаза* — полифункциональный белок — фермент, имеющий одну полипептидную цепь, упакованную в два домена. Оба домена имеют в своем составе активные центры, способные поочередно катализировать реакции каждого цикла. Ацильные группы связываются с одним из доменов, содержащим пантотеновую кислоту, а малонильные — с остатком цистеина другого домена. После инициации процесса путем реакции конденсации с образованием β -кетоацилфермента растущая цепь жирной кислоты удерживается тиоэфирной связью с одним из доменов пальмитилсинтетазы. Ковалентно связанный субстрат поочередно попадает в активные центры фермента, где подвергается соответствующим превращениям. Очередной цикл синтеза начинается с присоединения новой молекулы малонил-СоА к одной из SH-групп активных центров доменов. Каждый цикл из шести реакций увеличивает длину цепи на два углеродных атома. Когда цепь достигает длины 16 углеродных атомов, тиоэфирная связь гидролизруется и пальмитат освобождается.



Суммарное уравнение синтеза пальмитата (7 циклов):

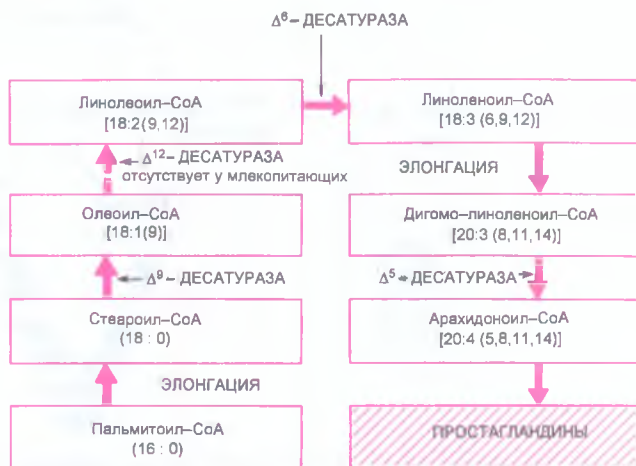


Необходимый для восстановительных реакций NADPH образуется при окислении глюкозы по пентозофосфатному пути.

Большинство жирных кислот имеют более длинную, чем пальмитат, углеводородную цепь, которая может содержать ненасыщенные связи. Следовательно, биосинтез большинства жирных кислот требует участия ферментов элонгации и десатурации. Активность этих ферментов связана с эндоплазматическим ретикуломом, но иногда может протекать и в митохондриях.

9.7. ПОЛИНЕНАСЫЩЕННЫЕ ЖИРНЫЕ КИСЛОТЫ

Животные не способны синтезировать ни линолевую, ни линоленовую жирные кислоты из-за отсутствия соответствующих десатураз. Поэтому эти кислоты должны обязательно поступать с пищей. Полиненасыщенные жирные кислоты, например арахидоновая, 20:4 (5,8,11,14), являются непосредственным предшественником простагландинов.



9.8. РЕГУЛЯЦИЯ СИНТЕЗА И ОКИСЛЕНИЯ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В ПЕЧЕНИ

Переключение процессов синтеза жирных кислот на их окисление происходит при смене периода пищеварения на постабсорбтивное состояние и осуществляется с помощью регуляторных механизмов. Синтез малонил-СоА — ключевая реакция в регуляции синтеза и окисления жирных кислот. В период пищеварения в цитозоле увеличивается концентрация цитрата, который является переносчиком ацетильных остатков из митохондрий. Цитрат аллостерически активирует ацетил-СоА-карбоксилазу, что ускоряет синтез малонил-СоА и, следовательно, синтез жирных кислот. Малонил-СоА в свою очередь ингибирует ацилкарнитилтрансферазу, катализирующую перенос жирных кислот из цитозоля в митохондрии и «запускающую» механизм β -окисления. Таким образом, увеличение концентрации малонил-СоА в период пищеварения «включает» процесс синтеза жирных кислот и «выключает» β -окисление и синтез кетонных тел (рис. 9.11).

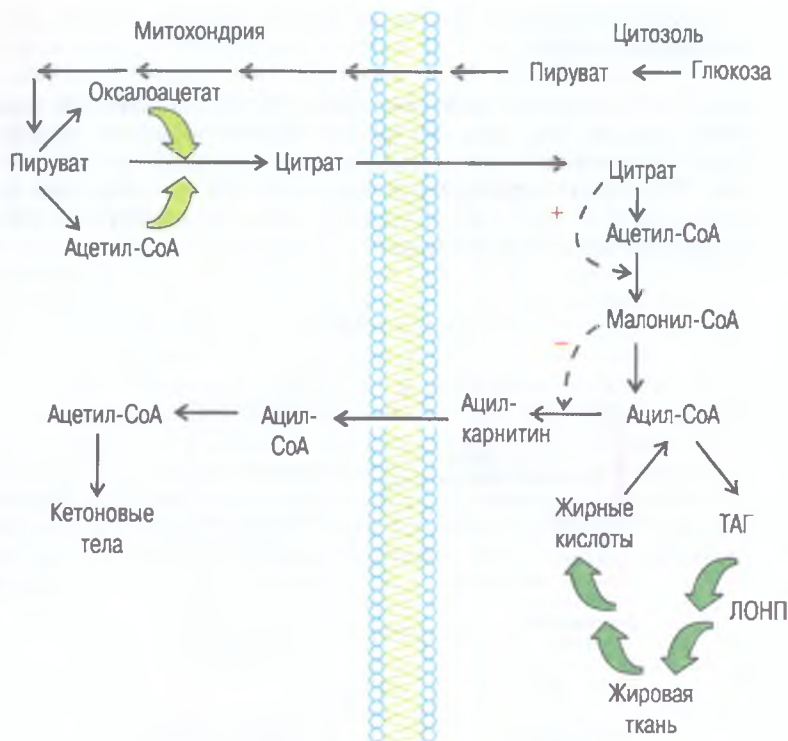


Рис. 9.11. Аллостерическая регуляция метаболизма жирных кислот в печени.

Ацетил-СoA-карбоксилаза также аллостерически ингибируется длинно-цепочечными ацил-СoА, если они накапливаются, не успевая вступить в реакцию этерификации. Это пример ингибирования конечным продуктом процесса. Кроме аллостерической регуляции, существует гормональный контроль активности ацетил-СoА-карбоксилазы. *Адреналин* и *глюкагон* путем увеличения концентрации сАМР и активности протеинкиназы фосфорилируют ацетил-СoА-карбоксилазу и переводят ее в неактивное состояние. Эти гормоны также путем фосфорилирования переводят липазу в жировой ткани в активное состояние.

Следовательно, синтез жирных кислот прекращается, а начинается мобилизация ТАГ, окисление жирных кислот и синтез кетоновых тел, т.е. включаются процессы, которые поставляют клеткам энергодативные вещества (рис. 9.12; 9.13).

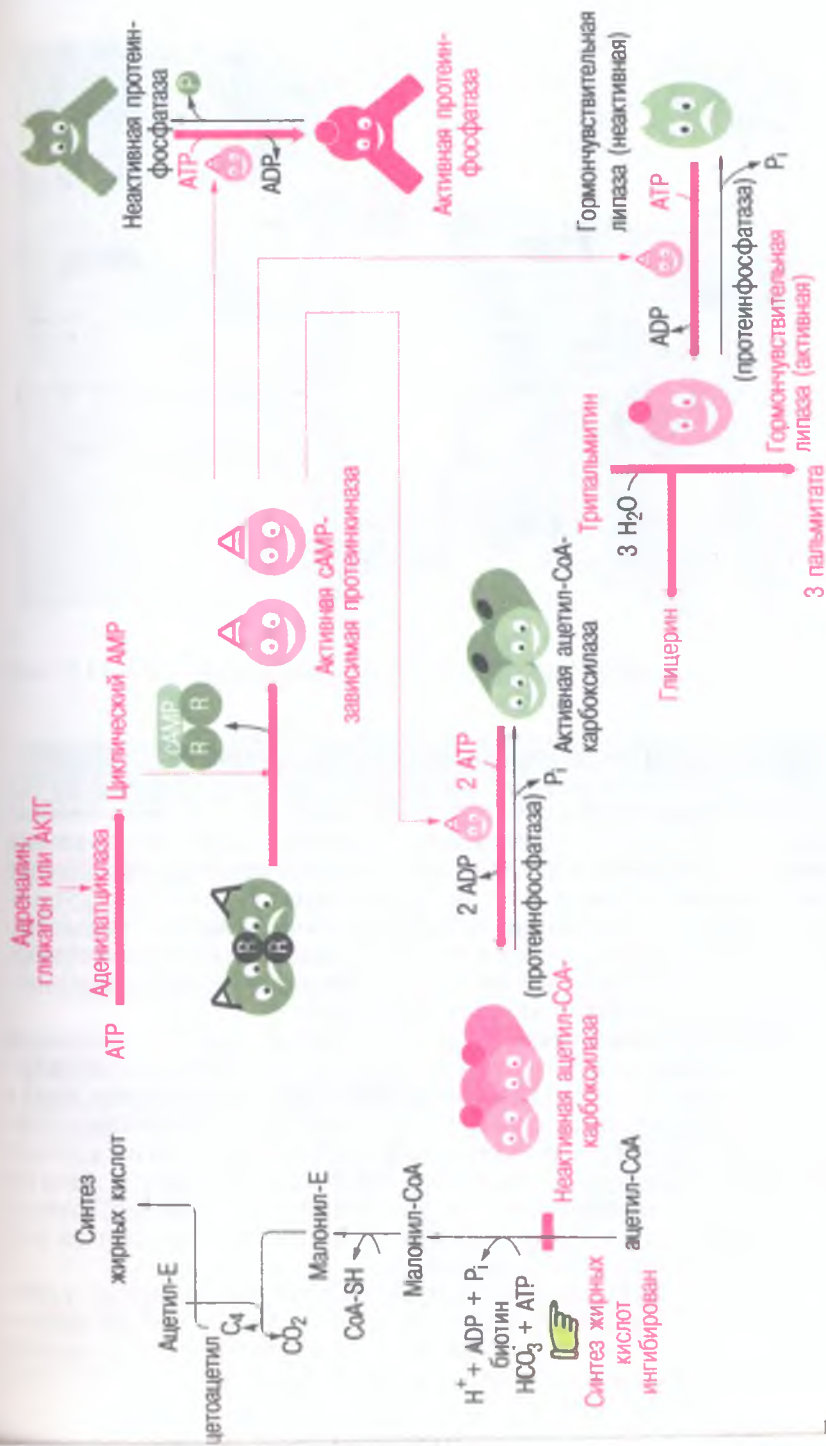


Рис. 9.12. Гормональная регуляция обмена жирных кислот.

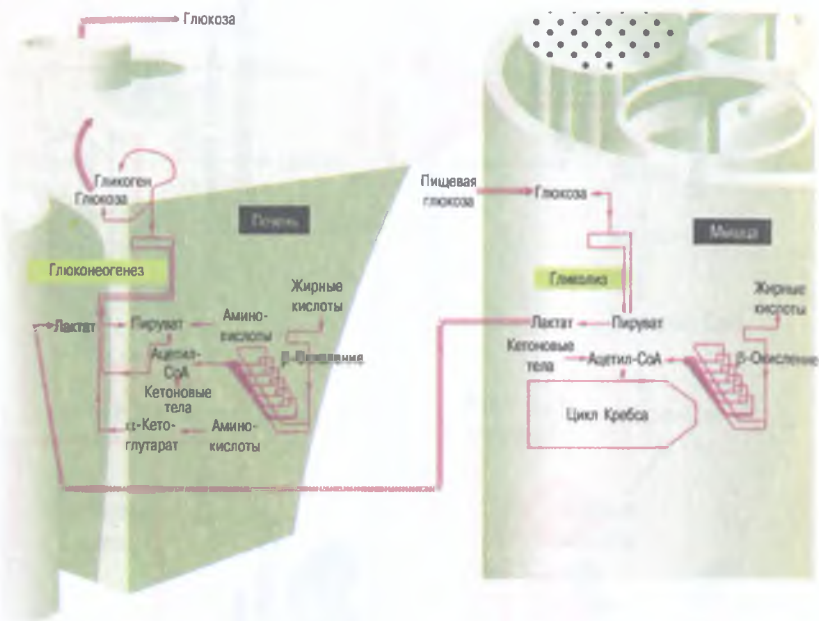


Рис. 9.13. Взаимосвязь углеводного и жирового обмена.

