



J. Musil  
O. Novakova  
K. Kunz

# **Biochemistry in schematic perspective**

Avicenum  
Czechoslovak Medical Press  
Prague



Я.Мусил  
О.Новакова  
К.Кунц

# **СОВРЕМЕННАЯ БИОХИМИЯ В СХЕМАХ**

2-е издание

Перевод с английского  
д-ра хим. наук С. М. Аваевой  
и канд. хим. наук А. А. Байкова

Москва «Мир» 1984

ББК 28.072  
М91  
УДК 577.1

Мусил Я., Новикова О., Кунц К.

М91 Современная биохимия в схемах: Пер. с англ.- 2-е изд., исправл.- М.: Мир, 1984.-216 с., ил.

Второе издание книги известных чешских авторов, вызвавшей большой интерес и отличные отзывы советских специалистов (1-е изд. «Мир», 1981). Богато иллюстрированное учебное пособие дает возможность с помощью наглядных схем и краткого пояснительного текста ознакомиться с современным состоянием биохимических проблем в самых различных аспектах.

Предназначена для широкого круга специалистов - химиков, биохимиков, биологов, медиков, для студентов, специализирующихся в указанных областях, а также для преподавателей средней школы.

М 2001040000-131 132-84, ч. 1  
041(01)-84

ББК 28.072  
57.04

*Редакция литературы по химии*

#### ОПЕЧАТКА

В книге Мусил и другие  
«Современная биохимия в схемах»  
замеченные опечатки (следует читать):

стр. 72, 12-ая строка сверху:  
«таким образом в гликолииз. Реакции пентознго»

стр. 151, 2-ое уравнение после 3-его абзаца сверху:  
«миозин • АТР+ Н<sub>2</sub>О <=> миозин\* АDР • Р<sub>i</sub> + Н<sup>+</sup>»

стр. 177. 5-ая строка снизу в таблице:  
«Инсулин 5500 1.11 98»

## От переводчика

Вниманию читателей предлагается совершенно необычная, уникальная книга по биохимии - «Современная биохимия в схемах». В последнее время на русском языке появился ряд прекрасных книг по биохимии, предназначенных главным образом для специалистов, работающих в данной области. Новая книга принципиально отличается от них по крайней мере двумя особенностями. Во-первых, своим объемом. Фундаментальные основы биохимии и новейшие достижения этой науки изложены в ней очень лаконично. Концентрация огромного фактического материала достигнута за счет того, что центральное место отведено очень наглядным схемам, а краткий текст лишь поясняет их и включает определения основных понятий. Однако надо подчеркнуть, что «Современная биохимия в схемах» не научно-популярное, а именно научное издание, своего рода конспект различных разделов биохимии.

Вторая особенность книги заключается в том, что она рассчитана на самый широкий круг читателей. Она окажется полезной для всех, кто изучает биохимию, и особенно для тех, кто, не имея специальной подготовки, столкнулся с ее проблемами. Биохимия во всей сложности и многообразии часто представляется чрезвычайно трудным предметом. Книга Мусила, Новаковой и Кунца максимально облегчает знакомство с этой областью науки и адресована читателям с самым разным уровнем подготовки.

В основу «Современной биохимии в схемах» положено издание, написанное группой чешских авторов и вышедшее на английском языке.

По своей сути книга близка к блестящему учебнику, написанному А. Ленинджером\*. Она знакомит читателей с широким кругом проблем биохимии - строением основных классов биополимеров - белков, нуклеиновых кислот, углеводов и липидов, рассматривает пути их распада и синтеза в живом организме. Детально разобран метаболизм аминокислот, гликолиз и превращения в цикле лимонной кислоты. Дано строение клетки, клеточных мембран и обсуждены проблемы транспорта, накопления и расхода энергии. Существенное внимание уделено вопросам репликации, транскрипции и трансляции генетической информации. В заключительной главе рассмотрена регуляция биологических процессов как частный случай управляемых систем. Очень удобно, что в книге приведены некоторые единицы СИ и их соотношение с внесистемными и устаревшими единицами.

\* Ленинджер А. Биохимия: Пер. с англ.- М: Мир, 1974.

Русское издание «Современная биохимия в схемах» значительно более полное по сравнению с книгой на английском языке. Оно включает шесть новых глав, посвященных вопросам, которые ранее в книге не рассматривались («Сократительная система мышечной клетки», «Нервная клетка: структура и функция», «Соединительная ткань», «Вода и ионы», «Кислотно-основной баланс и обмен газов» и «Биохимия иммунной системы»).

При подготовке русского издания авторами был внесен также ряд изменений в ранее написанные главы. В гл. XI «Митохондрии, дыхание, фосфорилирование» они по-новому изложили хемиосмотическую теорию окислительного фосфорилирования, процессы транспорта фосфата и бикарбоната, в гл. IX «Клетка» изменили раздел о строении интерфазного ядра и хромосом. Некоторые неточности оригинала удалось исправить при переводе и редактировании книги; я благодарна моим коллегам за ценные замечания, сделанные ими при чтении отдельных ее разделов.

Можно не сомневаться, что книга будет полезна широкому кругу исследователей, работающих в смежных с биохимией областях, студентам и аспирантам, изучающим биохимию, а также преподавателям школ, техникумов и педагогических вузов.

*С. Аваева*

## Введение

*Биохимия* может быть определена как химия живых объектов (клеток и организмов). Живые объекты отличаются от неживых своей способностью к (а) метаболизму; (б) воспроизведению (с передачей генетической информации).

При этом живые существа являются составной частью природы и подчиняются всем основным законам природы, таким, как законы сохранения массы и энергии и законы термодинамики.

*Живые объекты* представляют собой *открытые системы* (с точки зрения термодинамики) или *относительно изолированные системы* (с точки зрения кибернетики). В обоих случаях это означает, что живые системы участвуют в обмене с окружающей средой. Этот обмен со средой осуществляется с помощью субстратов (источников свободной энергии) и приходящей извне информации (что приводит к снижению энтропии и повышению уровня организации живых систем). Такого рода обмен со средой подчиняется в основном принципу Ле Шателье и приводит к *стационарному состоянию системы*. Оно может быть охарактеризовано, как динамическое состояние, при котором в каждый данный промежуток времени система получает от окружающей среды те же количества вещества и энергии, что и возвращает в нее, и, таким образом, концентрация их внутри системы остается неизменной. Это является одной из характерных черт живых объектов, которая отличает их от неживых изолированных систем, находящихся в независимом от времени равновесии. В таких неживых системах все количества вещества и энергии остаются неизменными и все процессы прекращаются.

Реакции живых систем протекают, таким образом, *во времени и пространстве*. В соответствии со степенью развития эти системы различаются степенью сложности структуры.

*Структуры живых объектов* обычно образуются из простых неорганических и органических веществ и обладают определенной пространственной *конфигурацией*, которая не отражается их простейшими химическими формулами. Эту особенность необходимо иметь в виду при рассмотрении реакционной способности, часто зависящей от конфигурации. Относительно простые соединения объединяются в макромолекулы и, наконец, в надмолекулярные структуры, лежащие в основе главных строительных блоков, из которых состоят живые системы, - клетки и их органеллы. Молекулы живых систем имеют определенные размеры и форму, связанные с их функциями в организмах.

Функционирование живых систем основано на *биохимических реакциях*, протекающих как в уже упомянутых клеточных и субклеточных структурах, так и в растворе цитоплазмы или в межклеточных жидкостях.

*Биохимические реакции* протекают в сравнительно узком интервале физических и химических параметров. Кроме ограничений в температурах и давлениях это относится также к интервалу концентраций, или активностей водородных ионов (*величины рН*). Значения рН поддерживаются на нужном уровне *буферными системами*, подчиняющимися *уравнению Гендерсона-Хассельбалха*. Относительное постоянство значений рН весьма существенно для того, чтобы предотвратить *диссоциацию* биологически активных соединений, поскольку в результате может произойти изменение формы и реакционной способности молекул белков и соответственно изменение их структурной стабильности или ферментативной активности. Некоторые биохимические реакции протекают с оптимальной скоростью лишь при определенном *осмотическом давлении и ионной силе* в среде, где сохраняется строго постоянным соотношение определенных ионов. Все эти факторы оказывают существенное влияние на свойства и функции молекул и степень дисперсности систем. В зависимости от природы раствора и размера растворенных частиц мы различаем истинные растворы, коллоидные растворы и суспензии.

Биохимические реакции могут протекать лишь при соблюдении определенных *энергетических требований*. *Первичным источником энергии* на нашей планете является излучение Солнца. Часть этой энергии запасается в форме *химической энергии* в химических связях различных веществ. В настоящее время на Земле существен-

но преобладают аэробные условия, и большую часть энергии живые системы получают за счет *окислительно-восстановительных процессов* (и в первую очередь за счет окисления органических соединений атмосферным кислородом). Протекающие в организмах реакции являются либо *экзергоническими* (они протекают спонтанно), либо *эндергоническими* (они требуют для своего осуществления внешний источник энергии). Многие из эндергонических реакций могут протекать лишь потому, что они *сопряжены* с экзергоническими реакциями. Наиболее распространенным переносчиком энергии является молекула *аденозинтрифосфата* (АТФ).

Биохимические реакции протекают *со скоростями*, зависящими *от концентраций* реагирующих молекул и *констант скоростей*, характерных для данного типа реакции. Эти скорости существенным образом могут быть изменены (обычно повышены) в присутствии *катализаторов* (ферментов). Вредные воздействия окружающей среды проявляются в первую очередь на ферментативном уровне, ингибируя соответствующие реакции.

Отдельные реакции в живых объектах *контролируются* самыми различными путями. Этот контроль осуществляется как за счет изменения пространственных факторов (изменения энтропии живых систем), так и за счет изменения скоростей реакций.

**Производные единиц СИ образуются следующим образом:**

**а) умножением на фактор  $10^3$**

Префикс	Символ	Множитель
экса	Э	$10^{18}$
пета	П	$10^{15}$
тера	Т	$10^{12}$
гига	Г	$10^9$
мега	М	$10^6$
кило	к	$10^3$
милли	м	$10^{-3}$
микро	мк	$10^{-6}$
нано	н	$10^{-9}$
пико	п	$10^{-12}$
фемто	ф	$10^{-15}$
атто	а	$10^{-18}$

**б) в особых случаях умножением на фактор  $10^1$**

Префикс	Символ	Множитель
гекто	г	$10^2$
дека	да	$10^1$
деци	д	$10^{-1}$
санتي	с	$10^{-2}$

#### **Соотношение внесистемных единиц длины и единиц СИ**

	м	А	фт	д
1 м				
метр (СИ)	1	$10^{10}$	3,2787	$3,94 \cdot 10$
1 А				
ангстрем	$10^{-10}$	1	$3,2787 \cdot 10^{-10}$	$3,94 \cdot 10^{-9}$
1 фт (ft)				
фут	0,305	$3,05 \cdot 10^3$	1	12
1 д (in)				
дюйм	$25,4 \cdot 10^{-3}$	$25,4 \cdot 10^{-7}$	$8,333 \cdot 10^{-2}$	1

#### **Соотношение внесистемных единиц массы и единиц СИ**

	кг	г	ун. аптеч.	ф
1 КГ				
килограмм (СИ)	1	$10^3$	32,2	2,2046
1 г				
грамм	$10^{-3}$	1	$3,22 \cdot 10^{-2}$	$2,2046 \cdot 10^{-3}$
1 ун. аптеч. (oz. apoth.)				
унция аптечная	$31,1035 \cdot 10^{-3}$	31,1035	1	$68,5715 \cdot 10^{-3}$
1 ф (lb)				
фунт	0,45359236	$4,5359 \cdot 10^2$	14,6	1

## **ОСНОВНЫЕ ЕДИНИЦЫ СИ**

Метр (м)  
 Килограмм (кг)  
 Секунда (с)  
 Ампер (А)  
 Кельвин (К)  
 Моль (моль)  
 Кандела (новая свеча) (кд)

СИ - международная система единиц (Système International d'Unités).