9.9. МЕТАБОЛИЗМ ХОЛЕСТЕРИНА И ЖЕЛЧНЫХ КИСЛОТ

Функции холестерина. Холестерин является предшественником в синтезе других стероидов: желчных кислот, стероидных гормонов, витамина D_3 . Он входит как структурный компонент в состав мембран всех клеток. Существует два пути поступления холестерина: из пищи животного происхождения (экзогенный холестерин) и синтез в печени (эндогенный холестерин). Кроме печени, в небольшом количестве холестерин может синтезироваться в клетках кишечника и кожи.

Биосинтез холестерина. Процесс происходит в цитозоле клетки. Молекула холестерина целиком «собирается» из ацетил-СоА (рис. 9.14; 9.15). Промежуточным метаболитом является β -окси- β -метилглутарил-СоА, а его восстановление в мевалоновую кислоту с использованием NADPH служит ключевой реакцией процесса. Скорость синтеза холестерина зависит от количества экзогенного, т.е. поступающего с пищей, холестерина. При поступлении 2—3 г холестерина в сутки синтез эндогенного холестерина подавляется.

Фермент *гидроксиметилглутарил-СоА-редуктаза* играет главную роль в регуляции синтеза холестерина. Холестерин подавляет синтез ГМГ-СоА-редуктазы и по механизму отрицательной обратной связи снижает скорость своего синтеза.

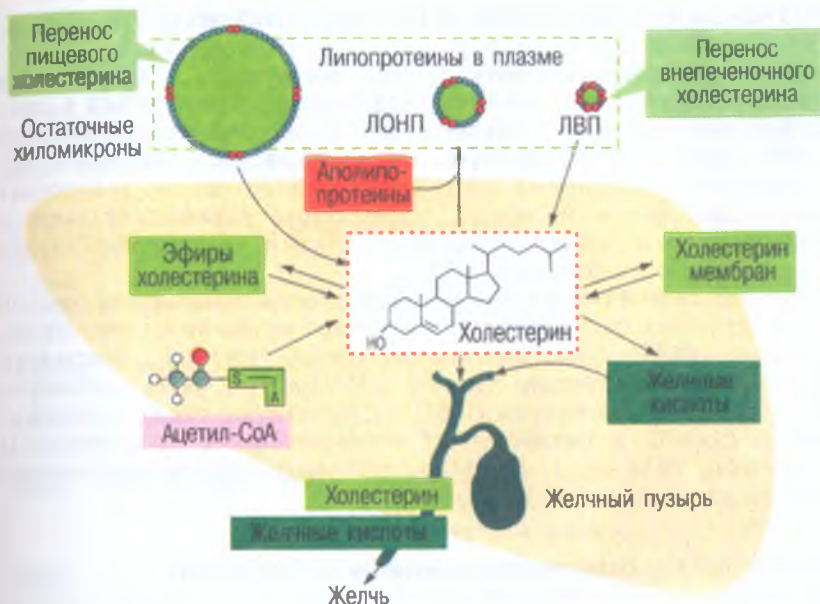


Рис. 9.14. Пути синтеза и использования холестерина.

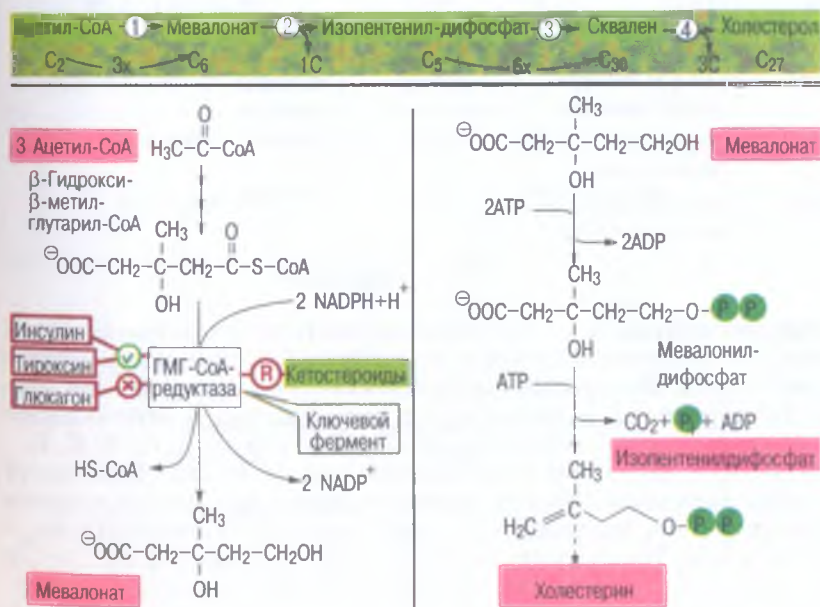


Рис. 9.15. Синтез холестерина.

9.10. ТРАНСПОРТ ХОЛЕСТЕРИНА И ТРИАЦИЛГЛИЦЕРИНОВ

Жиры и холестерин, поступающие в организм с пищей или синтезированные в печени, должны транспортироваться в другие органы, где они используются. Проблема гидрофобности жиров и холестерина при транспорте решается с помощью образования транспортных частиц — липопротеинов, в которых триацилглицерины и эфиры холестерина взаимодействуют с амфифильными фосфолипидами и белками, обеспечивающими их растворимость (см. рис. 9.2).

Липопротеины разделяют методом ультрацентрифугирования соответственно их плотности на четыре основных типа: хиломикроны (ХМ), липопротеины очень низкой плотности (ЛОНП), липопротеины низкой плотности (ЛНП), липопротеины высокой плотности (ЛВП). Существуют также промежуточные формы в метаболизме липопротеинов: хиломикроны остаточные (ХМ ост.), ЛОНП остаточные, или липопротеины средней плотности (ЛСП) (табл. 9.1).

Т а б л и ц а 9.1. Свойства липопротеинов плазмы крови

Липо- протеины	Основные липиды	Электрофорети- ческая фракция	Основные апопротеины
ХМ	ТАГ	—	B-48, A-I, A-IV
ЛОНП	ТАГ	Pre- β	B-100, E, C-I, C-II, HC-III
ЛСП	ТАГ и эфиры холестерина	β	B-100, E
ЛНП	Эфиры холестерина	β	B-100
ЛВП	Фосфолипиды и холестерин	α_1	A-I, A-II

Аполипопротеины — это белковая часть липопротеинов (апо-белок). В состав липопротеина может входить один или несколько апобелков. Некоторые апобелки являются интегральной частью липопротеина, а другие могут перемещаться с одного липопротеина на другой. Апобелки обозначают буквами: А, В, С, Е.

Апобелки выполняют разнообразные функции. Они могут служить лигандом для рецепторов *клеток* при использовании липопротеинов тканями или обеспечивать взаимодействие с ЛП-липазой. Изменение конформации как рецептора, так и лиганда — апобелка по различным причинам приводит к нарушению использования липопротеинов и их накоплению в крови. Апобелки могут **активировать ферменты**, участвующие

в обмене липидов (ЛП-липаза, ЛХАТ). Например, апоС-II является кофактором ЛП-липазы. Этот апобелок имеет специфический участок связывания с ЛП-липазой, а гидролиз ТАГ в составе ХМ и ЛОНП происходит при контакте липопротеина с ферментом. Апобелки выполняют также структурную функцию. Примеры функции апобелков представлены в табл. 9.2.

Т а б л и ц а 9.2. Рецепторы липопротеинов

Рецептор	Распознавание	Липопротеин	Ткань	Роль в обмене	Примечание
ХМост.	Апо-Е	ХМост.	Печень	Переносит пищевые жиры в печень	Называется также апо-Е-рецептор
ЛВП	Неизвестно	ЛВП	Печень, возможно другие ткани	Присоединение ЛВП к клеткам	—
ЛНП	Апо-В-100, апо-Е	ЛНП, ЛСП	Печень, многие другие ткани	Удаление ЛНП, ЛСП из циркуляции	Способствует переносу холестерина из печени в ткани

Основные маршруты липопротеинов



В клетках слизистой оболочки кишечника экзогенный холестерин и ТАГ встраиваются в хиломикроны и далее транспортируются кровью. Затем в результате взаимодействия с ЛП-липазой хиломикроны теряют до 90 % ТАГ и превращаются в остаточные хиломикроны, поглощение которых печенью осуществляется при участии рецепторного белка апоЕ. В печени



Рис. 9.16. Транспортная функция липопротеинов.

пул холестерина состоит из синтезированного самими клетками холестерина и поступившего из остаточных хиломикронов (рис. 9.16). Этот пул холестерина существует не только для собственных нужд печени, но и для снабжения других тканей.

Холестерин печени вместе с жирами, синтезированными из глюкозы, включается в ЛОНП и таким образом транспортируется кровью. После гидролиза жиров ЛП-липазой образуются остаточные ЛОНП. Эти липопротеины либо поглощаются печенью, либо превращаются в ЛНП.

В клетках-потребителях холестерина существуют рецепторы для ЛНП. Взаимодействие рецепторов с ЛНП происходит с помощью Апо-В-100, после чего ЛНП путем эндоцитоза поглощается клеткой. Потребление холестерина клеткой регулируется путем изменения количества рецепторов на поверхности клетки. При снижении потребности клетки в холестерине уменьшается количество рецепторов. Регулятором является сам холестерин, который репрессирует транскрипцию генов, соответствующих этим белкам.

Липопротеины, циркулирующие в крови, обмениваются холестерином. Особенно активно этот обмен происходит между ЛНП и ЛВП, причем поток холестерина направлен в сторону ЛВП. Холестерин в виде свободного незэтерифицированного соединения находится в поверхностном монослое липопротеинов. ЛВП способны этерифицировать холестерин с помощью лецитинхолестеринацилтрансферазы (ЛХАТ). Этот фермент катализирует перенос ацильного остатка из β -положения фосфатидилхолина на холестерин. Эфир холестерина погружается

внутри ЛВП, освобождая место для новых молекул холестерина в поверхностном слое. Двусторонняя диффузия холестерина происходит и при контакте ЛВП с клетками, при этом ЛВП извлекают холестерин из мембран клеток. ЛВП, нагруженные холестерином, поглощаются в основном печенью путем эндоцитоза и там освобождают холестерин. Следовательно, ЛВП предупреждает накопление холестерина, а ЛНП обеспечивает клетку холестерином по мере потребности в нем. Таким способом поддерживается постоянство содержания холестерина в клетках. Нарушение соотношения между ЛНП и ЛВП может быть причиной *гиперхолестеринемии*.

9.11. МЕТАБОЛИЗМ ЖЕЛЧНЫХ КИСЛОТ

Первичные желчные кислоты (хенодезоксихолевая и холевая) образуются в клетках печени из холестерина (рис. 9.17; 9.18). После выделения в кишечник под влиянием бактерий они преобразуются во вторичные (литохолевая и дезоксихолевая).