**Единицей длины является метр (м)**

Рекомендуемые производные: км, см, мм, мкм, нм.

**Единицей массы является килограмм (кг)**

Рекомендуемые производные: Мг, г, мг, мкг.

Вспомогательная единица: 1 тонна (т) =  $10^3$  кг.

**Соотношение внесистемных единиц времени и единиц СИ**

	с	мин	ч	сут
1 с секунда (СИ)	1	$1,6667 \cdot 10^{-2}$	$2,78 \cdot 10^{-4}$	$1,2 \cdot 10^{-5}$
1 мин минута	60	1	$1,667 \cdot 10^{-2}$	$6,94 \cdot 10^{-4}$
1 ч час	$3,6 \cdot 10^3$	60	1	$4,1667 \cdot 10^{-2}$
1 сут сутки	$8,64 \cdot 10^4$	$1,44 \cdot 10^3$	24	1

**Соотношение внесистемных единиц температуры и единиц СИ**

	К	°С	°F	°R	°Реомюра
1 К Кельвин (СИ)	1	1	$9/5$ (1,8)	$9/5$ (1,8)	$4/5$ (0,8)
1°С градус Цельсия	1	1	$9/5$ (1,8)	$9/5$ (1,8)	$4/5$ (0,8)
1°F градус Фаренгейта	$5/9$ (0,555)	$5/9$ (0,555)	1	1	$4/9$ (0,444)
1°R градус Ренкина	$5/9$ (0,555)	$5/9$ (0,555)	1	1	$4/9$ (0,444)
1°R градус Реомюра	$5/4$ (1,25)	$5/4$ (1,25)	$9/4$ (2,25)	$9/4$ (2,25)	1

**Соотношение внесистемных единиц объема и единиц СИ**

	м <sup>3</sup>	л	брл	гал	пт	ун
1 м <sup>3</sup> кубический метр (СИ)	1	10 <sup>3</sup>	8,64842	$2,6417 \cdot 10^2$	$1,7597 \cdot 10^3$	$3,5195 \cdot 10^4$
1 л литр	10 <sup>-3</sup>	1	$8,64842 \cdot 10^{-3}$	0,26417	1,7597	35,195
1 брл (bbl) сухой баррел (амер.)	0,115628	$1,15628 \cdot 10^2$	1	30,454	$2,03477 \cdot 10^2$	$4,0695 \cdot 10^3$
1 гал (gal) галлон (амер.)	$3,78543 \cdot 10^{-3}$	3,78543	$3,2738 \cdot 10^{-2}$	1	6,661428	$1,33288 \cdot 10^2$
1 пт (lq. pt) (англ.) пинта жидкости (англ.)	$5,68261 \cdot 10^{-4}$	0,568261	$4,915 \cdot 10^{-3}$	0,150118	1	20,00
1 ун (fl. oz.) (англ.) унция жидкости	$2,8413 \cdot 10^{-5}$	$2,8413 \cdot 10^{-2}$	$2,45727 \cdot 10^{-4}$	$7,50588 \cdot 10^{-3}$	$5,00 \cdot 10^{-2}$	1

**Единицей времени является секунда (с)**

Рекомендуемые производные: мс, мкс, нс  
Вспомогательные единицы: минута (мин), час (ч),  
сутки (сут).

**Единицей термодинамической температуры является кельвин (К)**

Рекомендуемое производное: МК.  
Вспомогательная единица: градус Цельсия (°С).

**НЕКОТОРЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ ЕДИНИЦ СИ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В КНИГЕ****Единицей объема является кубический метр (м<sup>3</sup>)**

Рекомендуемые производные: дм<sup>3</sup>, см<sup>3</sup>, мм<sup>3</sup>,  
Вспомогательная единица: литр (л).



**Соотношение внесистемных единиц давления и единиц СИ**

**Единицей давления является паскаль (Па)**

Рекомендуемые производные: ГПа, МПа, мПа, мкПа

	Па	атм	торр	мм Hg	мм H <sub>2</sub> O	бар	Н/мм <sup>2</sup>	1 ф/кв. дюйм
1 Па паскаль (СИ)	1	$1,02 \cdot 10^{-5}$	$7,5 \cdot 10^{-3}$	$7,5 \cdot 10^{-3}$	$1,02 \cdot 10^{-1}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$14,504 \cdot 10^{-6}$
1 атм физическая атмосфера	$1,01 \cdot 10^5$	1	760	760	$10^4$	1,013	$9,81 \cdot 10^{-2}$	14,2233
1 торр торр	133,3	$1,36 \cdot 10^{-3}$	1	1	13,6	$1,333 \cdot 10^{-3}$	$1,333 \cdot 10^4$	$1,93 \cdot 10^2$
1 мм Hg мм ртутного столба	133,3	$1,36 \cdot 10^{-3}$	1	1	13,6	$1,333 \cdot 10^{-3}$	$1,333 \cdot 10^4$	$1,93 \cdot 10^2$
1 мм H <sub>2</sub> O мм водяного столба	9,81	$10^{-4}$	$7,36 \cdot 10^{-2}$	$736 \cdot 10^{-2}$	1	$9,81 \cdot 10^{-5}$	$9,81 \cdot 10^6$	$1,422 \cdot 10^3$
1 бар бар	$10^5$	1,02	750	750	$1,02 \cdot 10^4$	1	0,1	14,504
1 Н/мм <sup>2</sup> ньютон на мм <sup>2</sup>	$10^6$	10,2	$7,5 \cdot 10^3$	$7,5 \cdot 10^3$	$1,02 \cdot 10^5$	10	1	145,04
1 ф/кв. дюйм фунт-сила на квадратный дюйм	$6,895 \cdot 10^3$	$7,03 \cdot 10^{-2}$	51,74	51,74	$7,03 \cdot 10^2$	$6,89 \cdot 10^2$	$6,895 \cdot 10^{-3}$	1

**Соотношение внесистемных единиц энергии, работы и теплоты и единиц СИ**

**Единицей энергии (работы, теплоты) является джоуль (Дж)**

Рекомендуемые производные; ТДж, ГДж, МДж, кДж, мДж

Вспомогательная единица: электронвольт (эВ).

	Дж	эВ	1 вт-с	кгс·м	ккал	эрг	фт-д
1 Дж джоуль (СИ)	1	$6,242 \cdot 10^{18}$	1	0,101972	$2,388 \cdot 10^{-4}$	$10^7$	8,86
1 эВ электронвольт	$1,6021 \cdot 10^{-19}$	1	$1,6021 \cdot 10^{-19}$	$1,63 \cdot 10^{-20}$	$3,827 \cdot 10^{-23}$	$1,602 \cdot 10^{-12}$	17
1 вт-с ватт-секунда	1	$6,242 \cdot 10^{18}$	1	0,101972	$2,388 \cdot 10^{-4}$	$10^7$	8,86
1 кгс. м килограмм-сила-метр	9,81	$61,234 \cdot 10^{18}$	9,81	1	$2,34 \cdot 10^{-3}$	$9,81 \cdot 10^7$	86,96
1 ккал килокалория	$4,1868 \cdot 10^3$	$2,6133 \cdot 10^{22}$	$4,1868 \cdot 10^3$	427	1	$4,1868 \cdot 10^{10}$	37130
1 эрг эрг	$10^{-7}$	$6,242 \cdot 10^{11}$	$10^{-7}$	$1,0197 \cdot 10^{-8}$	$2,388 \cdot 10^{-11}$	1	$8,86 \cdot 10^7$
1 фт-д (lbf·in) фунт-сила на дюйм	$11,2815 \cdot 10^{-2}$	$7,042 \cdot 10^{17}$	$11,2815 \cdot 10^{-2}$	$1,15 \cdot 10^{-2}$	$2,7 \cdot 10^{-5}$	$11,2815 \cdot 10^5$	1

## Свойства дисперсных систем

	Дисперсии		
	аналитические	коллоидные	грубые
Размер частиц	1 нм	1—10 <sup>3</sup> нм	10 <sup>3</sup> нм
Движение частиц	Очень быстрое тепловое движение	Очень быстрое броуновское движение	Медленное броуновское движение
Способность к фильтрации	—	Коллоидная мембрана	Бумажный фильтр
Диффузия	Быстрая	Медленная	—
Осмотическое давление	Высокое	Низкое	—
Способ наблюдения	—	Ультрамикроскоп, электронный микроскоп	Визуальный, оптический микроскоп

### Различные способы выражения концентрации

Миллиграмм-процент (мг-%)

Количество вещества (в мг) в 100 г раствора

Миллионная доля (млн<sup>-1</sup>, ppm)

1 млн<sup>-1</sup>—10<sup>-4</sup>%, т.е. 0,0001%

1 млн<sup>-1</sup>—0,1 мг-% (раствора)

1 млн<sup>-1</sup>—1 мкг/мл—1 мг/л

Для выражения концентрации, если неизвестна молекулярная масса вещества, лучше всего использовать процентную концентрацию.

Массовый процент (масс.%)

w/w— количество вещества в граммах в 100 г раствора

w/v— количество вещества в граммах в 100 мл раствора

Объемный процент (об.%)

v/v— количество вещества в миллилитрах в 100 мл раствора

$$\text{Молярная концентрация} = \frac{n_2}{V} 1000 = \frac{g_2/M_2}{V} 1000$$

$n_2$ — число молей растворенного вещества в  $V$  мл раствора

$g_2$ — масса растворенного вещества в граммах

$M_2$ — масса вещества, численно равная его молекулярной массе

$$\text{Нормальная концентрация} = \frac{r_2}{V} 1000 = \frac{g_2 v/M_2}{V} 1000$$

$r_2$ — число грамм-эквивалентов растворенного вещества в  $V$  мл раствора

$v$ — фактор, связывающий число молей и число грамм-эквивалентов вещества; он численно равен обратной величине основности (атомности) кислоты (основания), числу электронов, передаваемых или акцептируемых одной молекулой при окислительно-восстановительных процессах либо формальной валентности простых ионов

$$\text{Моляльная концентрация} = \frac{n_2}{g_1} 100 = \frac{g_2/M_2}{g_1} 1000$$

$n_2$ — число молей растворенного вещества в  $g_1$  г растворителя

## ДИСПЕРСНЫЕ СИСТЕМЫ

Дисперсные системы состоят из непрерывной дисперсионной среды (жидкой, газообразной или твердой) и диспергированных частиц, так называемой дисперсной фазы. Эти частицы обычно являются твердыми, однако могут быть также и жидкими, и газообразными.

Диспергированные частицы могут представлять собой отдельные молекулы (ионы) или их агрегаты. Соответственно они образуют молекулярные дисперсии (истинные растворы, аналитические дисперсии), коллоидные дисперсии и грубые дисперсии.

Дисперсные системы разделяются на монодисперсные и полидисперсные. Первые из них характеризуются одинаковым размером, формой и физико-химическими свойствами диспергированных частиц. Полидисперсные системы характеризуются различием диспергированных частиц по этим параметрам. Типичным примером полидисперсной системы является клетка.

### ЕДИНИЦЫ КОНЦЕНТРАЦИЙ В СИ

Основные единицы	Производные единицы	
моль/л	ммоль/л, мкмоль/л, нмоль/л	молярная концентрация
моль/кг	ммоль/кг, мкмоль/кг, нмоль/кг	моляльная концентрация
моль/моль	ммоль/моль, мкмоль/моль, нмоль/моль	молярная доля
кг/л	г/л, мг/л, мкг/л, нг/л	массовая концентрация
кг/кг	г/кг, мг/кг, мкг/кг, нг/кг	массовое отношение
л/л	мл/л, мкл/л	объемное отношение

### Молярный (1 М) раствор (моль/л)

содержит 1 моль растворенного вещества в 1 л раствора

### Нормальный (1 н) раствор (г-экв./л)

содержит 1 г-экв. растворенного вещества в 1 л раствора

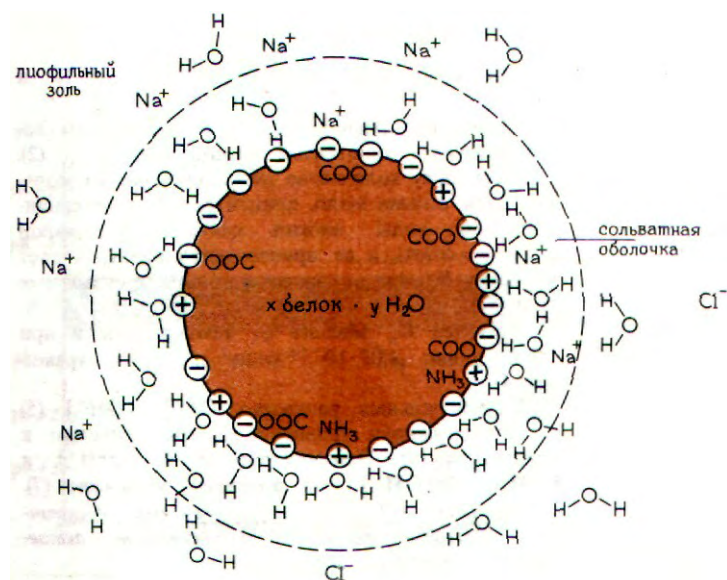
### Моляльный (1 Мл) раствор (моль/кг)

содержит 1 моль растворенного вещества в 1 кг растворителя

## Типы грубых и коллоидных дисперсий

Дисперсионные среды		Диспергированные частицы		
		газообразные	жидкие	твердые
Газообразные	Грубые	—	Дождь, туман	Дым, пыль
	Коллоидные	—	Аэрозоль	Аэрозоль
Жидкие	Грубые	Пена	Эмульсия	Суспензия
	Коллоидные	Пена	Эмульсия	Лиозоль (золь)
Твердые	Грубые	Твердые пены	Включения	Смеси твердых веществ
	Коллоидные	Твердые пены	—	Твердые золи

Лиофобные золи	Лиофильные золи
Обычно неорганические вещества	Обычно органические вещества, макромолекулы
Вязкость сравнима с вязкостью дисперсионной жидкости	Вязкость много больше, чем у дисперсионной жидкости
Ясно различимы в ультрамикроскопе	Плохо различимы в ультрамикроскопе
Электрофоретическая подвижность - характеристический параметр	Электрофоретическая подвижность зависит от pH; изменение pH может вызвать перемену направления движения
Коагуляция под действием электролитов	Обратимое высаливание избытком электролитов
Стабильность зависит от размера частиц	Стабильность зависит от природы сольватной оболочки



## СВОЙСТВА ЛИОФИЛЬНЫХ И ЛИОФОБНЫХ ЗОЛЕЙ

Среди коллоидных дисперсий особое значение в биохимии имеют гидрозоли (коллоидные дисперсии твердых частиц в воде). В соответствии со своими свойствами золи делятся на гидрофильные и гидрофобные.

Большая часть не связанных с мембранами белковых молекул образует лиофильные золи как *in vivo*, так и *in vitro* (таковы, например, растворы белков сыворотки крови, белков цитоплазмы клетки после удаления органелл).

Живые системы обычно стремятся превратить лиофобные золи в лиофильные, которые более растворимы в водных средах. Примером является образование молекул липопротеинов, в которых липидные гидрофобные ядра окружены пептидными цепями.

## ЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ ЗАРЯДЫ КОЛЛОИДОВ, ОБРАЗОВАНИЕ МИЦЕЛЛ, КОАГУЛЯЦИЯ, ВЫСАЛИВАНИЕ

При контакте с жидкой фазой поверхность диспергированных частиц приобретает, как правило, электрический заряд. Этот заряд возникает в результате адсорбции ионов из жидкой фазы или электролитической диссоциации поверхностного слоя дисперсной фазы. Оба этих процесса зависят от площади поверхности частиц и поэтому результирующий электрический заряд особенно существен для мелкодисперсных коллоидных частиц. Они способны электростатически связывать ионы из раствора или адсорбировать молекулы растворителя (сольватироваться), образуя так называемые мицеллы.

Мицеллы лиофобных золей приобретают заряд чаще всего в результате адсорбции ионов из раствора. При добавлении растворов электролитов происходит осаждение лиофобных золей из раствора. Это связано с тем, что заряженные коллоидные частицы адсорбируют ионы противоположного заряда. В результате частицы теряют свои заряды и электростатическое отталкивание, поддерживающее стабильность лиофобных золей, исчезает. Таким образом происходит необратимое осаждение (коагуляция) золя. Примером такого процесса может служить коагуляция липопротеинов под действием гепарина в присутствии ионов  $\text{Ca}^{2+}$ .

Мицеллы лиофильных золей приобретают заряды в результате диссоциации ионогенных поверхностных участков. Их сольватная оболочка состоит из слоев ориентированных молекул растворителя, образующих так называемую сольватную оболочку. Эта оболочка стабилизирует частицы золя, препятствуя его агрегации. При добавлении небольших количеств нейтральных солей происходит разрушение сольватной оболочки. Освобожденные от стабилизирующей оболочки коллоидные частицы агрегируют и выпадают из раствора; происходит их высаливание. Однако эффект высаливания является обратимым и при разбавлении раствора или удалении добавленного электролита диализом коллоидные частицы вновь переходят в раствор.

$$1. a = f_i \cdot c_i$$

$f_i$  - коэффициент активности; его значение определяется концентрациями и зарядами всех ионных частиц раствора

$$2. -\lg f_i = k \sqrt{\mu}$$

$k$  - константа,  $\mu$  - ионная сила

$$3. \mu = \frac{1}{2} \sum (c_i z_i^2 + c_2 z_2^2 + c_3 z_3^2 + \dots + c_i z_i^2) = \frac{1}{2} \sum c_i z_i^2$$

$c_i$  - молярная концентрация данной ионной частицы,

$z_i$  - число ее элементарных зарядов

$$\alpha = \sqrt{K_a \cdot v}$$

$$v = 1/c$$

$v$  - разбавление,  $K_a$  - константа диссоциации

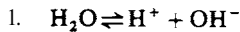
Степень диссоциации указывает на то, какая часть электролита диссоциирована на ионы в условиях равновесия.



$$K_a = \frac{[A^+][B^-]}{[AB]}$$

$[A^+]$ ,  $[B^-]$  - равновесные концентрации ионов (в г-ион/л)

$[AB]$  - равновесная концентрация недиссоциированного вещества (в моль/л)



$$K_{H_2O} = \frac{[H^+][OH^-]}{[H_2O]}$$

$$[H_2O] \cdot K_{H_2O} = [H^+][OH^-]$$

$$3. K_w = [H^+][OH^-]$$

$$4. [H^+][OH^-] = 10^{-14}$$

$$5. [H^+] = [OH^-] = 10^{-7}$$

$$6. -\lg[H^+] = -\lg[OH^-] = -\lg 10^{-7}$$

$$7. pH = pOH = 7$$

$$pH = -\lg[H^+]$$

## АКТИВНОСТЬ

### И ИОННАЯ СИЛА РАСТВОРОВ

Различие в свойствах концентрированных и разбавленных растворов электролитов связано главным образом со значительным электростатическим взаимодействием ионов в концентрированных растворах. В связи с этим вместо понятия концентрация используется понятие активности. Активность  $i$ -й ионной частицы  $a$  связана с ее концентрацией  $c$ , уравнением 1.

Активность является мерой концентрации с учетом электростатических межйонных взаимодействий.

Связь концентраций ионов и зарядов ионов со значением коэффициента активности ионной частицы  $f_i$  выражается уравнением 2. При этом многозарядные ионы оказывают более сильное влияние на значение  $f_i$ , чем однозарядные. Степень этого влияния выражается *ионной силой раствора* согласно уравнению 3.

### СИЛЬНЫЕ И СЛАБЫЕ ЭЛЕКТРОЛИТЫ, КОНСТАНТА ДИССОЦИИАЦИИ, СТЕПЕНЬ ДИССОЦИИАЦИИ

В водных растворах лишь небольшая доля слабого электролита диссоциирована на ионы, большая же часть молекул находится в недиссоциированной форме. Количественной мерой диссоциации такого электролита в растворе является степень его диссоциации  $\alpha$ .

Равновесие, существующее между недиссоциированными и диссоциированными ионами, называется ионным равновесием.

Положение равновесия характеризуется константой равновесия, которая в этом случае называется константой диссоциации ( $K_a$ ).

### ДИССОЦИИАЦИЯ ВОДЫ, pH

Молекулы воды диссоциируют на ионы  $H^+$  и  $OH^-$  (1).

Положение равновесия диссоциации воды характеризуется константой диссоциации  $K_{H_2O}$  (2).

Поскольку количество диссоциированных молекул воды весьма мало, концентрацию недиссоциированной воды можно считать постоянной ( $[H_2O] = \text{const}$ ), а ее произведение на  $K_{H_2O}$  дает величину  $K_w$ , так называемое ионное произведение воды (3).

Значение  $K_w$  зависит от температуры и при 25°C равно  $1,02 \cdot 10^{-14}$  моль<sup>2</sup>·л<sup>-2</sup> (ср. уравнение 4).

В нейтральных растворах  $[H^+] = [OH^-]$ . (5)

Логарифмируя уравнение 5, мы приходим к уравнению (6). Приняв, что  $pH = -\lg[H^+]$ , а  $pOH = -\lg[OH^-]$ , мы получаем уравнение (7).

Значение *pH* - это отрицательный десятичный логарифм молярной концентрации (активности) водородных ионов.

Среда	pH	[H <sup>+</sup> ]	pH	[H <sup>+</sup> ]	Изменение [H <sup>+</sup> ], % (за 100% принято физиологическое значение pH, равное 7,4)
кислая	0	10	6,7	2,0 · 10 <sup>-7</sup>	512
	1	10 <sup>-1</sup>	6,8	1,5 · 10 <sup>-7</sup>	384
	2	10 <sup>-2</sup>	6,9	1,2 · 10 <sup>-7</sup>	307
	3	10 <sup>-3</sup>	7,0	1,0 · 10 <sup>-7</sup>	250
	4	10 <sup>-4</sup>	7,1	7,9 · 10 <sup>-8</sup>	200
	5	10 <sup>-5</sup>	7,2	6,3 · 10 <sup>-8</sup>	160
нейтральная	6	10 <sup>-6</sup>	7,3	5,0 · 10 <sup>-8</sup>	128
	7	10 <sup>-7</sup>	7,4	3,9 · 10 <sup>-8</sup>	100
	8	10 <sup>-8</sup>	7,5	3,1 · 10 <sup>-8</sup>	79
щелочная	9	10 <sup>-9</sup>	7,6	2,5 · 10 <sup>-8</sup>	64
	10	10 <sup>-10</sup>	7,7	2,0 · 10 <sup>-8</sup>	51
	11	10 <sup>-11</sup>			
	12	10 <sup>-12</sup>			
	13	10 <sup>-13</sup>			
	14	10 <sup>-14</sup>			

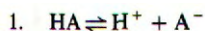
## СВЯЗЬ ЗНАЧЕНИЙ pH С КОНЦЕНТРАЦИЕЙ ВОДОРОДНЫХ ИОНОВ

Мерой кислотности является концентрация водородных ионов.

В кислых растворах [H<sup>+</sup>] больше, чем 10<sup>-7</sup>, и, таким образом, pH меньше 7.

В щелочных растворах [H<sup>+</sup>] меньше, чем 10<sup>-7</sup>, и pH больше 7.

Изменение pH на единицу означает 10-кратное изменение концентрации водородных ионов.



2. 
$$K_a = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]}$$

3. 
$$pH = pK_a + \lg \frac{[A^-]}{[HA]}$$

4. 
$$pH = pK_w - \left( pK_b + \lg \frac{[BOH]}{[B^+]} \right)$$

## УРАВНЕНИЕ ГЕНДЕРСОНА-ХАССЕЛЬБАЛХА, БУФЕРЫ

Диссоциация слабых кислот - уравнение (1).