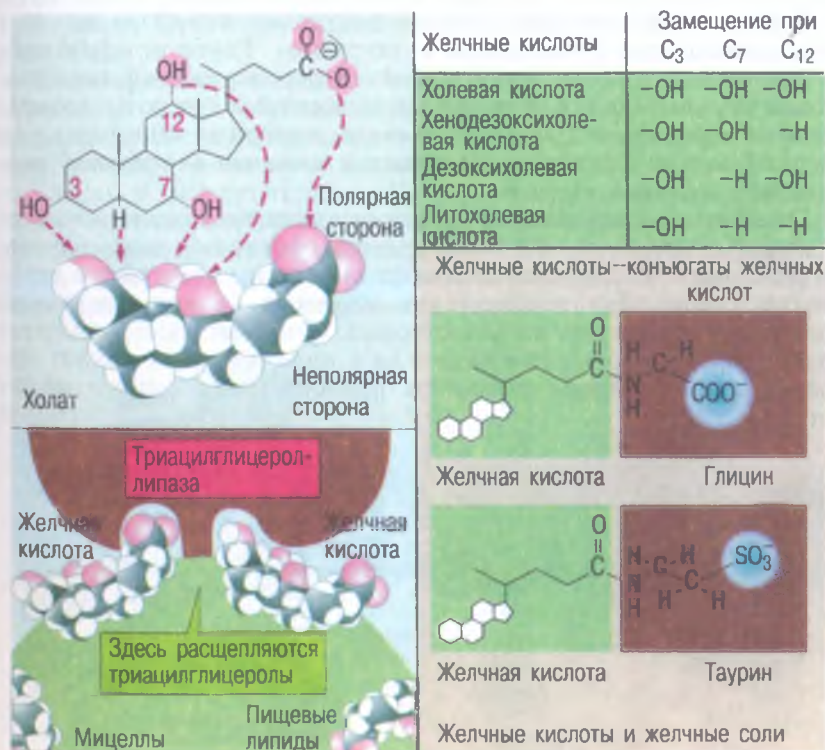


Рис. 9.17. Схемы строения и функций желчных кислот.

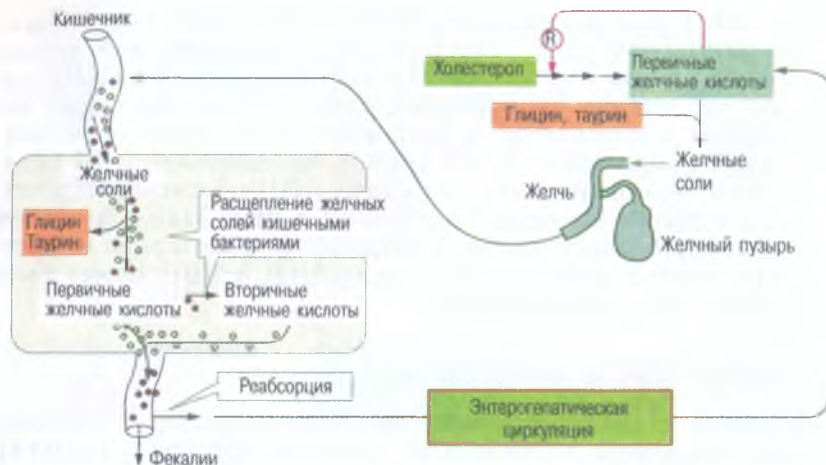


Рис. 9.18. Метаболизм желчных солей.

В кишечник желчные кислоты поступают в составе желчи в виде конъюгатов с глицином и таурином. Ранее описывались функции желчных кислот в процессе переваривания липидов. После переваривания и всасывания желчные кислоты возвращаются через воротную вену в печень, совершая такой цикл до 10 раз в сутки. Этот цикл называется **кишечно-печеночной циркуляцией желчных кислот**.

Постоянным компонентом желчи является холестерин. Как и желчные кислоты, он подвергается обратному всасыванию, но некоторое количество желчных кислот и холестерина теряется с калом. Для восполнения желчных кислот постоянно происходит синтез их из холестерина. Следовательно, удаление холестерина в свободном виде или в виде желчных кислот является единственным способом освобождения организма от него.

10.1. МЕТАБОЛИЗМ АМИНОКИСЛОТ

Основным экзогенным источником аминокислот являются белки пищи. Белки переводятся в доступную для организма форму в процессе переваривания под действием протеолитических ферментов, входящих в состав желудочно-кишечных секретов. Свободные аминокислоты всасываются и после транспорта кровью включаются в клетках в различные пути использования, главным из которых является синтез собственных белков. Кроме того, аминокислоты используются для синтеза таких азотсодержащих соединений, как тироксин, адреналин, гистамин, выполняющих специфические функции. Аминокислоты также служат источником энергии, включаясь в путь катаболизма. Пути использования аминокислот представлены на рис. 10.1.

Переваривание пищевых белков начинается в желудке и завершается в тонкой кишке под действием протеолитических ферментов (пептидгидролазы, пептидазы, протеазы). Эти ферменты соответственно механизму действия делятся на две группы: эндо- и экзопептидазы.

Эндопептидазы (*пепсин, трипсин и химотрипсин*) расщепляют пептидные связи, располагающиеся внутри полипептидной цепи. Эти ферменты с наибольшей скоростью гидролизуют пептидные связи, образованные определенными аминокисло-



Рис. 10.1. Пути использования аминокислот.

тами (табл. 10.1) Эндопептидазы синтезируются в виде неактивных предшественников-проферментов. Таким способом секретирующие клетки защищают свои собственные белки от разрушения этими ферментами. После секреции проферменты активируются путем частичного избирательного протеолиза. Слизистая оболочка желудка и кишечника также защищены от действия протеаз слоем слизи. Кроме того, поверхностный полисахаридный слой плазматической мембраны также предохраняет клетку от действия протеаз.

Т а б л и ц а 10.1. Протеолитические ферменты пищеварительного тракта

Профермент	Место синтеза	Место активации и активатор	Расщепляемые пептидные связи
Пепсиноген	Слизистая оболочка желудка	Полость желудка. Отщепление N-концевого пептида (42 аминокислоты) от пепсиногена под влиянием HCl и самого пепсина (аутокатализ)	-x-Tyr -x-Phe
Трипсиноген	Поджелудочная железа	Полость тонкой кишки. Отщепление N-концевого гексапептида от трипсиногена при участии энтеропептидазы, выделяемой клетками кишечника, с последующим аутокатализом под влиянием самого трипсина	-Arg-x- -Lys-x-
Химотрипсиноген	Поджелудочная железа	Полость тонкой кишки. Активируется под влиянием трипсина	-Tyr-x- -Phe-x- -Trp-x-

Экзопептидазы (карбоксипептидазы и аминопептидазы) гидролизуют пептиды, отщепляя аминокислоты соответственно от С- и N-конца пептида. Дипептидазы гидролизуют дипептиды. Карбоксипептидаза синтезируется в поджелудочной железе в виде прокарбоксипептидазы и активируется в кишечнике под действием трипсина. Аmino- и дипептидазы синтезируются в стенке тонкой кишки. Все экзопептидазы функционируют в основном внутриклеточно в кишечном эпителии, хотя могут в небольшом количестве выделяться в просвет кишечника.

Эндо- и экзопептидазы в совокупности доводят гидролиз белков до образования аминокислот (рис. 10.2).

В табл. 10.2 указаны **незаменимые аминокислоты**, присутствие которых в белках пищи обязательно; **частично заменимые**

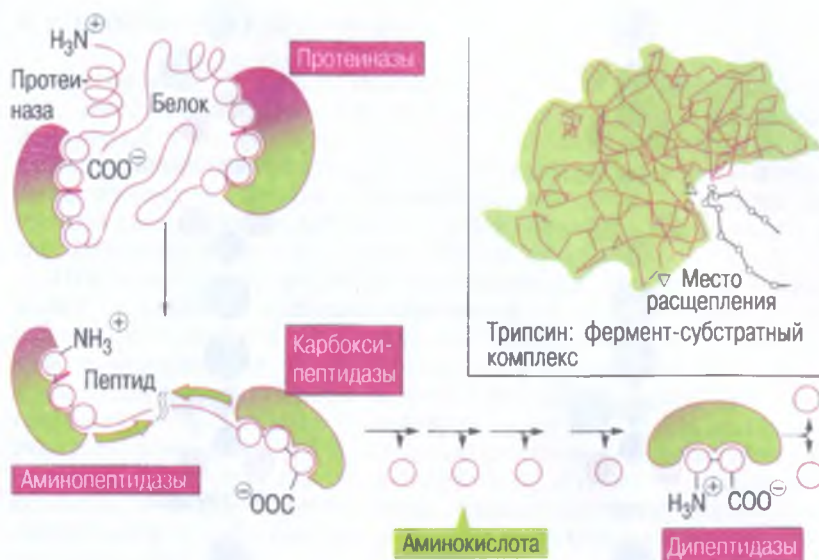


Рис. 10.2. Механизм действия экзо- и эндопептидазы.

аминокислоты, которые в небольших количествах синтезируются в организме, **условно заменимые аминокислоты**, для синтеза которых необходимы незаменимые аминокислоты и, наконец, **заменимые аминокислоты**, потребность в которых может быть восполнена синтезом из других веществ. Аминокислотный состав характеризует *пищевую ценность белка*. Чем выше содержание незаменимых аминокислот, тем больше пищевая ценность белков. *Норма белков в питании составляет примерно 100 г в сутки.*

Таблица 10.2. Необходимые аминокислоты

Незаменимые	Условно заменимые	Частично заменимые	Заменимые
Валин Изолейцин Лейцин Лизин Метионин Треонин Триптофан Фенилаланин	Тирозин Цистеин	Аргинин Гистидин	Аланин Аспарагин Аспартаг Глицин Глутамат Глутамин Пролин Серин

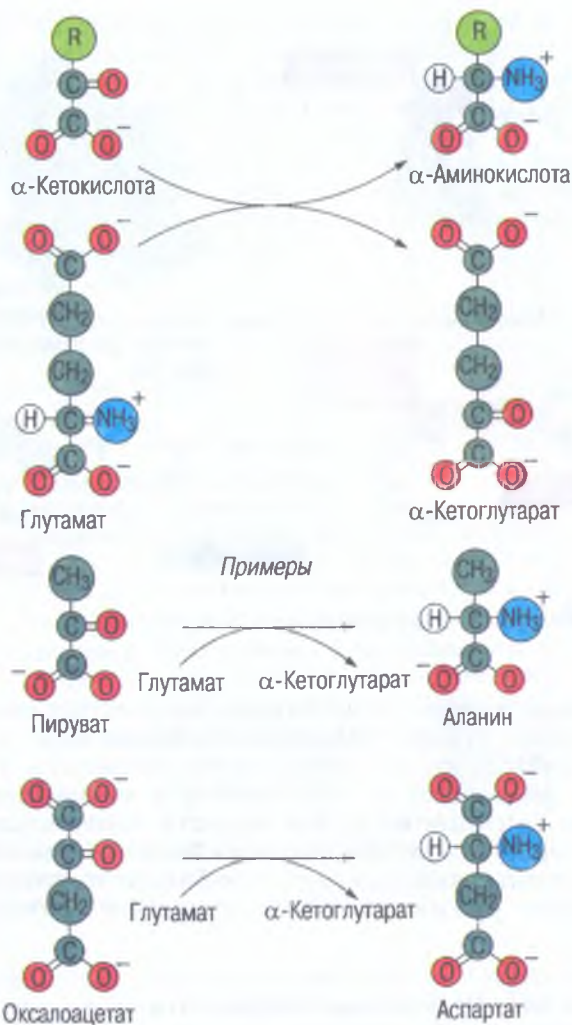


Рис. 10.3. Примеры реакции с участием аминотрансферазы.

Недостаток в течение длительного времени пищевых белков, бедных незаменимыми аминокислотами, приводит к заболеваниям. Чтобы восполнить недостающие аминокислоты, ткани начинают гидролизовать свои собственные белки с помощью тканевых протеиназ.

В результате недостатка незаменимых аминокислот у детей нарушаются развитие и функции организма. Белки тканей гидролизуются и в норме с целью обновления, но процессы гидролиза и синтеза белков тканей в этом случае уравновешены.

10.2. БИОСИНТЕЗ АМИНОКИСЛОТ

Растения и многие виды бактерий содержат ферментные системы, необходимые для синтеза всех требуемых α -кетокислот. Животные утратили способность синтезировать некоторые α -кетокислоты. Эти кетокислоты соответствуют незаменимым аминокислотам. Другие α -кетокислоты (соответствующие заменимым аминокислотам) могут образовываться в результате метаболизма иных веществ, в основном из глюкозы.