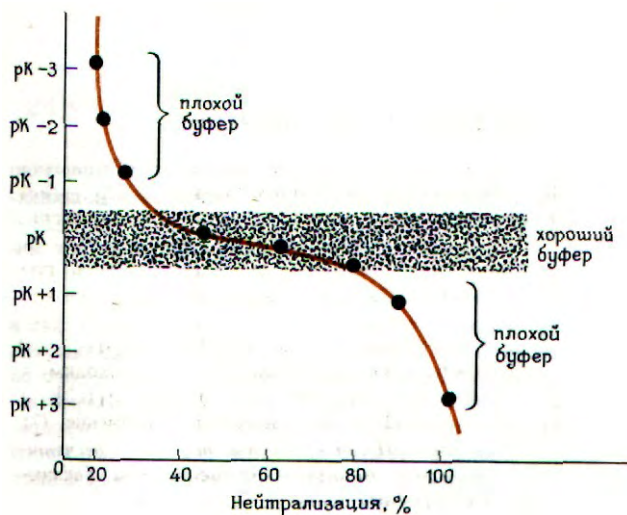
Константа равновесия диссоциации  $K_a$  - уравнение (2).

Его логарифмирование приводит к выражению (3), которое называется уравнением Гендерсона-Хассельбалха.

Аналогичное уравнение (4) может быть выведено и для щелочных растворов ( $K_b$  - константа равновесия диссоциации оснований).

*Буферы* - растворы смеси слабой кислоты и ее соли, поддерживающие постоянное значение концентрации H<sup>+</sup> (pH) в растворе.

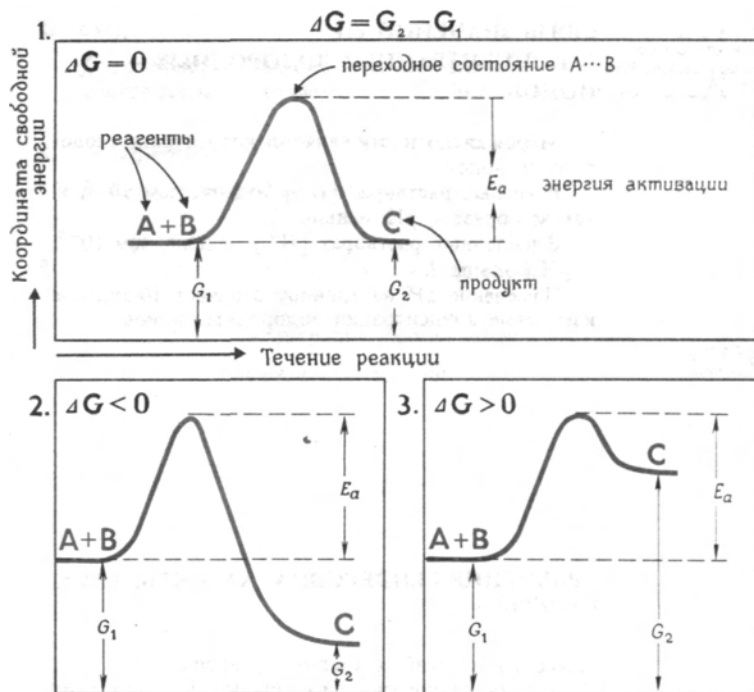
*Буферная емкость* определяется изменением pH при добавлении сильных кислот или оснований к буферному раствору. Эта емкость возрастает с увеличением концентрации буфера. Максимальная буферная емкость достигается при соотношении соль/кислота, равном 1.



Процент нейтрализации	$\frac{[A^-]}{[HA]}$	$\lg \frac{[A^-]}{[HA]}$	pH
1	1/99 = 0,01	-2	pK - 2
10	10/90 = 0,1	-1	pK - 1
50	50/50 = 1	0	pK
90	90/10 = 10	1	pK + 1
99	99/1 = 100	2	pK + 2



## СВОБОДНАЯ ЭНЕРГИЯ И ЕЕ ИЗМЕНЕНИЕ



Свободная энергия ( $G$ ) определяется уравнением  $G = H - TS$ , где  $H$  - энтальпия,  $T$  - абсолютная температура и  $S$  - энтропия.

Свободная энергия - это та часть потенциальной энергии реагирующих веществ, которая может быть использована для осуществления полезной работы. Изменение свободной энергии  $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$ ; эта величина служит критерием спонтанного протекания химических реакций. Реакции могут протекать спонтанно только в том случае, если свободная энергия уменьшается, т.е.  $\Delta G < 0$  (экзергонические реакции).

Если свободная энергия возрастает, то реакция требует дополнительного источника энергии,  $\Delta G > 0$  (эндергонические реакции). В случае равновесных реакций изменение свободной энергии близко к нулю,  $\Delta G = 0$ .

1. Равновесные реакции ( $\Delta G = 0$ )
  2. Экзергонические реакции ( $\Delta G < 0$ )
  3. Эндергонические реакции ( $\Delta G > 0$ )
- ( $E_a$  - энергия активации)

## НЕКОТОРЫЕ СПОСОБЫ ВЫЧИСЛЕНИЯ ИЗМЕНЕНИЯ СТАНДАРТНОЙ СВОБОДНОЙ ЭНЕРГИИ ( $\Delta G^\circ$ )

$\Delta G^\circ$  означает изменение свободной энергии системы в условиях, когда как реагирующие вещества, так и продукты реакции находятся в стандартных условиях [молярная концентрация,  $T = 298 \text{ K}$ , т.е.  $25^\circ\text{C}$ ,  $p\text{H} = 0$ ; для газообразных систем  $p = 98,1 \text{ кПа}$  (1 атм)].

$\Delta G^\circ$  можно найти:

1. Из констант равновесия  $K_{\text{равн}}$
2. Из окислительно-восстановительных потенциалов ( $E_{\text{восст/ок}}$ )
3. Из табличных значений энтальпии ( $\Delta H$ ) и энтропии ( $\Delta S$ ).
4. Из разности между  $G^\circ$  реагирующих веществ и  $G^\circ$  продуктов реакции

## ЭНТРОПИЯ И ЕЕ ИЗМЕНЕНИЕ

Общей тенденцией всех необратимых спонтанно протекающих и термически изолированных процессов является:

стремление гиббсовой свободной энергии к минимуму;

стремление энтропии к максимуму.

Переход от живых к неживым системам связан с ростом энтропии. Образование биологических структур (возрастание упорядоченности) связано со снижением энтропии. Энтропия является мерой вероятности данного состояния ( $S = k \ln T$ ). Неупорядоченные состояния являются, как правило, много более вероятными, чем упорядоченные, и обладают поэтому более высокой энтропией.

$$1. \Delta G^\circ = -RT \ln K_{\text{равн}}$$

$$2. \Delta G^\circ = -nFE_{\text{восст/ок}}$$

$$3. \Delta G^\circ = \Delta H^\circ - T\Delta S^\circ$$

$$4. \Delta G^\circ = \sum G^\circ_{\text{продукты}} - \sum G^\circ_{\text{реагенты}}$$

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

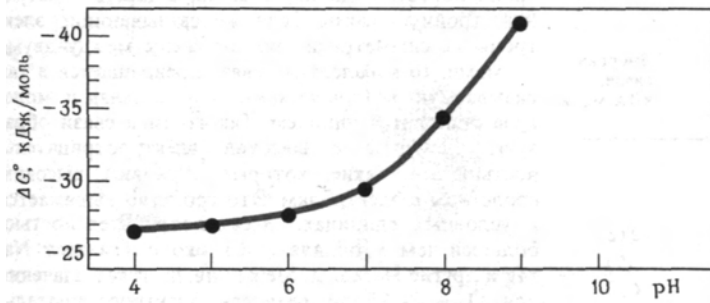
$\Delta H$  - изменение энтальпии (теплосодержания)

$\Delta G$  - изменение свободной энергии

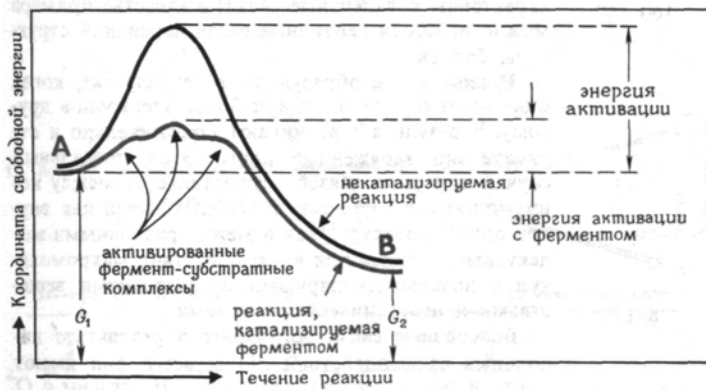
$\Delta S$  - изменение энтропии

$T$  - абсолютная температура

### ЗАВИСИМОСТЬ ИЗМЕНЕНИЯ СВОБОДНОЙ ЭНЕРГИИ ОТ pH



Равновесия многих биологических процессов зависят от pH. Следовательно, изменение свободной энергии этих процессов также зависит от pH.  $\Delta G^\circ$  соответствует стандартной свободной энергии при pH 0. Поскольку такое значение pH не является физиологическим, величиной, применяемой в биохимии, является  $\Delta G''$  - изменение стандартной свободной энергии при pH 7.

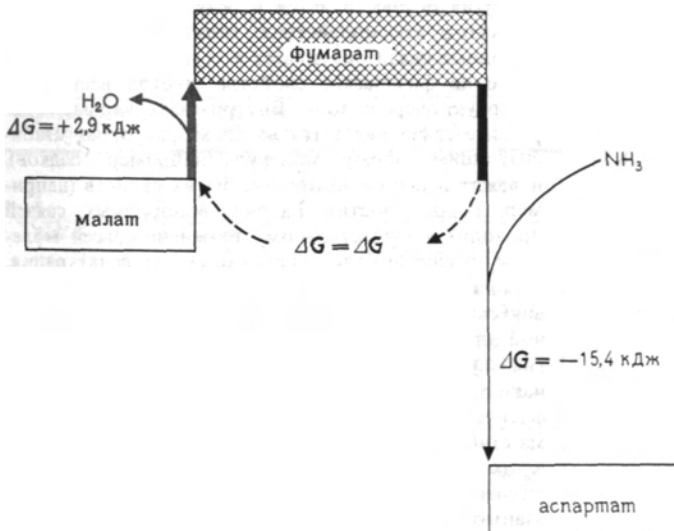


### ЭНЕРГИЯ АКТИВАЦИИ

Энергия, необходимая для осуществления эффективного столкновения молекул, приводящего к химической реакции, называется энергией активации.

Энергия активации определяется как минимальная величина энергии, которой должна обладать молекула для вступления в реакцию. В графическом изображении энергия активации есть высота энергетического барьера, которая должна быть преодолена для осуществления химической реакции. Действие катализаторов заключается в снижении энергии активации.

A - реагент, B - продукт реакции.

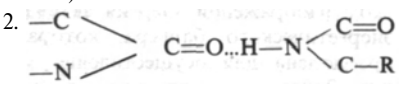
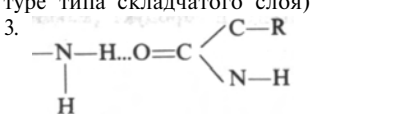
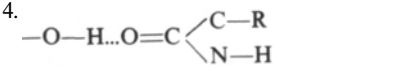


### СОПРЯЖЕННЫЕ РЕАКЦИИ

Эндергонические реакции, которые сопровождаются повышением свободной энергии и не протекают спонтанно, могут быть осуществлены при их сопряжении с экзергоническими реакциями. Для такого сопряжения необходимо, чтобы обе реакции имели какое-либо общее промежуточное соединение.

Пример: превращение малата в фумарат является эндергонической реакцией и требует затраты энергии (2,5 кДж/моль). Эта энергия поставляется сопряженной реакцией превращения фумарата в аспартам, при которой выделяется энергия (— 15,4 кДж/моль).