Последней реакцией в синтезе аминокислот из α -кетокислот является **реакция трансаминирования**, в ходе которой аминогруппа переносится от донорской аминокислоты к акцепторной α -кетокислоте. В результате получается α -кетокислота из донорской аминокислоты и новая аминокислота. Реакцию катализируют ферменты аминотрансферазы (трансаминазы) с участием кофермента пиридоксальфосфата (производное витамина B_6). Эта реакция легкообратима. Любые аминокислоты, которых в пище недостаточно, можно синтезировать за счет имеющихся в избытке при наличии соответствующих кетокислот (рис. 10.3; 10.4).

Трансаминирование происходит практически во всех органах. Большинство промежуточных продуктов важных метаболических путей являются кетокислотами, которые могут включаться в трансаминирование. Многие аминотрансферазы предпочитают использовать α -кетоглутарат как акцептор аминокруппы, при этом образуется глутамат, а в обратной реакции — α -кетоглутарат. Пара α -кетоглутарат и глутамат широко участвуют в метаболическом потоке азота. Например, с помощью реакций трансаминирования осуществляется «переброска» аминного азота из мышц в печень. В работающей мышце происходит образование аланина из пировиноградной кислоты путем трансаминирования с глутаматом. Аланин поступает в кровь и затем по-

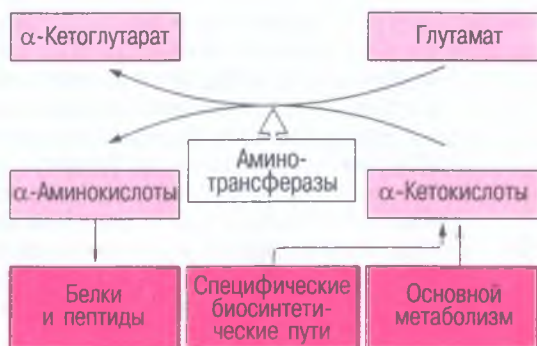


Рис. 10.4. Трансаминирование.

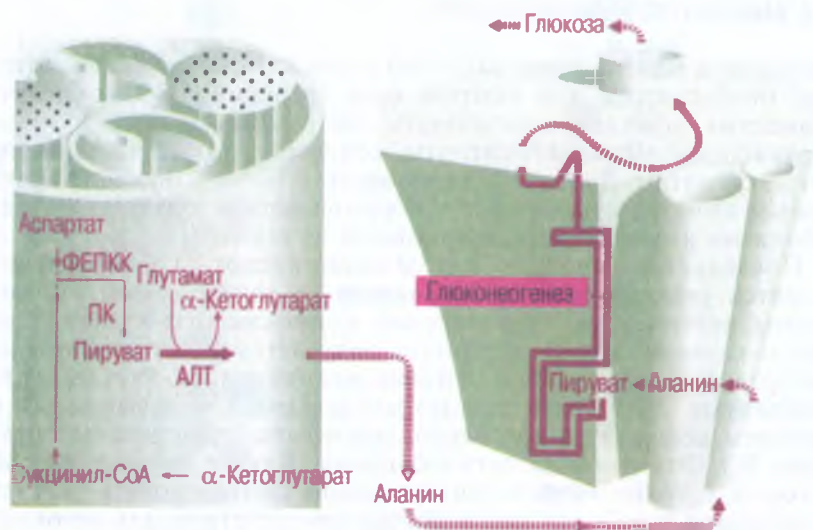


Рис. 10.5. Глюкозоаланиновый цикл.

ФЕПКС — фосфоенолпируваткарбоксикиназа; ПК — пируваткарбоксилаза; АЛТ — аланинтрансминаза.

глощается печенью. В печени происходит обратная реакция, в результате которой образуется пируват, реализуемый в глюконеогенезе. Глюкоза может поступать в работающую мышцу, при этом создается *глюкозо-аланиновый цикл*, который служит для переноса из мышц в печень пирувата и азота (рис. 10.5).

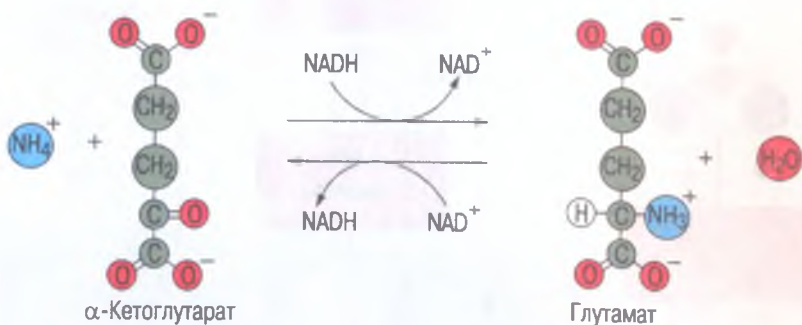
10.3. КАТАБОЛИЗМ АМИНОКИСЛОТ

Катаболизм аминокислот включает два этапа: 1) дезаминирование, заключающееся в отщеплении аминогруппы с образованием кетокислоты, и 2) катаболизм углеродного скелета, т.е. кетокислоты. В организме животных катаболизм аминокислот происходит в двух различных ситуациях: 1) *в нормальных условиях*, когда в диете присутствует избыточное количество белка и, следовательно, после переваривания и всасывания много аминокислот дезаминируется, а углеродный скелет (кетокислота) используется или для конверсии в запасной жир, или для окисления и извлечения энергии; 2) *при голодании*, когда разрушаются белки тканей и получившиеся после дезаминирования кетокислоты могут служить как для глюконеогенеза, так и для окисления.

Дезаминирование — это превращение аминокислот в соответствующие α -кетокислоты в результате отщепления амино-

А

Глутаматдегидрогеназа



Б

Глутаминсинтетаза / глутаминаза

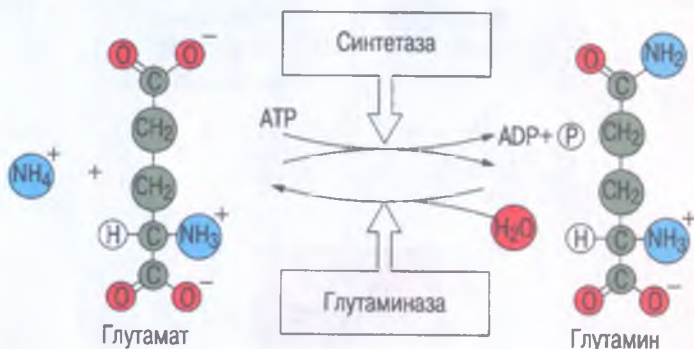


Рис. 10.6. Обмен глутамата с участием глутаматдегидрогеназы (А) и глутаминсинтетазы (глутаминазы) (Б).

группы в виде аммиака. Реакция сопровождается окислением, поэтому называется *окислительным дезаминированием*. Наиболее широко распространенной реакцией является окислительное дезаминирование глутаминовой кислоты, катализируемое NAD-зависимой дегидрогеназой (рис. 10.6, А). Эта реакция обратима, но ее основная роль заключается в дезаминировании, хотя в некоторых органах она может протекать в сторону синтеза глутаминовой кислоты. В ходе дезаминирования глутамата аминогруппа сразу превращается в ион аммония, поэтому реакция называется *прямым окислительным дезаминированием*. Другие аминокислоты дезаминируются *непрямым путем*, состоящим из 2 этапов: I этап — *трансаминирование* с α-кетоглутаратом с образованием глутамата; II этап — *окислительное дезаминирование глутамата* (рис. 10.7).

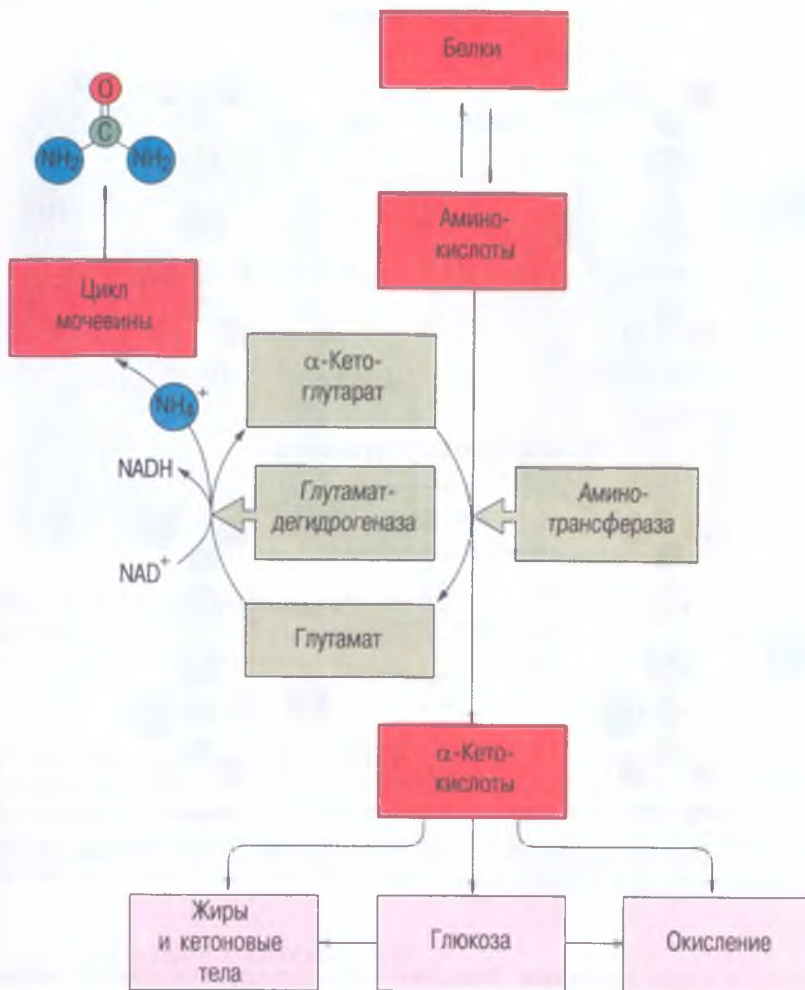


Рис. 10.7. Непрямое дезаминирование. Судьба аминного азота и кетокислот.

Катаболизм углеродных скелетов, полученных в результате дезаминирования аминокислот, приводит к образованию либо *ацетил-СоА*, а далее из него жиров или кетоновых тел (кетогенные аминокислоты), или к образованию метаболитов, способных включаться в глюконеогенез (гликогенные аминокислоты) и поддерживать уровень глюкозы в крови при голодании (рис. 10.8).

Обезвреживание аммиака. Образующийся при дезаминировании аминокислот аммиак (при физиологических значениях

значения для обезвреживания аммиака, хотя используется для образования глутаминовой кислоты;

2) образование амида глутаминовой кислоты — глутамина при участии глутаминсинтетазы:

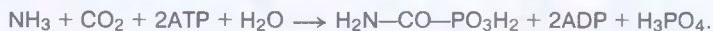


Эта реакция протекает во многих тканях, но наиболее важна для нервной ткани, особенно чувствительной к токсическому действию аммиака. Глутамин выполняет функцию транспортной формы аммиака. В печени он расщепляется под действием глутаминазы на глутамат и аммиак, а последний включается в процесс синтеза мочевины (см. рис. 10.6, Б):



Кроме того, глутамин представляет собой резерв аммиака, необходимый в почках для компенсации ацидоза. В этом случае активность глутаминазы почек увеличивается и ион аммония выводится в виде солей аммония, компенсируя при этом излишнее количество протонов;

3) образование карбамоилфосфата путем конденсации NH_3 , CO_2 и АТР, катализируемое карбамоилфосфатсинтетазой 1 (фермент действует в митохондриях). Эта реакция происходит в печени и является начальной стадией синтеза мочевины — конечного продукта метаболизма азота:



10.4. ВХОДИТЕЛЬНЫЙ МОЧЕВИНЫ (ОРНИТИНОВЫЙ ЦИКЛ)

Синтез мочевины — циклический процесс. Он состоит из 5 реакций, катализируемых пятью отдельными ферментами. Суммарное уравнение:



Из анализа процесса синтеза мочевины следует:

1) включение азота происходит в двух реакциях. Один из атомов азота поступает в форме NH_3 в реакции 1 и является продуктом дезаминирования аминокислот, а другой включается в составе аспартата (реакция 3). Этот второй атом азота может поступать в аспартат из любой аминокислоты путем трансаминирования с оксалоацетатом (рис. 10.9). Следовательно, атомы азота в мочеине имеют разное происхождение;

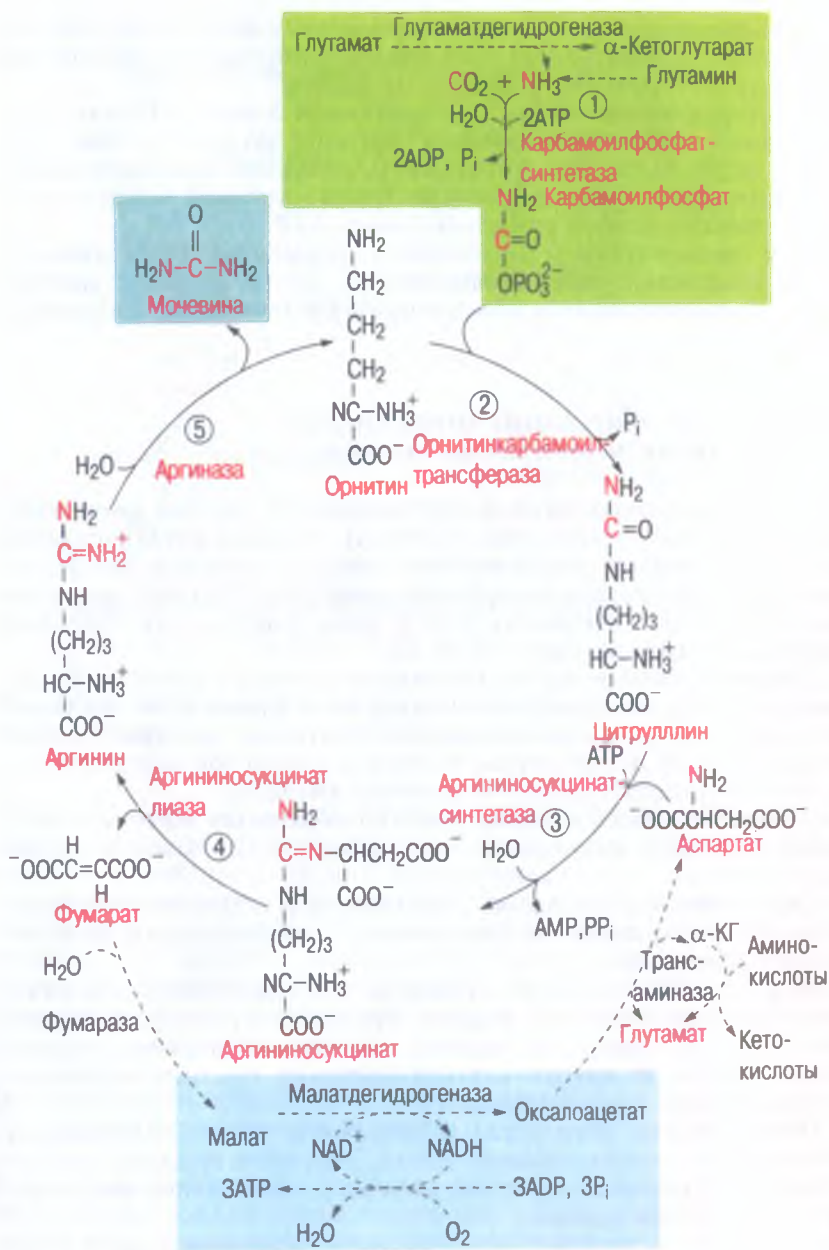


Рис. 10.9. Орнитиновый цикл. Цифры — номера реакций.

2) *орнитиновый цикл связан с цитратным циклом*, так как оксалоацетат, необходимый для трансаминирования, образуется из фумарата в реакциях цитратного цикла;

3) *процесс эндергонический*, требующий 3 моль АТФ для синтеза одной молекулы мочевины. Затраты энергии в этом процессе могут быть компенсированы реакцией окислительного дезаминирования глутамата, протекание которой сопряжено с дыхательной цепью и синтезом 3 моль АТФ.

При недостаточной активности ферментов орнитинового цикла возникают **гипераммониемия** — патологические состояния сопровождающиеся повышением концентрации аммиака в крови.

10.5. ДЕКАРБОКСИЛИРОВАНИЕ АМИНОКИСЛОТ И МЕТАБОЛИЗМ БИОГЕННЫХ АМИНОВ

В результате отщепления α -карбоксильной группы аминокислот образуются амины (рис. 10.10, А). Реакция катализируется декарбоксилазами, коферментом которых является фосфолипидоксаль. Продукты декарбоксилирования обладают высокой биологической активностью и с этим связано их название «биогенные амины» (рис. 10.10, Б).

Гистамин образуется из гистидина в тучных клетках. Выделяется в ответ на присутствие аллергена. Кроме того, он является сильным сосудорасширяющим фактором, вызывает сокращение гладкой мускулатуры, в клетках слизистой оболочки желудка стимулирует секрецию соляной кислоты.

γ -**Аминомасляная кислота** (ГАМК) образуется из глутамата в ткани головного мозга, выполняет функции тормозного нейромедиатора.

Серотонин образуется из триптофана в нейронах гипоталамуса. Функционирует как возможный нейромедиатор возбуждающего характера.

Дофамин образуется из тирозина в почках, надпочечниках, симпатических ганглиях, нервах. Это медиатор ингибирующего типа, функционирует в черной субстанции верхнего отдела ствола мозга. В других клетках является предшественником норадреналина и адреналина.

Норадреналин образуется в результате гидроксирования дофамина в клетках нервной ткани, мозговом веществе надпочечников. Функционирует как медиатор в синаптической передаче нервных импульсов.

Адреналин — продукт метилирования норадреналина в клетках мозгового вещества надпочечников. Выполняет функции гормона.

Инактивация биогенных аминов происходит путем их дезаминирования и окисления (рис. 10.10, В). Реакция катализирует

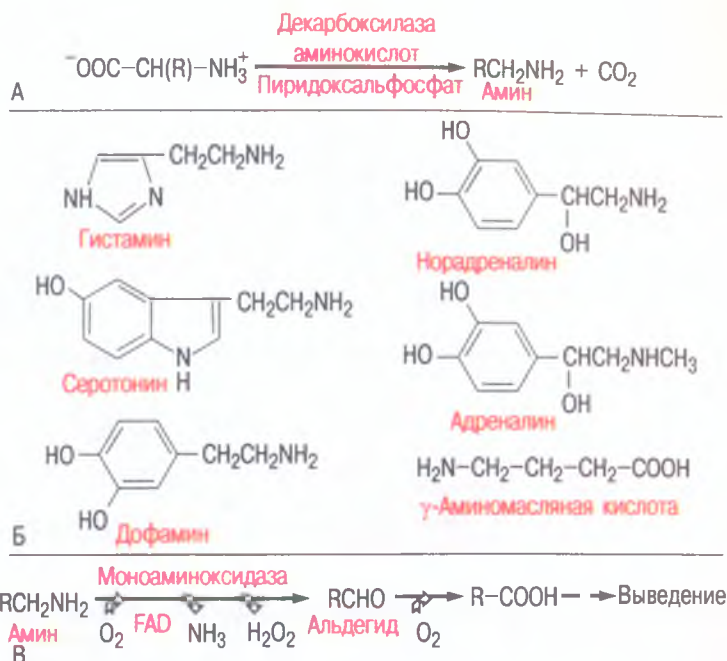


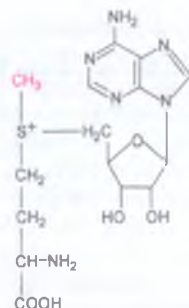
Рис. 10.10. Образование и обезвреживание биогенных аминов. Объяснение в тексте.

FAD-зависимая моноаминоксидаза (MAO). Моноаминоксидаза может быть точкой воздействия некоторых лекарственных средств, ингибирующих или активирующих этот фермент, так как изменение концентрации биогенных аминов является причиной ряда патологических состояний. Например, при паркинсонизме наблюдается уменьшение количества дофамина, и одним из способов лечения является снижение скорости инактивации дофамина под влиянием веществ — ингибиторов MAO.

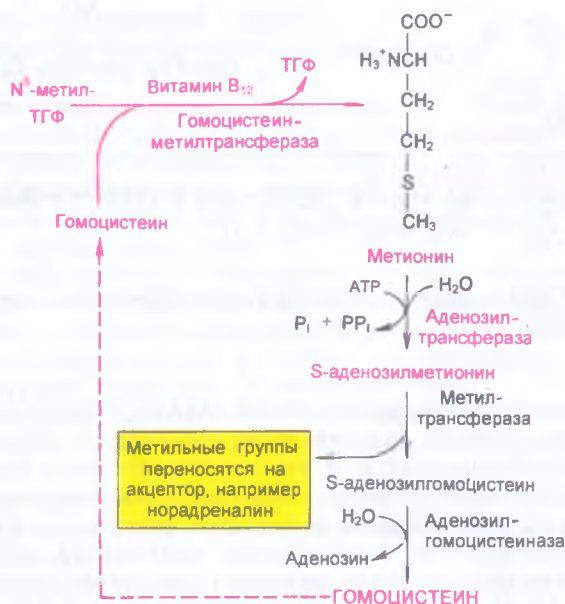
10.6. ТРАНСМЕТИЛИРОВАНИЕ И МЕТАБОЛИЗМ ОДНОУГЛЕРОДИХ ФРАГМЕНТОВ

В клетках осуществляются превращения, включающие перенос одноуглеродных групп, таких, как $-\text{CH}_3$, $-\text{CHOH}$, $-\text{CHO}$, $-\text{CH}_2$ и т.д. Реакция, в которой переносится метильная группа ($-\text{CH}_3$), называется реакцией метилирования, она происходит с участием метионина.

Донором метильной группы служит S-аденозилметионин (SAM):



Это соединение является активной формой метионина в реакциях метилирования.



В ходе реакции метилирования SAM превращается в S-аденозилгомоцистеин (SAG). Гомоцистеин может вновь превращаться в метионин, но для этого нужны доноры и переносчики одноуглеродного фрагмента.

Все ферменты, катализирующие перенос одноуглеродных групп, нуждаются в коферменте, роль которого выполняет **тетрагидрофолат** (ТГФ, или H_4 -фолат), образующийся из фолиевой кислоты — важного для человека витамина (рис. 10.11).

Тетрагидрофолат способен связывать одноуглеродные группы с атомами азота в положении 5 и 10, образуя разные формы в зависимости от строения одноуглеродных фрагментов (см. рис. 10.11).



Рис. 10.11. Производные тетрагидрофолиевой кислоты.

Донорами одноуглеродных фрагментов могут быть серин и глицин. В реакции превращения серина в глицин или катаболизма глицина до CO_2 и H_2O CH_2 -группа переносится на ТГФ. Дальнейшие метаболические превращения преобразуют группу $-\text{CH}_2-$ в другие группы и определяют пути их использования. Метильная группа необходима для превращения гомоцистеина в метионин, а метиленовые, метениловые и формильные участвуют в биосинтезе всех пуринов и одного из пиримидинов — тимина.



Участие ТГФ в синтезе тимина и пуринов объясняет применение сульфаниламидных препаратов как бактериостатических средств. Эти препараты подавляют в клетках микроорганизмов образование фолиевой кислоты, которая не является для прокариот витамином и может ими синтезироваться. Сульфаниламиды — это структурные аналоги *p*-аминобензоата (компонента фолиевой кислоты), поэтому действуют как конкурентные ингибиторы синтеза фолата и тем самым препятствуют росту клеток микроорганизмов.

10.7. МЕТАБОЛИЗМ НУКЛЕОТИДОВ

Все организмы способны синтезировать пуриновые и пиримидиновые нуклеотиды из таких простых соединений, как CO_2 , NH_3 , аспарат, глицин, глутамат, рибоза. Происхождение атомов пуринового и пиримидинового циклов показаны на рис. 10.12.