## ТИПЫ СВЯЗЕЙ В БИОЛОГИЧЕСКИ ВАЖНЫХ МОЛЕКУЛАХ

Тип связи	Примеры	Энергия связи, кДж/моль
Ковалентная	Межатомные связи в органических веществах $\text{CH}_4$ $\text{C}-\text{H}$ $\text{C}_2\text{H}_6$ $\text{C}-\text{C}$ $\text{C}_2\text{H}_4$ $\text{C}=\text{C}$ $\text{R}_1\text{COR}_2$ $\text{C}=\text{O}$ $\text{RCH}_2\text{NH}_2$ $\text{C}-\text{N}$	414 350 610 720 305
	Первичная структура макромолекул Внутри- и межмолекулярные —S—S-связи (мостики)	146-880 210
Ионная	Фермент—кофермент Фермент—субстрат Антиген—антитело	160-460
Водородная	Конформация молекул белков: 1. —C=O...H—N— (межмолекулярные связи между группами, участвующими в образовании пептидных связей)	8-12
	2. 	8-12
	(между пептидными связями в структуре типа складчатого слоя)	
	3. 	8-12
(между аминогруппами Lys и Arg и карбонилем пептидной связи)		
4. 	25	
(между гидроксилом Thr, Ser, Thr и карбонилем пептидной связи)		
Гидрофобные взаимодействия	Третичная и четвертичная структуры белков, связи между цепями жирных кислот в мембранах. Связи при образовании и функционировании аллостерических ферментов	4-8,5

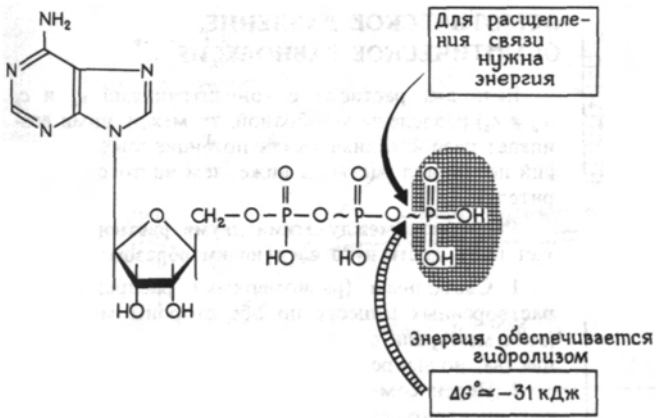
**Ковалентная** (химическая) связь образуется электронами, общими для двух атомов. Два общих электрона образуют одинарную связь, четыре электрона образуют двойную связь, а шесть электронов - тройную связь. Если же связывающие электроны не симметрично расположены между двумя атомами, то ковалентная связь превращается в так называемую *полярную ковалентную связь* и молекула становится диполем. Такого типа связи образуют элементы с высокой электроотрицательностью, т.е. такие, которые обладают высоким сродством к электронам. Это сродство выражается в условных единицах. Электроотрицательностью, большей чем 3, обладают Cl, около 1 имеют Na, Mg и другие металлы. Между ними лежат значения для O и N. Если разность электроотрицательностей двух элементов, образующих связь, не превышает 1,7, то связь имеет полярный ковалентный характер. При больших значениях этой разности связи становятся *ионными*. Все связи могут рассматриваться как ковалентные, поскольку неполярные и ионные связи являются лишь крайними случаями полярных. Для органических соединений характерны ковалентные связи; в качестве примера можно привести пептидные связи первичной структуры белков.

**Ионные связи** образуются в тех случаях, когда один атом отдает один или более электронов другому. В результате возникают положительно и отрицательно заряженные ионы. Этот предельный случай полярных связей осуществляется между ионизирующимися группами пептидных цепей как внутри одной молекулы, так и между различными молекулами, а также при взаимодействии макромолекул с низкомолекулярными органическими веществами и неорганическими ионами.

**Водородные связи** возникают в результате дипольных взаимодействий. Чаще всего они имеют место в тех молекулах, где атомы Н связаны с O, N или галогенами, особенно F. Высокая электроотрицательность этих элементов и малый объем атома Н, образующего положительный конец диполя, приводят к исключительно высокой полярности этой связи. При этом водород в форме  $\text{H}^+$  сильно притягивается заряженной группой другой полярной молекулы. Таким образом, одна связь является сильно полярной ковалентной связью, а другая осуществляется в результате электростатического взаимодействия. Межмолекулярные водородные связи оказывают весьма сильное воздействие на физические свойства многих веществ, и в первую очередь воды. Внутримолекулярные водородные связи являются важным фактором, стабилизирующим форму молекул (например, белков), и лежат в основе некоторых из их свойств (например, сократимости). Разрыв водородных связей приводит к существенному изменению всей молекулы - в случае белков происходит их денатурация.

**Гидрофобные связи** (гидрофобные взаимодействия) связывают неполярные (гидрофобные) части одной или разных молекул в водных растворах. Энергия каждого такого взаимодействия весьма мала, однако взаимодействие большого числа длинных алифатических цепей приводит к возникновению весьма стабильных систем. Существование таких связей и их сила определяются изменением энтропии (степени упорядоченности) системы. Гидрофобные взаимодействия играют важную роль в стабилизации конформаций биополимеров и в образовании структур биологических мембран.





## МАКРОЭРГИЧЕСКИЕ СВЯЗИ

Макроэргическими связями в живых системах называются такие ковалентные связи, которые гидролизуются с выделением значительной энергии - 30 кДж/моль и более (свободная энергия гидролиза). Термин «макроэргические связи» используется исключительно для связей, энергия которых используется в метаболизме, и не указывает на истинную величину энергии связей. Как известно, энергия связей всегда положительна, другими словами, разрыв любой связи (в том числе и макроэргической) требует всегда затраты энергии.

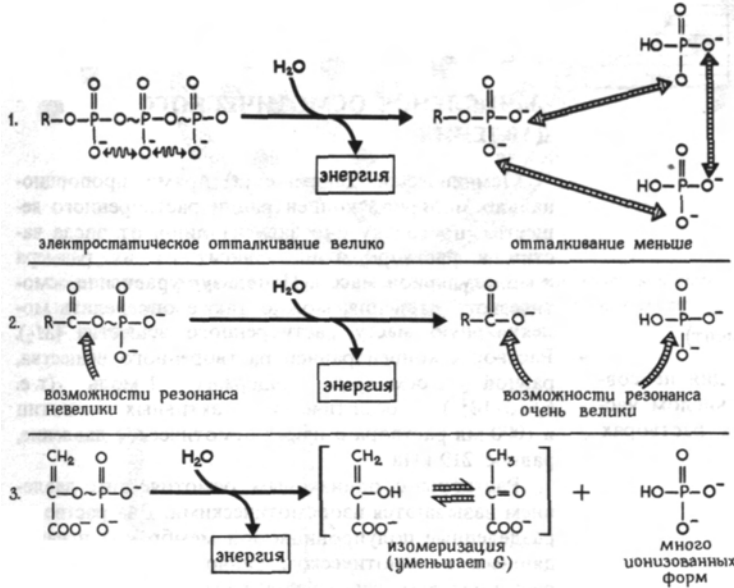
## ФАКТОРЫ, ОБУСЛОВЛИВАЮЩИЕ ЗНАЧИТЕЛЬНОЕ ИЗМЕНЕНИЕ СВОБОДНОЙ ЭНЕРГИИ ГИДРОЛИЗА

Следующие факторы оказывают существенное влияние на свободную энергию гидролиза:

1. Электростатическое отталкивание отрицательно заряженных групп сопровождается выделением энергии.

2. Продукты гидролиза термодинамически более стабильны (т.е. имеют меньшую свободную энергию), чем исходные вещества благодаря большей энергии резонанса.

3. На свободную энергию гидролиза макроэргических веществ оказывают влияние ионизация, изомеризация и нейтрализация групп, образующихся при гидролизе.



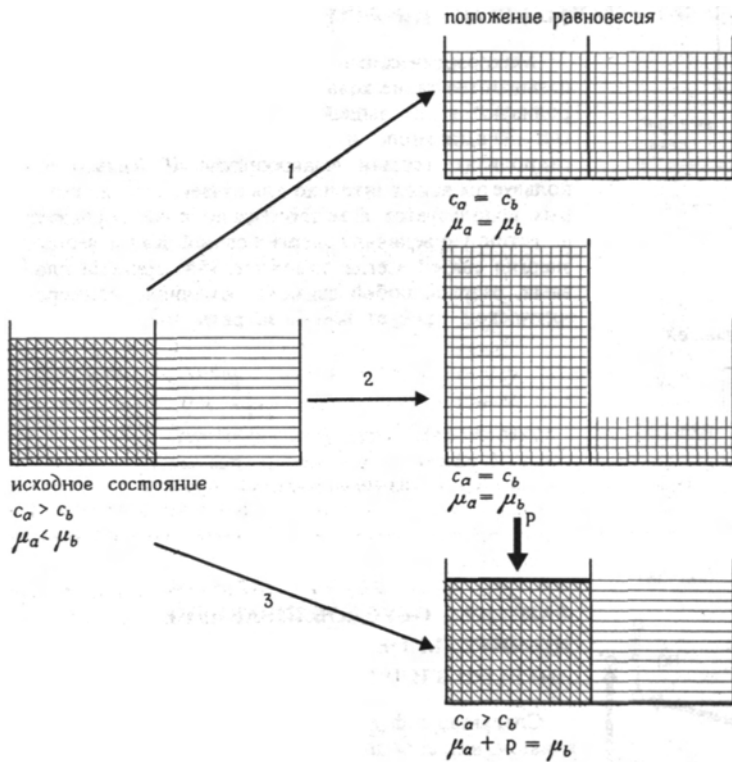
Характерная группа	Общая формула	Тип соединения
$\begin{array}{c} \parallel \\ -C-O\sim \\   \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{CH}_2 \\ \parallel \\ R-C-O\sim(P) \end{array}$	Енолфосфаты
	$\begin{array}{c} \parallel \\ R-C-O\sim(P) \end{array}$	Ацилфосфаты
$\begin{array}{c} \parallel \\ -C-N\sim \\   \\ H \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{NH} \\ \parallel \\ R-C-N\sim(P) \end{array}$	Гуанидиний фосфаты
$\begin{array}{c} \parallel \\ -C\sim \end{array}$	$R_1-C\sim S-R_2$	Ацилтиозефирь
$\begin{array}{c} \parallel \\ -P-O\sim \\   \\ O^- \end{array}$	$R-O-P(=O)(O^-)-O\sim(P)$	Пирофосфаты

## НЕКОТОРЫЕ ВЕЩЕСТВА, ДЛЯ КОТОРЫХ ХАРАКТЕРНА ВЫСОКАЯ ЭНЕРГИЯ ГИДРОЛИЗА

Вещества

$G^\circ$ , кДж/моль;  
25°C, pH 7,0

Креатинфосфат	42,70
Аргининфосфат	29,30
Фосфоенолпируват	54,05
Ацетилфосфат	43,90
ATP → ADP + P	32,23
ATP → AMP + P~P	36,00
P~P → P + P	33,40
Ацетил-CoA	34,30



## ОСМОТИЧЕСКОЕ ДАВЛЕНИЕ, ОСМОТИЧЕСКОЕ РАВНОВЕСИЕ

Если два раствора с концентрациями  $c_a$  и  $c_b$  ( $c_a \neq c_b$ ) разделены мембраной, то между ними возникает разность химических потенциалов (химический потенциал раствора ниже, чем чистого растворителя).

**Равновесие между этими двумя растворами может быть достигнуто следующим образом:**

1. Свободным (равномерным) распределением растворенных веществ по обе стороны мембраны (если мембрана проницаема для растворенного вещества, но непроницаема для растворителя).

2. Переносом растворителя от разбавленного к концентрированному раствору (если мембрана проницаема для молекул растворителя и непроницаема для молекул растворенных веществ).

3. Давлением на концентрированный раствор, которое доведет его химический потенциал до уровня потенциала разбавленного раствора.

Давление, которое следует оказывать на концентрированный раствор для того, чтобы воспрепятствовать переносу растворителя через мембрану, является мерой осмотического давления раствора.