Путь синтеза пуринов завершается образованием инозин-5'-монофосфата — IMP, который затем превращается в AMP и GMP. Конечным продуктом нуклеотидной природы в процессе синтеза пиримидинов является уридин-5'-монофосфат — UMP (рис. 10.13), который также служит предшественником других пиримидинов. В ходе синтеза нуклеотидов фосфорирibозный

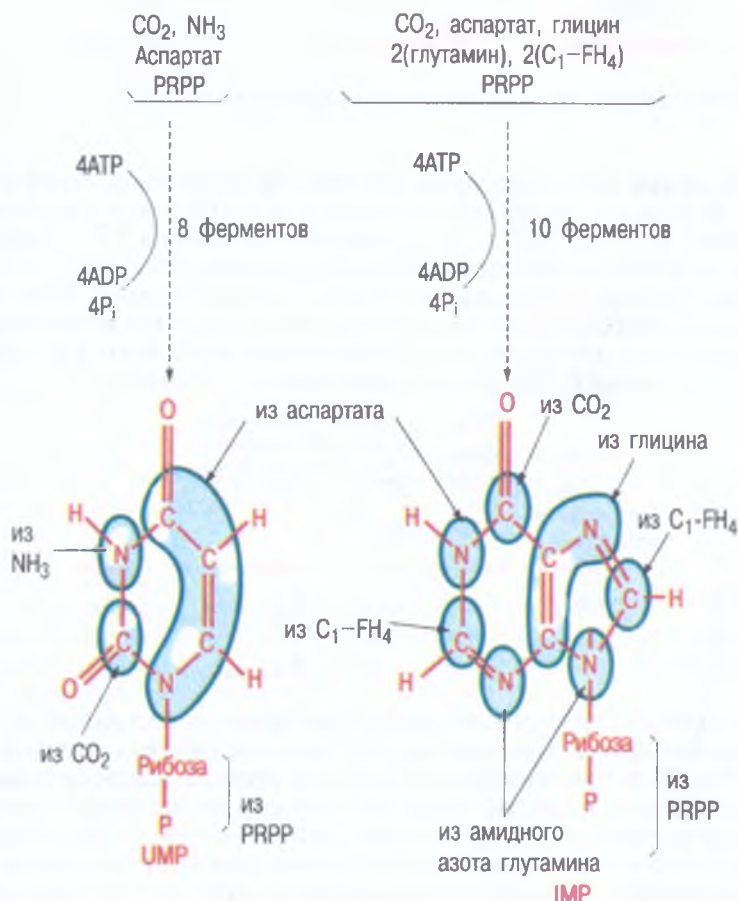


Рис. 10.12. Синтез пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов.

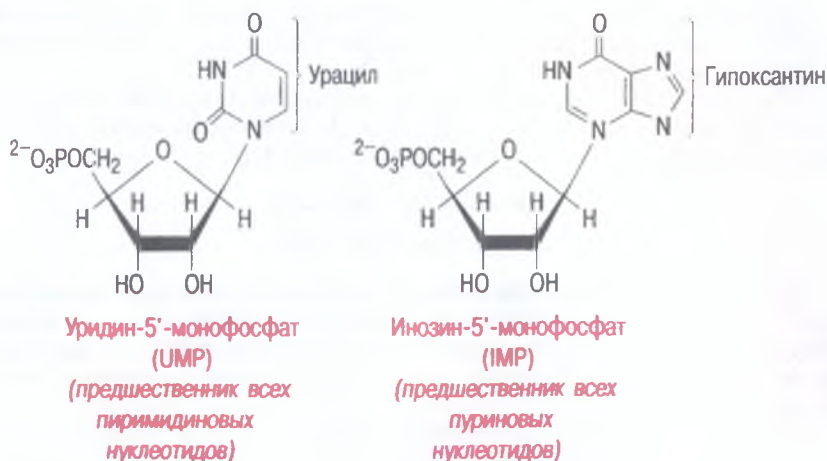


Рис. 10.13. Строение UMP и IMP.

компонент включается в виде 5'-фосфорибозил-1'-пирофосфата (PRPP). Это соединение получается из рибозо-5'-фосфата, который в свою очередь является продуктом пентозофосфатного пути глюкозы.

Для синтеза пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов характерно участие *тетрагидрофолата* как переносчика одноуглеродных фрагментов. Сборка из мелких фрагментов — не единственный путь синтеза нуклеотидов. Другой путь — это синтез пуриновых нуклеотидов из азотистых оснований путем фосфорибозилирования. Этот путь представляет собой реутилизацию свободных пуриновых оснований, образующихся при катаболизме нуклеотидов, например:



Для пиримидиновых нуклеотидов характерно повторное использование рибонуклеозидов:



10.8. СИНТЕЗ НУКЛЕОТИДОВ

AMP синтезируется из IMP путем аминирования в 6-м положении пуринового кольца с участием аспарагиновой кислоты — донора аминогруппы. GMP синтезируется также после аминирования IMP в 3-м положении пуринового кольца. Донором аминогруппы служит глутаминовая кислота.

Синтез цитидиловых нуклеотидов происходит из UTP путем аминирования пиримидинового кольца в 4-м положении. Донор аминогруппы — глутамин.

Нуклеозидди- и трифосфаты образуются из соответствующих нуклеозидмонофосфатов путем фосфорилирования с участием специфических киназ и АТФ, например:



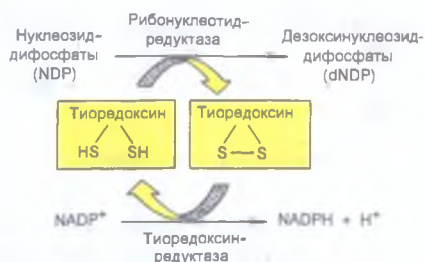
Регуляция синтеза нуклеотидов осуществляется главным образом по механизму обратной связи. Ферменты, катализирующие одну из первых стадий синтеза IMP или UMP, контролируют весь процесс. Пример регуляции синтеза пуриновых нуклеотидов:



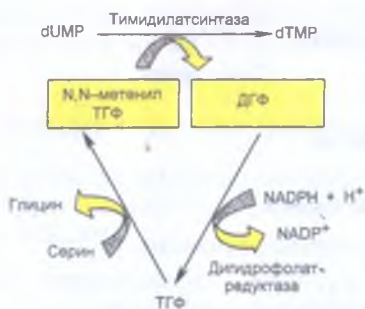
Кроме регуляции всего процесса на I стадии, возможна регуляция синтеза AMP и GMP на специфических стадиях (раздельная регуляция).

Синтез дезоксирибонуклеотидов происходит из рибонуклеозиддифосфатов путем восстановления рибозы в составе нуклеотида в дезоксирибозу. В этом процессе участвуют три белка: 1) рибонуклеозидредуктаза — фермент, катализирующий восстановление рибозы в составе нуклеотида; 2) тиоредоксин — донор водорода для восстановления кислорода рибозы в положении C₂ до молекулы воды; 3) тиоредоксинредуктаза — фермент, восстанавливающий окисленный тиоредоксин за счет водорода NADPH.

Дезоксинуклеозиддифосфаты затем превращаются в дезоксинуклеозидтрифосфаты служат субстратами для синтеза DNA. Так синтезируются dATP, dGTP, dCTP. В результате метилирования dTTP синтезируется из dUMP. Донором одноуглеродной CH₃-группы служит метилен-ТГФ. Реакция катализируется ти-



мидилатсинтазой. В ходе превращения образуется дигидрофолат, который восстанавливается снова до тетрагидрофолата под действием фолатредуктазы и водорода NADPH. На ингибировании тимидилатсинтазы и фолатредуктазы основано действие противоопухолевых препаратов. Эти препараты тормозят образование тимидина из dTTP, необходимого для синтеза DNA, а следовательно, репликацию и деление клеток.



10.9. КАТАБОЛИЗМ НУКЛЕОТИДОВ

Катаболизм пуриновых нуклеотидов приводит к образованию ксантина, который в организме человека превращается в *мочевую кислоту* (рис. 10.14). Часть свободных пуриновых оснований используется повторной (реутилизация) под действием ферментов гипоксантин-гуанин-фосфорибозилтрансферазы и аденоинфосфорибозилтрансферазы, которые превращают пуриновые основания в нуклеотиды. Донором фосфорибозильной группы служит 5'-фосфорибозил-1'-пирофосфат (PRPP).

Гиперурикемия — состояние, проявляющееся повышенным содержанием мочевой кислоты в крови. **П р и ч и н ы** г и п е р у р и к е м и и: а) избыточный синтез мочевой кислоты вследствие нарушения регуляции; б) снижение в плазме концентрации уратсвязывающего белка — транспортного белка для мочевой кислоты; в) замедление выведения мочевой кислоты с мочой; г) снижение скорости реутилизации пуриновых основа-

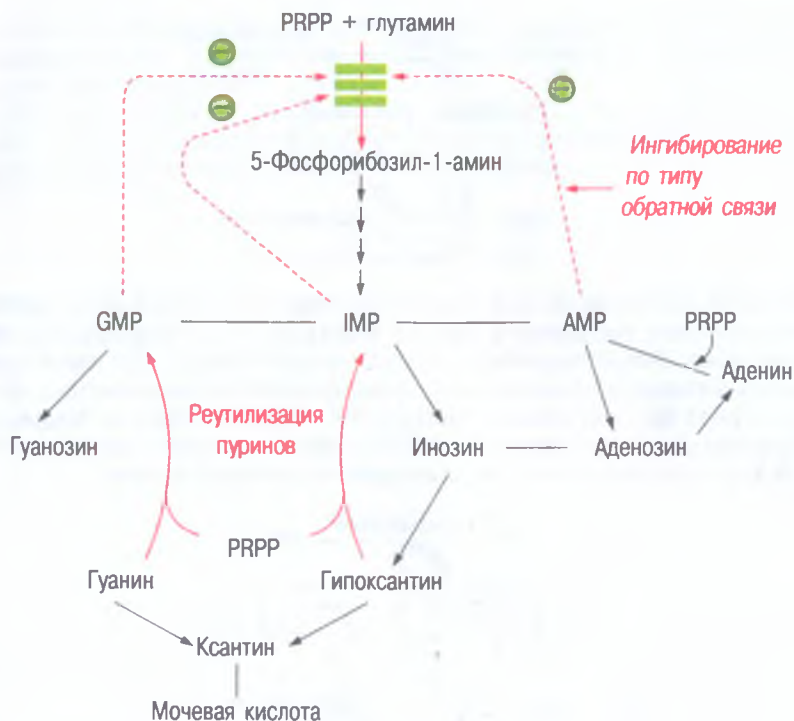


Рис. 10.14. Обмен пуриновых нуклеотидов.

ний. Гиперурикемия является причиной ряда заболеваний, например подагры и синдрома Леша—Нихана.

Катаболизм пиримидиновых нуклеотидов приводит к образованию пиримидиновых оснований, а затем протекает разными путями в зависимости от вида организма. У человека конечными продуктами распада являются CO_2 , NH_3 , β -аланин (из урацила) и γ -иминомасляная кислота из тимина. Ферменты реутилизации свободных пиримидиновых оснований не обнаружены, но клетки млекопитающих обладают способностью реутилизировать пиримидиновые рибонуклеозиды уридин и цитидин, превращая их в соответствующие нуклеотиды.

На рис. 11.1 представлена общая схема основных метаболических путей углеводов белков и жиров, описанных в предыдущих главах.

Интеграция метаболизма определяется следующим:

- ♦ наличием общих промежуточных продуктов в большей части метаболических путей;
- ♦ возможностью взаимопревращений через общие метаболиты;
- ♦ использованием общих коферментов и необходимостью их постоянной циркуляции;
- ♦ наличием общего пути катаболизма и единой системы освобождения и использования энергии (дыхательная цепь);
- ♦ наличием сходных механизмов регуляции.

11.1. КОМПАРТМЕНТАЛИЗАЦИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ПУТЕЙ

В клетках контроль за этапами метаболизма осуществляется путем разделения метаболических процессов по отдельным отсекам (компартаментам).

Компарментализация некоторых основных метаболических путей

<i>Компармент</i>	<i>Метаболический процесс</i>
Цитозоль	Гликолиз Глюконеогенез Пентозофосфатный путь Биосинтез липидов Биосинтез пуринов и пиримидинов
Митохондрия	Цитратный цикл β -Окисление жирных кислот Синтез кетонových тел Дыхательная цепь

Изложенные факты позволяют сделать некоторые обобщения:

- ♦ метаболические взаимопревращения и биосинтез в основном связаны с цитозолем. NADPH, необходимый для реакций восстановления, образуется также в цитозоле в результате окислительного пентозофосфатного пути превращения глюкозы;

Интеграция метаболических путей служит основным целям, обеспечивающим жизнедеятельность организма:

- ♦ *производство энергии* в процессе окислительного распада пищевых веществ (механизмы высвобождения и использования энергии описаны ранее);
- ♦ *биосинтез веществ и структур*. Производство ключевых метаболитов и восстановленных кофакторов, необходимых для биосинтеза, обеспечивается интеграцией метаболических путей.

В большинстве случаев единственным донором водорода для разрыва биосинтезов является NADH, что тоже есть проявление интеграции.

Ключевые метаболиты, находящиеся в точках разветвления метаболических путей, обеспечивают переключение метаболизма с одного пути на другой в зависимости от потребностей организма. Эти вопросы частично рассматривались ранее, поэтому приведем лишь некоторые примеры.

Глюкозо-6-фосфат образуется в точке соединения и разветвления таких процессов, как депонирование глюкозы — синтез гликогена, использование энергетического материала — распад гликогена, синтез NADH — пентозофосфатный путь, производство энергии — аэробный распад глюкозы.

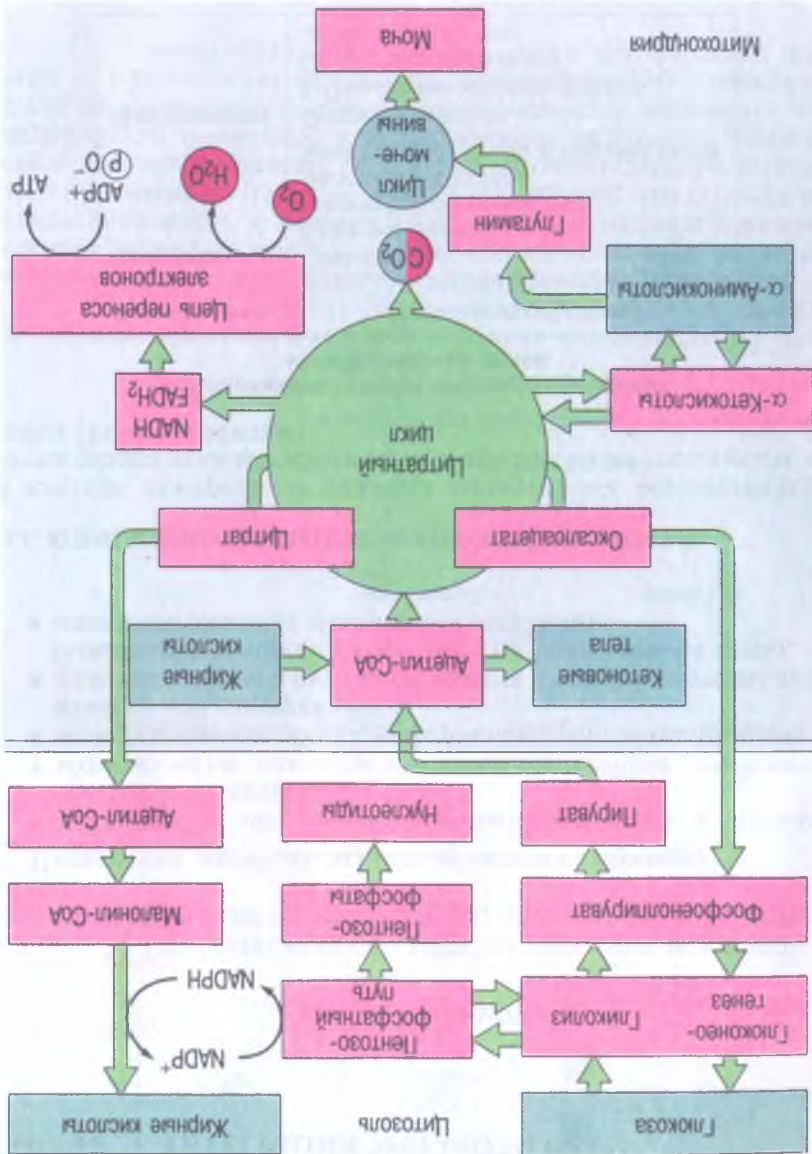
Пируват начинается общий для углеводов, белков и жиров путь катаболизма и открывает для них вход в цитратный цикл, где образуются метаболиты, используемые для глюконеогенеза и синтеза ряда аминокислот. Пируват тоже может быть субстратом для этих синтезов.

Ацетил-CoA включает белки, жиры и углеводы в первую реакцию питательного цикла. Он также служит субстратом для синтеза кетонных тел. Кроме того, в период пищеварения ацетил-CoA экспортируется в питтозоль в форме пирата и используется для синтеза жирных кислот. Особенности метаболизма жирных кислот заключаются в необратимости превращения ацетил-CoA в пируват и, следовательно, невозможности превращения жирных кислот в пируват.

Регуляторные механизмы переключения одного метаболического пути на другой частично рассматривались ранее. Таким образом, регуляция включает общие моменты: изменение концентрации ферментов; изменение активности ферментов; изменение концентрации субстратов, продуктов, а также кофакторов. Расмотрим регуляцию метаболизма углеводов, жиров и белков под влиянием гормонов. Переключение метаболических путей под влиянием гормонов происходит постоянно в зависимости от ритма питания, состава пищи и физиологической активности организма. *В период пищеварения* влияние гормонов направлено на запасы энергии веществ-энергетических для использования их в после-

♦ окислительное расщепление, связанное с дыханием, протекает в митохондриях. В качестве кофакторов обычно используются NAD^+ и флавопротеины.

Рис. 11.1. Интеграция метаболизма.



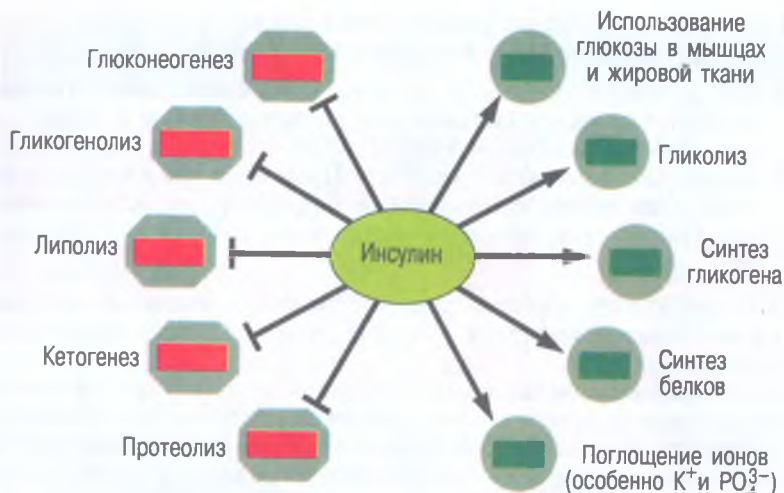


Рис. 11.2. Действие инсулина. Зеленый цвет — стимуляция, красный — угнетение.

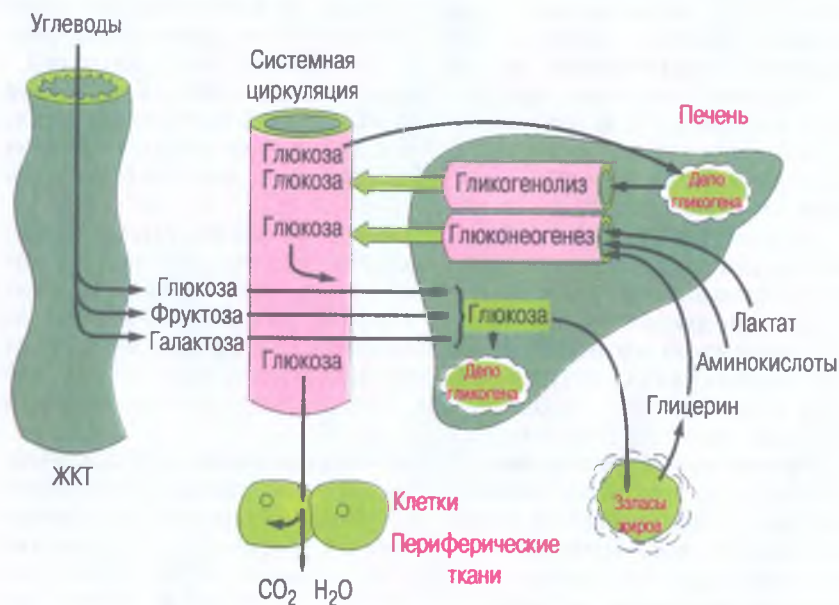


Рис. 11.3. Гомеостаз глюкозы.

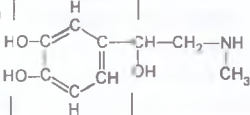
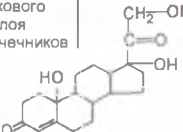
рация в крови увеличивается, и это является стимулом для секреции **и н с у л и н а**. Последний стимулирует процессы депонирования всех мономеров, образовавшихся в результате пере-

варивания. Так, инсулин ускоряет синтез гликогена в печени и мышцах, синтез липидов и белков. Инсулин увеличивает поглощение глюкозы некоторыми клетками и таким образом ускоряет пути ее использования (рис. 11.2).

В постабсорбтивный период концентрация глюкозы снижается. В результате этого снижается секреция инсулина и уменьшается поглощение глюкозы всеми тканями, кроме нервной. Низкая концентрация глюкозы в крови является сигналом для секреции глюкагона и кортизола.

Глюкагон ускоряет распад гликогена и усиливает мобилизацию триацилглицеринов, переключая окисление тканями преимущественно глюкозы на окисление жирных кислот и кетонных тел. Оба глюкагон и кортизол — ускоряют глюконеогенез из аминокислот и глицерина для поддержания концентрации глюкозы в крови на постоянном уровне, необходимом для снабжения мозга (рис. 11.3).

Строение, механизм действия и основные эффекты гормонов, регулирующих метаболизм углеводов, белков и жиров

Название гормона и место синтеза	Строение	Сигнал для секреции	Органы мишени	Механизм передачи сигнала	Изменение метаболизма в клетках-мишенях
Инсулин β-Клетки поджелудочной железы	Белок	↑ Концентрация глюкозы в крови	Печень Мышцы Жировая ткань	Через мембранные рецепторы	1. Ускорение синтеза гликогена 2. Ускорение синтеза белка 3. Торможение глюконеогенеза 1. Ускорение синтеза гликогена 2. Ускорение синтеза белка 3. Ускорение транспорта глюкозы в клетку 1. Ускорение синтеза жиров из глюкозы 2. Ускорение транспорта глюкозы в клетку
Глюкагон α-Клетки поджелудочной железы	Пептид	↓ Концентрация глюкозы в крови	Печень Жировая ткань	Через мембранные рецепторы	1. Ускорение распада гликогена 2. Ускорение глюконеогенеза Ускорение липолиза
Адреналин Клетки мозгового слоя надпочечников	Производное тирозина 	Сигнал ЦНС	Печень Мышцы Жировая ткань	Через мембранные рецепторы	Ускорение распада гликогена Ускорение распада гликогена Ускорение липолиза
Кортизол Клетки коркового слоя надпочечников	Стероид 	Концентрация глюкозы в крови, опосредованная кортикотропином	Печень Мышцы	Через плазматические рецепторы	1. Ускорение глюконеогенеза 2. Индукция синтеза ферментов глюконеогенеза и катаболизма аминокислот 1. Ускорение катаболизма аминокислот. 2. Снижение скорости поступления аминокислот

В приведенной таблице описано влияние основных гормонов на обмен веществ. Далее представлено краткое описание некоторых других гормонов, участвующих в обмене углеводов, липидов и аминокислот.