## ВЫЧИСЛЕНИЕ ОСМОТИЧЕСКОГО ДАВЛЕНИЯ

Осмотическое давление ( $\pi$ ) прямо пропорционально молярной концентрации растворенного вещества, поскольку оно зависит лишь от числа частиц в растворе и не зависит от их размера и молекулярной массы. Используя уравнение осмотического давления, можно также определить молекулярную массу растворенного вещества ( $M_2$ ). Раствор с концентрацией растворенного вещества, равной 1 осмоль/л, содержит 1 моль (т.е.  $6,023 \cdot 10^{23}$ ) осмотически активных частиц в 1000 мл раствора и имеет осмотическое давление, равное 219 кПа.

Растворы с одинаковым осмотическим давлением называются изотоническими. Два раствора, разделенные полупроницаемой мембраной и находящиеся в осмотическом равновесии без обмена растворителем, называются изотоническими.

$$\pi = iRTc$$

$$\pi = iRT \frac{n_2}{V} 1000 = RT \frac{g_2}{M_2 V} 1000$$

$$M_2 = \frac{RTg_2 1000}{V}$$

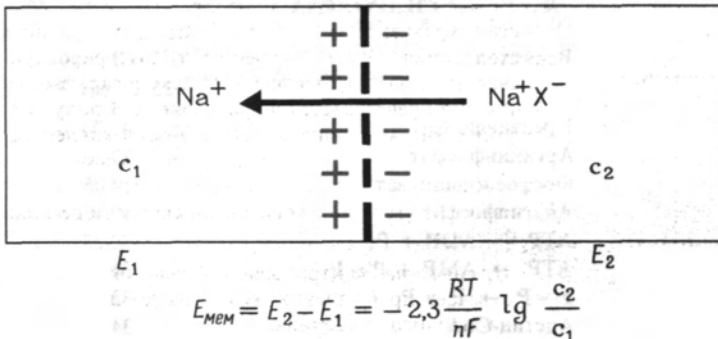
$i$  - коэффициент Вант-Гоффа (поправочный коэффициент)

Для диссоциирующих веществ истинная концентрация не совпадает с их молярной концентрацией и определяется числом частиц, образующихся при диссоциации. В разбавленных растворах оно достигает максимально возможной величины.

Для  $\text{NaCl}$ ,  $\text{KCl}$ ,  $\text{KNO}_3$   $i = 2$   
 $\text{K}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{CaCl}_2$   $i = 3$   
 $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ ,  $\text{AlCl}_3$   $i = 4$

## ГЕНЕРИРОВАНИЕ МЕМБРАННОГО ПОТЕНЦИАЛА

Существуют мембраны, проницаемые для катионов  $\text{Na}^+$ , но непроницаемые для анионов  $\text{X}^-$ . Часть ионов  $\text{Na}^+$  диффундирует через эту мембрану из раствора с высокой концентрацией  $c_2$  в раствор с низкой концентрацией  $c_1$ . В результате в первом растворе возникает некоторый избыток отрицательных зарядов, а во втором - положительных. Таким образом, растворы 1 и 2 приобретают различные электрические потенциалы. Разность потенциалов между такими двумя растворами называется мембранным потенциалом  $E_{\text{MEM}}$  и зависит от логарифма отношения концентраций  $c_1$  и  $c_2$ .



## СКОРОСТИ ХИМИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ

Скорость химической реакции - это изменение концентрации реагирующих веществ во времени. Она определяется либо по убыли концентрации исходных веществ ( $-dA/dt$ ), либо по возрастанию концентрации продуктов реакции ( $dP/dt$ ) за определенный период времени.

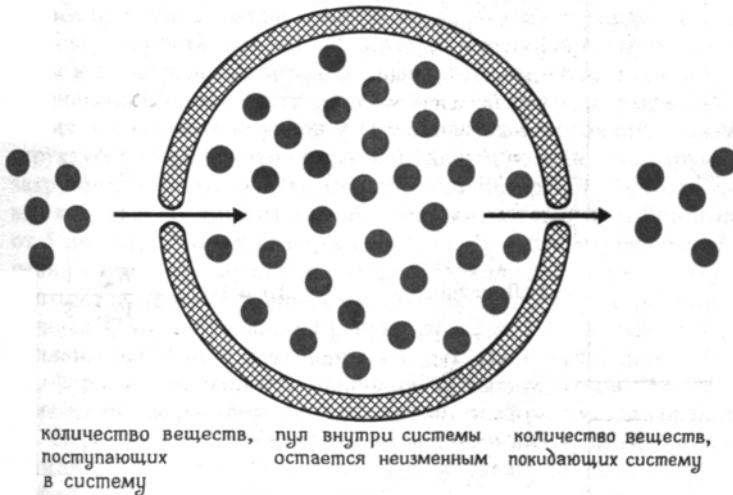
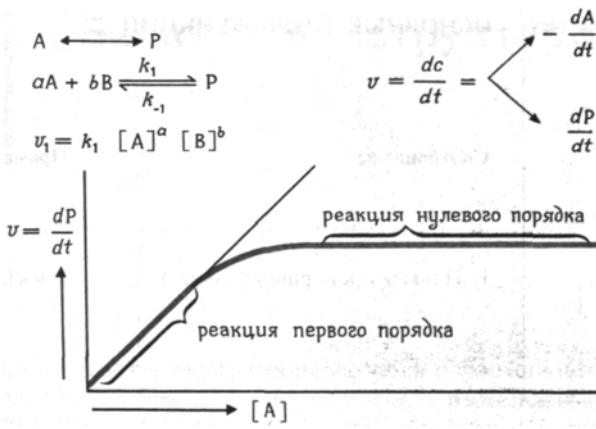
Скорость реакции пропорциональна произведению концентраций реагентов и константе скорости реакции. Эта константа численно равна скорости реакции при молярных концентрациях, равных единице.

Число молекул, участвующих в элементарном акте реакции, определяет порядок реакции.

**Реакции нулевого порядка** - это такие реакции, скорость которых не зависит от концентрации реагентов.

**Реакции первого порядка** протекают со скоростью, прямо пропорциональной концентрации реагирующего вещества в каждый данный момент времени.

**Реакции высоких порядков** имеют скорости, пропорциональные высоким степеням концентраций реагентов.



## СТАЦИОНАРНОЕ СОСТОЯНИЕ

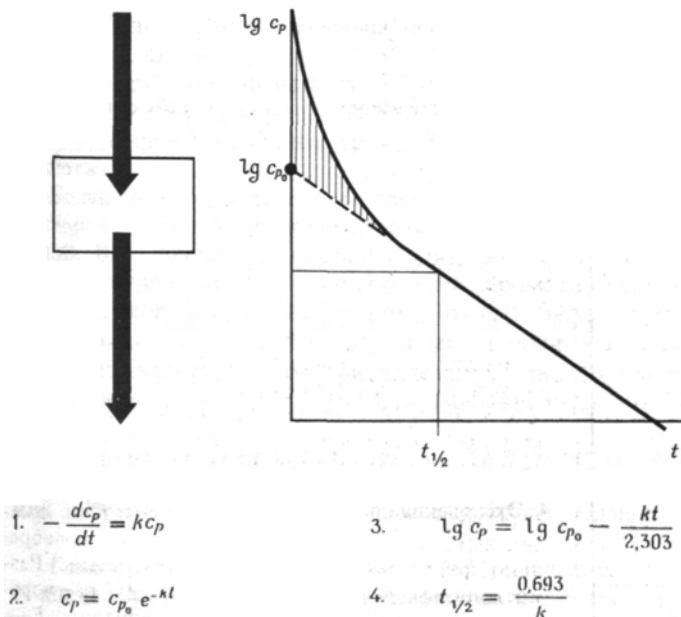
Это типичное состояние живых объектов. Оно характеризуется динамическим состоянием системы, при котором она за данный период времени получает и отдает одинаковое количество вещества (и энергии). Таким образом, общее количество вещества и энергии в системе не изменяется.

## ПОНЯТИЕ ПОЛУПЕРИОДА В БИОЛОГИИ

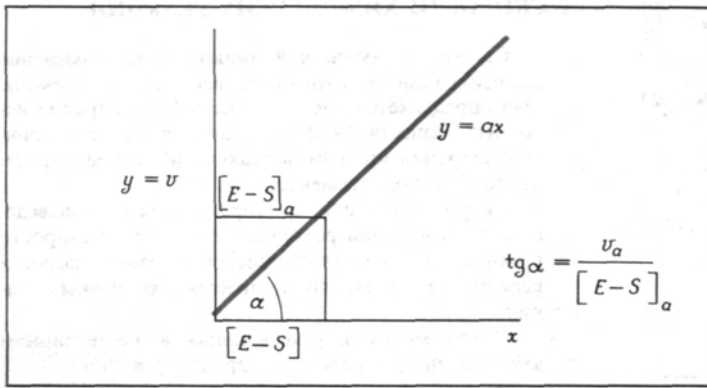
Продолжительность действия посторонних веществ в организме зависит, помимо других факторов, также от скорости их вывода из организма или от скорости их превращения. Количественной мерой этого является биохимический полупериод ( $t_{1/2}$ ), который определяется как время, требующееся для снижения концентрации действующего вещества вдвое. Определить  $t_{1/2}$  можно, исходя из кинетических измерений, т.е. следя за изменением во времени концентрации исходного вещества или продуктов его превращения.

Поскольку в системах, подобных плазме крови, концентрация вещества  $c_p$  пропорциональна его общему количеству в организме, процесс может быть описан уравнением 1, где  $k$  - константа скорости расщепления этого вещества. Интегрирование уравнения 1 дает уравнение 2. После логарифмирования оно превращается в уравнение 3. В полулугарифмических координатах зависимость концентрации плазмы от времени линейна и  $k$  может быть определена из наклона кривой. Биохимический полупериод ( $t_{1/2}$ ) связан с константой скорости реакции уравнением 4.

*Примечание.* Заштрихованный участок на графике отвечает превращению вещества до достижения стационарного состояния.



## ОСНОВНЫЕ ТИПЫ ФУНКЦИЙ

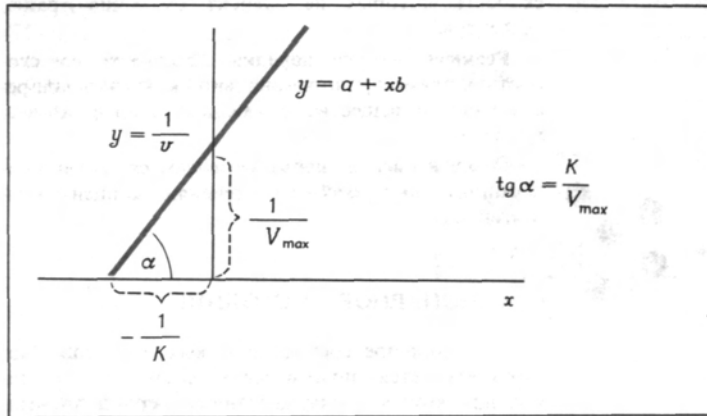


Соотношение

Пример

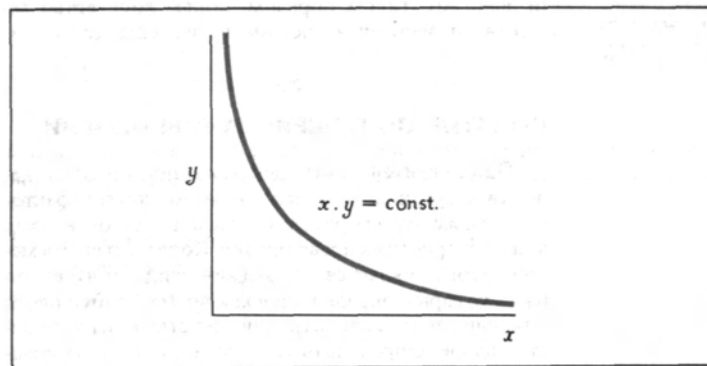
1. Прямая пропорциональность

$$v = k(E-S)$$



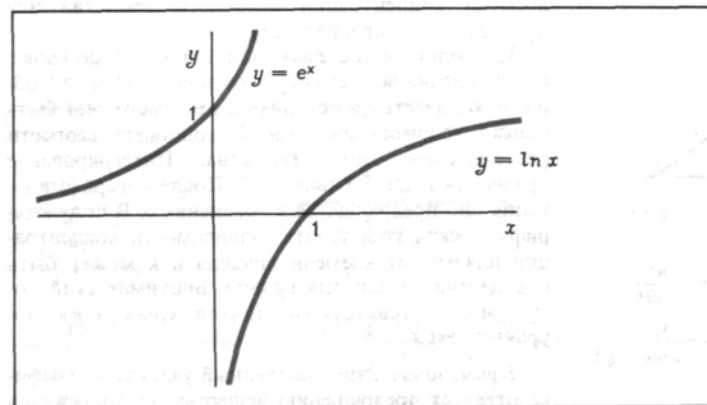
2. Линейное

$$1/v = 1/V_{\max} + \frac{K_m}{V_{\max}} \cdot \frac{1}{S}$$



3. Гиперболическое  
(обратное)

$$pV = \text{const}$$



4. Экспоненциальное

$$T = \frac{I}{I_0} = e^{-xcd}$$

и логарифмическое

$$A = -\frac{1}{2,303} \ln T$$

## Белки и их структура

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

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

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

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

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

Аминокислоты - это алифатические, ароматические или гетероциклические соединения, содержащие по крайней мере одну амино- и одну карбоксильную группу. В аминокислотах белков  $\text{NH}_2$ -группа находится у  $\alpha$ -углеродного атома. Все природные аминокислоты оптически активны (за исключением глицина), аминокислоты высших организмов принадлежат к L-ряду, однако в некоторых особых соединениях микробного происхождения могут присутствовать аминокислоты D-ряда.