Обмен углеводов. *Инсулин* увеличивает долю участия глюкозы в процессах образования энергии при неизменном общем уровне энергопродукции. Активация инсулином гликогенсинтетазы и гликогенветвящего фермента способствует увеличению синтеза гликогена. Наряду с этим инсулин оказывает ингибирующее влияние на глюкозо-6-фосфатазу печени и тормозит таким образом выход свободной глюкозы в кровь. Конечным результатом действия инсулина (при его избытке) является гипогликемия, стимулирующая секрецию гормонов—антагонистов инсулина, к которым относятся адреналин, иорадреналин, глюкагон, соматотропин, глюкокортикоидные и тироидные гормоны. При относительной или абсолютной инсулиновой недостаточности нарушаются процессы поступления глюкозы в инсулинзависимые ткани, снижается окислительное фосфорилирование и образование глюкозо-6-фосфата; в последующем нарушаются гликолитическое окисление глюкозы, цикл Кребса и гексозомонофосфатный (пентозный) цикл, угнетается синтез гликогена и усиливается гликогенолиз.

Катехоламины стимулируют гликогенолиз в печени и мышцах. Увеличение синтеза сАМР под влиянием катехоламинов и в большей степени адреналина активирует фосфорилазу печени, распад гликогена и образование большого количества свободной глюкозы. При этом увеличиваются поглощение кислорода, затраты энергии в связи с усилением сердечной деятельности, повышением мышечного тонуса и окислением молочной кислоты в печени. Глюкагон подобно адреналину активирует аденилатциклазу, образование сАМР, фосфорилазу, гликогенолиз и выход глюкозы из печени в кровяное русло. Это влияние намного сильнее, чем у адреналина, однако глюкагон не действует на мышечную фосфорилазу, следовательно, не мобилизует гликоген мышц. Гипергликемический эффект глюкагона является результатом стимуляции печеночного гликогенолиза и глюконеогенеза, индукции секреции адреналина, торможения проникновения глюкозы в мышцы.

Гормон роста увеличивает выход глюкозы в печеночные вены, усиливает глюконеогенез, уменьшает поглощение глюкозы на периферии и усиливает липолиз, в результате чего в крови повышается концентрация свободных жирных кислот, которые подавляют действие инсулина на мембранный транспорт глюкозы.

Глюкокортикоиды стимулируют катаболизм белков и глюконеогенез, повышают содержание гликогена в печени и в меньшей степени в мышцах, уменьшают мембранный транспорт

глюкозы и ее утилизацию на периферии. Гипергликемическое действие АКТГ опосредуется в основном через глюкокортикоиды.

Обмен липидов. Мембрана адипоцитов содержит рецепторы, взаимодействующие с гормонами, обладающими липолитическими свойствами (катехоламины, АКТГ, СТГ), и рецепторы к инсулину. В результате действия липолитических гормонов повышается активность аденилатциклазы, увеличивается образование сАМР, активизируются липопротеинлипаза и липолиз жира. Взаимодействие инсулина с соответствующими рецепторами, наоборот, приводит к угнетению аденилатциклазы, снижению концентрации сАМР и торможению липолиза. Липолиз увеличивается во время голодания, при продолжительной работе, охлаждении, стрессе. Липолитическое действие катехоламинов (адреналин, норадреналин) и глюкагона осуществляется путем активации аденилатциклазы. С физиологической точки зрения, роль норадреналина в процессе липолиза представляется более важной, чем адреналина. Он образуется в нервных адренергических окончаниях в жировой ткани и обеспечивает мобилизацию жирных кислот.

Гормон роста оказывает мощное липолитическое действие, которое отличается от действия катехоламинов. Он вызывает увеличение концентрации свободных жирных кислот в плазме через 2—3 ч. Это действие, отмечающееся при введении даже небольших доз соматотропина, по-видимому, связано с торможением процесса реэтерификации свободных жирных кислот. Тем не менее соматотропин оказывает определенное модулирующее влияние и на активность аденилатциклазы. Другие гипофизарные гормоны (АКТГ, ТТГ, меланоцитостимулирующий гормон) также оказывают липолитическое действие, хотя и менее выраженное, чем соматотропин. Имеются данные о том, что ТТГ, АКТГ, гормоны щитовидной железы и коры надпочечников индуцируют синтез аденилатциклазы и, следовательно, принимают непосредственное участие в стимуляции липолиза.

Инсулин обладает характерным антилиполитическим свойством, и при сахарном диабете вследствие увеличения липолиза повышается концентрация свободных жирных кислот в плазме, снижению которой способствует инсулинотерапия.

Обмен аминокислот. Анаболическое действие инсулина заключается в ускорении проникновения аминокислот через мембрану клетки и включения их в белки, что вызывает снижение уровня аминокислот в крови. Инсулин снижает активность аминотрансфераз и ферментов цикла мочевины.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие	3
Список сокращений	4
Глава 1. Белки: структура и функции	5
1. 1. Структура белка	5
1. 2. Конформация полипептидных цепей	7
1. 3. Взаимодействие белков с лигандами	12
1. 4. Четвертичная структура и кооперативность	13
1. 5. Простые и сложные белки	16
Глава 2. Ферменты	17
2. 1. Кофакторы ферментов	18
2. 2. Механизмы действия ферментов	19
2. 3. Кинетика ферментативных реакций	20
2. 4. Ингибиторы ферментов	22
2. 5. Регуляция действия ферментов	25
2. 6. Аденилатциклазная система	27
Глава 3. Синтез нуклеиновых кислот и белков	30
3. 1. Структура нуклеиновых кислот	30
3. 2. Вторичная структура DNA	31
3. 3. Денатурация и ренатурация DNA	32
3. 4. Поток информации от DNA к структуре белка	36
3. 5. Репликация DNA	36
3. 6. Синтез RNA — транскрипция	39
3. 7. Синтез белка — трансляция генетической информации	41
3. 8. Аминоацил-tRNA-синтетаза и расшифровка кода	42
3. 9. Регуляция синтеза белка	46
3.10. Регуляция действия генов и клеточная дифференцировка ..	47
3.11. Ингибиторы матричных биосинтезов	47
3.12. Генные мутации	48
3.13. Полиморфизм белков	49
3.14. Методы работы с генным материалом	49
3.15. Использование PCR	51
3.16. Клонирование генов	51
3.17. Белки иммунной системы	52
Глава 4. Внелогические мембраны	55
4. 1. Химический состав мембран	55
4. 2. Липиды и белки мембран	56
4. 3. Асимметрия мембран	57
4. 4. Мембранный транспорт	58

Глава 5. Общие аспекты регуляции метаболизма	62
5. 1. Роль АТФ	63
5. 2. Регуляция метаболизма	63
5. 3. Механизм действия гормонов на метаболизм	66
Глава 6. Биологическое окисление	70
6. 1. Цепь транспорта электронов	70
6. 2. Окислительное фосфорилирование	76
6. 3. Сопряжение работы дыхательной цепи с процессом синтеза АТФ	76
Глава 7. Катаболизм	80
7. 1. Окислительное декарбоксилирование пировиноградной кислоты	81
7. 2. Цитратный цикл	82
7. 3. Сопряжение общих путей катаболизма с дыхательной цепью	83
7. 4. Энергетика цитратного цикла и общих путей катаболизма	84
7. 5. Регуляция общих путей катаболизма	85
7. 6. Гипоэнергетические состояния	86
Глава 8. Метаболизм углеводов	87
8. 1. Функции углеводов	87
8. 2. Расщепление углеводов	87
8. 3. Метаболизм глюкозы	88
8. 4. Транспорт глюкозы в клетки	88
8. 5. Катаболизм глюкозы	88
8. 6. Энергетическое значение аэробного распада глюкозы	92
8. 7. Значение анаэробного гликолиза	92
8. 8. Депонирование и распад гликогена	93
8. 9. Особенности метаболизма гликогена в печени и мышцах	97
8.10. Биосинтез глюкозы — глюконеогенез	100
8.11. Глюкозолактатный цикл (цикл Кори)	103
8.12. Пентозофосфатный путь в метаболизме глюкозы	104
8.13. Регуляция метаболизма углеводов (некоторые аспекты)	106
8.13.1. Регуляция метаболизма глюкозы в печени, связанная с ритмом питания	106
8.13.2. Регуляция метаболизма глюкозы в мышцах, связанная с режимом мышечной работы	109
Глава 9. Метаболизм липидов	110
9. 1. Расщепление липидов в пищеварительном тракте	110
9. 2. Депонирование и мобилизация жиров	113
9. 3. Окисление жирных кислот	118
9. 4. Энергетика окисления жирных кислот	118
9. 5. Образование кетонových тел в печени — кетогенез	118
9. 6. Биосинтез жирных кислот	122
9. 7. Полиненасыщенные жирные кислоты	125
9. 8. Регуляция синтеза и окисления жирных кислот в печени	125
9. 9. Метаболизм холестерина и желчных кислот	128
9.10. Транспорт холестерина и триацилглицеринов	130
9.11. Метаболизм желчных кислот	133

Глава 10. Метаболизм азотсодержащих соединений	135
10.1. Метаболизм аминокислот	135
10.2. Биосинтез аминокислот	139
10.3. Катаболизм аминокислот	140
10.4. Биосинтез мочевины (орнитиновый цикл)	144
10.5. Декарбоксилирование аминокислот и метаболизм биогенных аминов	146
10.6. Трансметилирование и метаболизм одноуглеродных фрагментов	147
10.7. Метаболизм нуклеотидов	150
10.8. Синтез нуклеотидов	151
10.9. Катаболизм нуклеотидов	153
Глава 11. Интеграция метаболизма	155
11.1. Компарментализация метаболических путей	155

Учебник

БИОХИМИЯ

Зав. редакцией *Т.П. Осокина*

Редактор издательства *М.Г. Фомина*

Художественный редактор *О.А. Четверикова*

Технические редакторы *Н.А. Биркина, С.П. Танцева*

Корректор *Л.П. Тарарина*

ЛР № 010215 от 29.04.97. Сдано в набор 15.09.2000.
Подписано к печати 06.10.2000. Формат бумаги 60×90¹/₁₆.
Бумага офс. № 1. Гарнитура Таймс. Печать офсетная.
Усл.печ.л. 10,50. Усл.кр.-отт. 40,75 Уч.-издл. 9,28. Тираж
5 000 экз. Заказ № 2145

Ордена Трудового Красного Знамени издательство «Меди-
цина». 101000, Москва, Петровверигский пер., 6/8.

Отпечатано с готовых диапозитивов в типографии ОАО
«Внешторгиздат». 127576, Москва, ул. Илимская, 7.

ISBN 5-225-04188-4



9785225041885

Вниманию студентов и врачей!

В издательстве «Медицина» выходят в свет
следующие издания

Биохимические основы патологических процессов: Учебное пособие. — Под ред. *Е.С.СЕВЕРИНА*

В пособии изложены современные представления о биохимических нарушениях при различных патологических состояниях и болезнях. Рассмотрены биохимические механизмы патологии обмена углеводов, липидов, азотистого обмена, молекулярные основы онкогенеза и действия оксида азота. Приведены сведения об инсулинзависимом сахарном диабете и алкоголизме.

Содержащиеся в книге сведения могут заинтересовать врачей общего профиля.

Т.Л.АЛЕЙНИКОВА, Г.В.РУБЦОВА, Н.А.ПАВЛОВА
Руководство к практическим занятиям по биохимии

В руководстве приведены лабораторные работы, выполнение которых позволит студентам лучше усвоить теоретический материал по курсу «Биохимия». В помощь лаборантам в приложении перечислены материал для исследования, реактивы и оборудование, приведены таблицы нормальных биохимических показателей.