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

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

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



*Растворы* аминокислот и белков являются молекулярно-дисперсными, или истинными, растворами, однако вследствие большого размера растворенных молекул такие растворы имеют некоторые свойства, общие с коллоидными растворами (диализ, оптическая рефракция, гидрофобные и гидрофильные свойства, онкотическое давление, вязкость, седиментация, электрофоретическое поведение и т.д.).

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

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

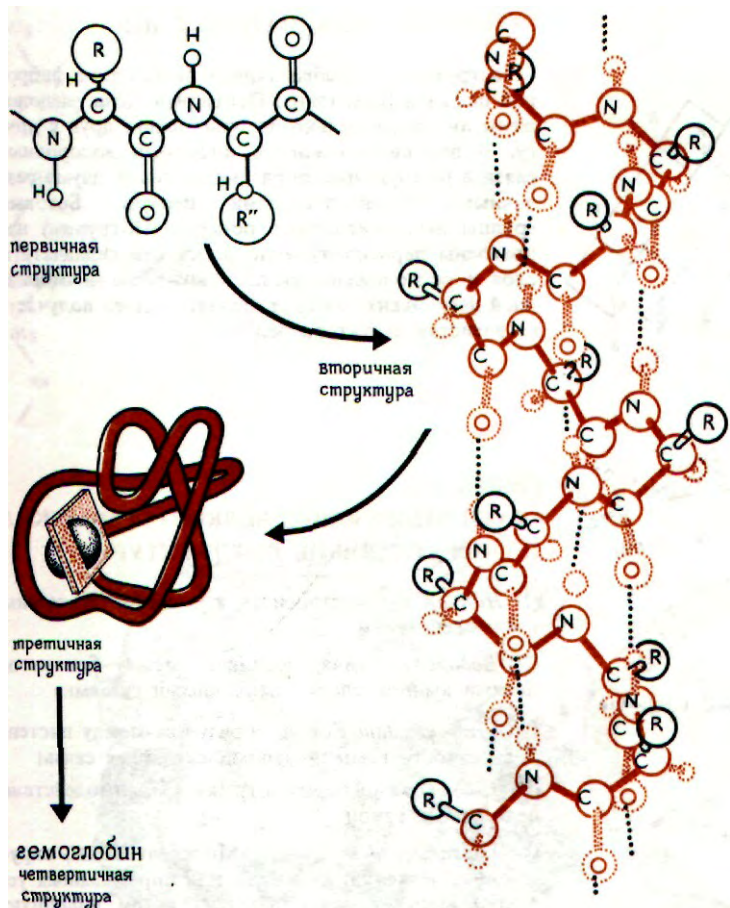
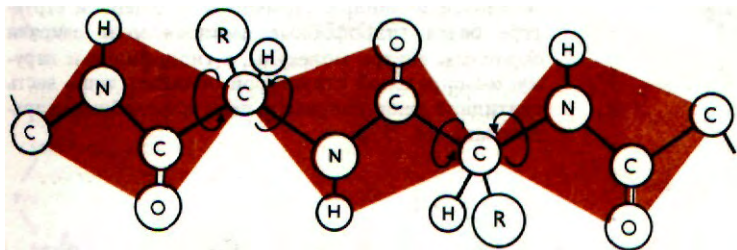
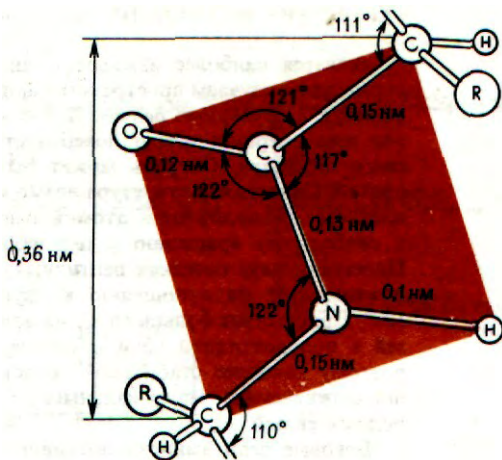
В биологических системах белки обеспечивают множество специфических свойств. Так, наиболее важные функциональные белки - это *ферменты* (простые, аллостерические, регуляторные). Наиболее важные *структурные* белки - это коллаген, кератин, гликопротеины, эластин и сократительные белки, такие, как актин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

## ПЕПТИДНАЯ СВЯЗЬ

Аминокислоты в пептидной цепи связаны между собой через карбоксильную группу одной и аминогруппу другой аминокислоты. Такая связь называется *пептидной связью*. Пептидная связь имеет некоторые черты двойной связи: вокруг нее нет свободного вращения, и она короче других C—N-связей.

Все четыре атома пептидной связи (C, H, N, O) и два α-углеродных атома лежат в одной плоскости. Кислород карбоксильной группы и водород NH-группы чаще всего находятся в транс-положении. Группа, связанная с α-углеродным атомом, обладает свободным вращением.

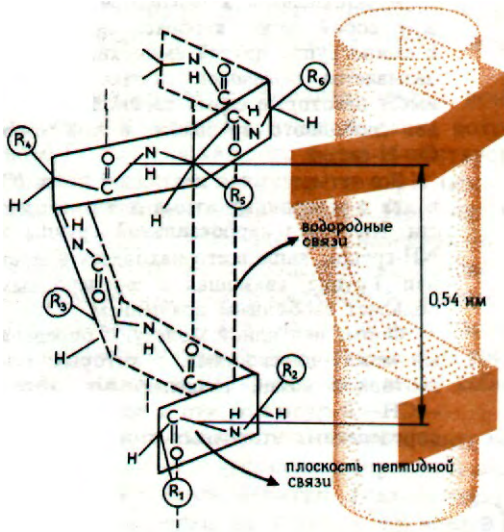
Форма пептидной молекулы определяется углами между плоскостями, в которых лежат атомы пептидной связи, разделенными друг от друга —CH—R-группами, что и ведет к возникновению определенных вторичных структур.



## ПЕРВИЧНАЯ, ВТОРИЧНАЯ, ТРЕТИЧНАЯ И ЧЕТВЕРТИЧНАЯ СТРУКТУРЫ БЕЛКОВОЙ МОЛЕКУЛЫ

Вторичная *структура* белков представлена правой α-спиралью с большим количеством водородных связей (пунктирные линии). *Третичная структура* показана на примере молекулы миоглобина, значительная часть пептидной цепи которого спирализована и плоский диск гема погружен в полость белковой молекулы. Знания третичной структуры белка основываются на данных рентгеноструктурного анализа. Миоглобин — очень компактная молекула, только четыре молекулы воды могут разместиться внутри свернутой пептидной цепи. Все полярные R-группы аминокислот локализованы на внешней поверхности и гидратированы. Все гидрофобные (неполярные) группы находятся внутри молекулы и не имеют контакта с водой. Часть пептидной цепи, которая не образует спирали, содержит Pro, Ile, Ser, а также аминокислоты, имеющие при pH 7 отрицательный заряд. Конформация молекулы одинакова у всех миоглобинов, выделенных из млекопитающих, независимо от различий в их первичной структуре. Белком с *четвертичной структурой* является гемоглобин, молекула которого состоит из четырех субъединиц. Между субъединицами нет ковалентной связи, однако тетрамер представляет собой единое целое, в котором субъединицы тесно связаны и ведут себя в растворе как одна молекула.

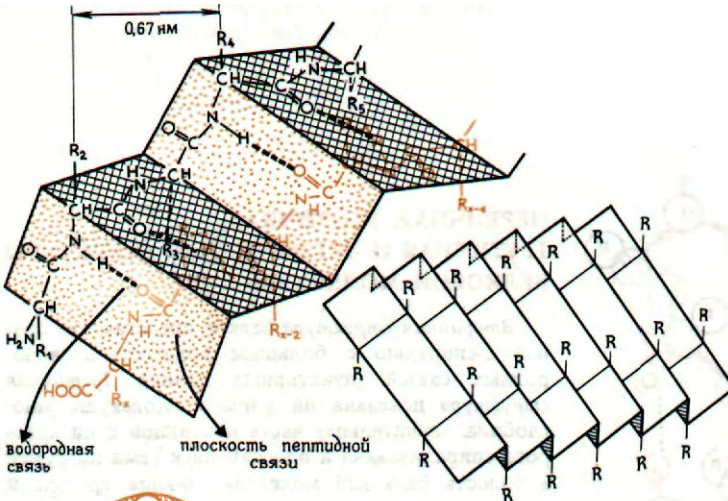
## СТРУКТУРА $\alpha$ -СПИРАЛИ



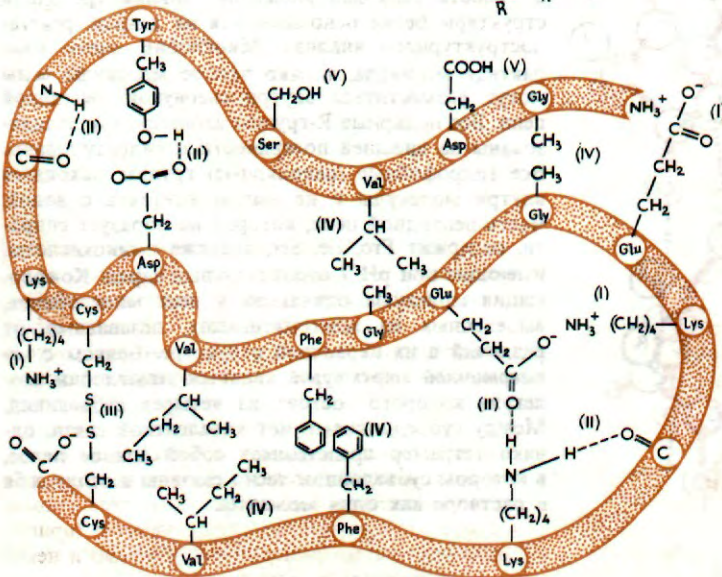
является наиболее важным и широко распространенным случаем пространственной организации молекул *глобулярных белков*. В  $\alpha$ -спирали пептидная цепь обернута вокруг поверхности гипотетического цилиндра. Спираль может быть левой или правой. Спиральная структура возможна благодаря плоскому расположению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

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

## СТРУКТУРА СКЛАДЧАТОГО СЛОЯ



встречается в *фибрилярных белках* типа фибрина шелка и  $\beta$ -кератина. Пептидные цепи расположены антипараллельно по отношению друг к другу. В противоположность  $\beta$ -спирали водородные связи в  $\beta$ -структурах образуются между двумя различными полипептидными цепями. Боковые группы аминокислотных остатков (R-группы) направлены перпендикулярно плоскости складчатого слоя и расположены выше и ниже его. Комбинацией нескольких таких складчатых слоев получается ячеистая структура белка.



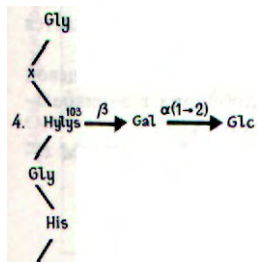
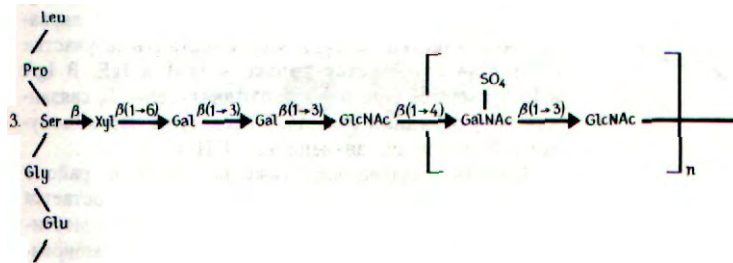
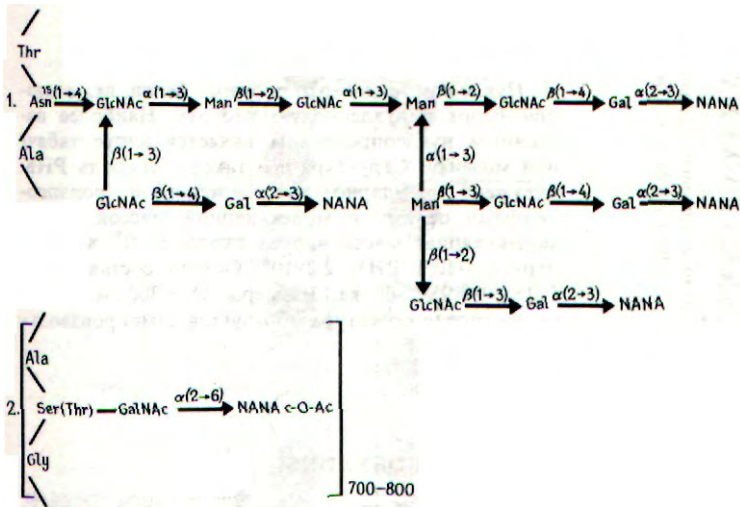
## СВЯЗИ,

### СТАБИЛИЗИРУЮЩИЕ БЕЛКОВУЮ МОЛЕКУЛУ И ОПРЕДЕЛЯЮЩИЕ ЕЕ СТРУКТУРУ

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



## ГЛИКОПРОТЕИНЫ - СОСТАВ И СТРУКТУРА



Гликопротеины - это сложные белки, в состав которых, кроме белка, входит углеводная часть. Углеводный компонент может содержать нейтральные сахара (Gal, Man, Fuc, Glc, Xyl), аминосахара (GlcNAc, GalNAc), уроновые кислоты (GlcUA, TdUA) и N-ацетилнейраминовою кислоту (NANA).

Оба компонента гликопротеинов связаны ковалентной связью. В соответствии с характером этой связи различают следующие группы гликопротеинов:

1. *Гликопротеины крови* (например, кислые  $\alpha_1$ -гликопротеины). В этом случае пептидная цепь связана с пятью разветвленными олигосахаридными цепями, которые присоединены к белку через N-ацетилглюкозамин (связь возникает между амидной группой Asn и C<sub>1</sub>-группой N-ацетилглюкозамина).

2. *Гликопротеины слюнных желез и групповые вещества крови* (например, муцин подчелюстной железы овцы). Пептидная цепь несет на себе 700-800 дисахаридов, присоединенных O-гликозидной связью.

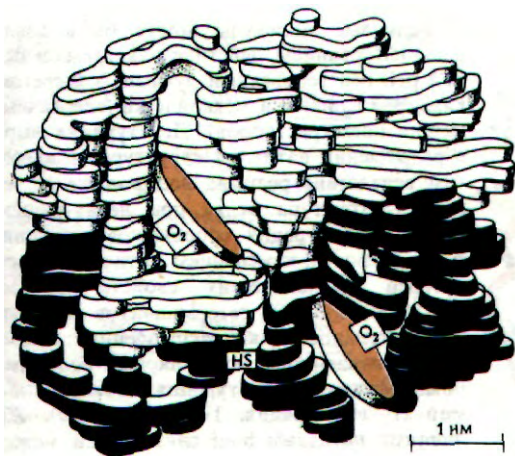
3. *Протеогликаны* (например, протеохондритинсульфат). Серин белковой части связан O-гликозидной связью через трисахарид -Xyl-Gal-Gal- с несколькими десятками цепей гликозаминогликанов хондроитинсульфата.

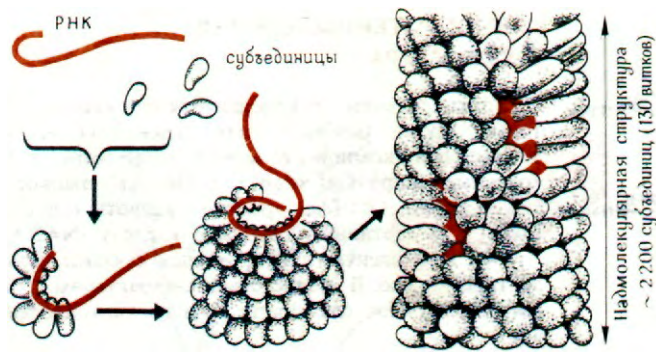
4. *Коллаген*. В пептидной цепи коллагена оксипролин связан O-гликозидной связью либо с молекулой галактозы, либо с дисахаридом Gal-Glc. В зависимости от типа коллагена число молекул сахара может изменяться от одного до нескольких десятков на цепь. Молекулы гликопротеинов вытянуты благодаря присутствию большого количества отрицательных зарядов, расположенных вдоль молекулы. Заряды несут карбоксильные группы концевых NANA (гликопротеины слюнных желез), а также карбоксильные или сульфатные группы молекул гликозаминогликанов (протеогликаны). Они образуют в воде вязкие растворы, и их вязкость, увеличивается с увеличением числа отрицательных зарядов на молекулу.

## МЕТАЛЛОПРОТЕИДЫ

Модель изображает четыре субъединицы металлопротеида *гемоглобина* согласно Перутцу и сотр. [Nature, 185, 416 (1960)]. Две субъединицы изображены черным, а две - белым цветом. Каждая субъединица содержит молекулу гема, но на рисунке видны только две молекулы, а две другие находятся на обратной стороне модели.

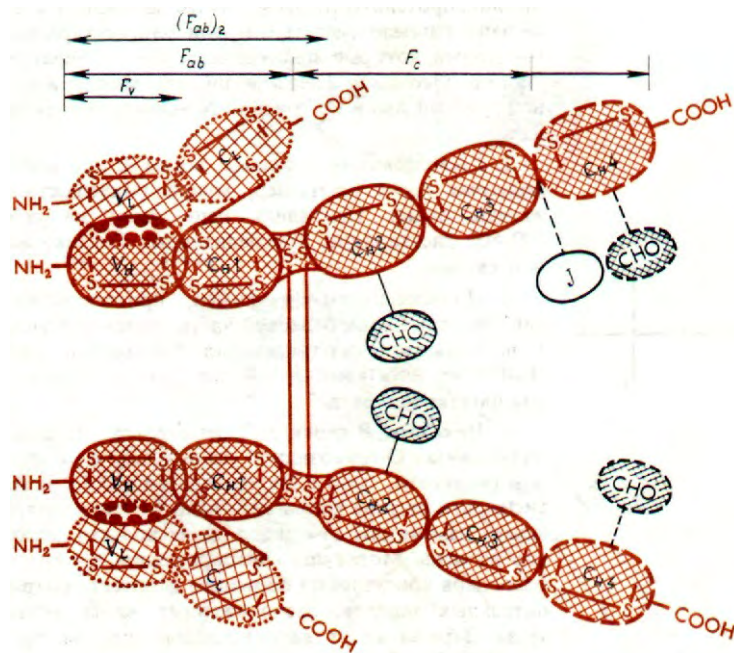
Другой группой металлопротеидов являются белки, содержащие негемовое железо. В состав таких белков входит железо, но они не содержат гема. Из множества ферментов этого типа упомянем сукцинатдегидрогеназу, ферредоксин (принимающие участие, например, в фотосинтезе) и некоторые бактериальные дегидрогеназы.





## НУКЛЕОПРОТЕИДЫ - ВИРУС ТАБАЧНОЙ МОЗАИКИ (ВТМ)

Нуклеопротеиды - это сложные белки, включающие белок и нуклеиновую кислоту. Наиболее изученным нуклеопротеидом является вирус табачной мозаики. Структура его такова: спираль РНК окружена регулярно расположенными полипептидными цепями с молекулярной массой 17500, молекулярная масса вируса около  $4 \cdot 10^7$ , молекулярная масса РНК  $2,2 \cdot 10^6$ . Общий состав: 5-6% РНК, 94-95% белка. Размеры 15 x 300 нм. Такая четвертичная структура образуется самопроизвольно.



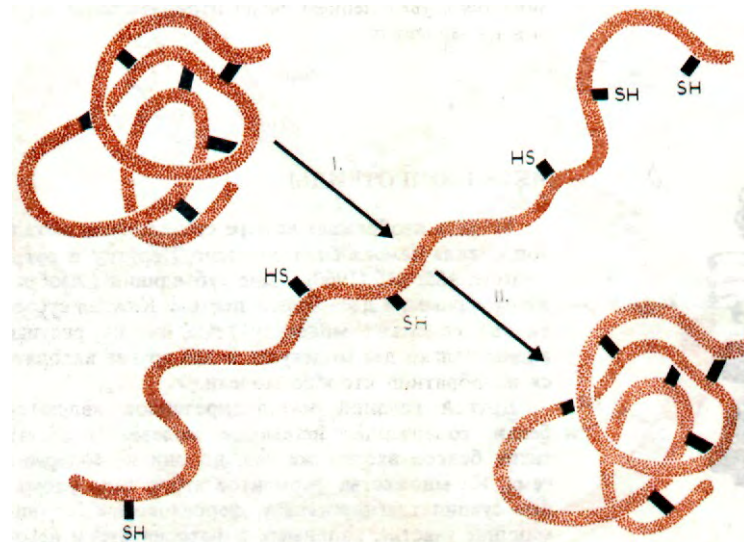
## ИММУНОГЛОБУЛИНЫ

Иммуноглобулины являются основой *антител* и состоят из легких и тяжелых цепей. Легкая цепь на рисунке заштрихована слабее, а тяжелая цепь - сильнее. На концах цепей находятся  $-\text{NH}_2$  и  $-\text{COOH}$ -группы.  $V_L$  и  $V_H$  обозначают переменные участки, а  $C_L$  и  $C_H$  - константные участки (1-4).  $C_{H4}$  встречается только в IgM и IgE. В IgA и IgM имеется еще одна пептидная цепь (J), связанная дисульфидной связью. Углеродная часть иммуноглобулинов обозначена как CHO.

Папаин расщепляет тяжелые цепи в районе аминного конца и получающийся пептид остается связанным с легкой цепью дисульфидными мостиками. Так получают фрагменты  $F_C$  и два моновалентных фрагмента  $F_{ab}$ . Пепсин расщепляет тяжелую цепь вблизи карбоксильного конца и освобождает фрагмент  $(F_{ab})_2$ , у которого сохраняется способность взаимодействовать с антигеном.

Центр связывания антигена лежит в N-концевой половине молекулы иммуноглобулина в переменном районе или вблизи от него.

В отличие от других иммуноглобулинов IgM существует в виде пентамера.

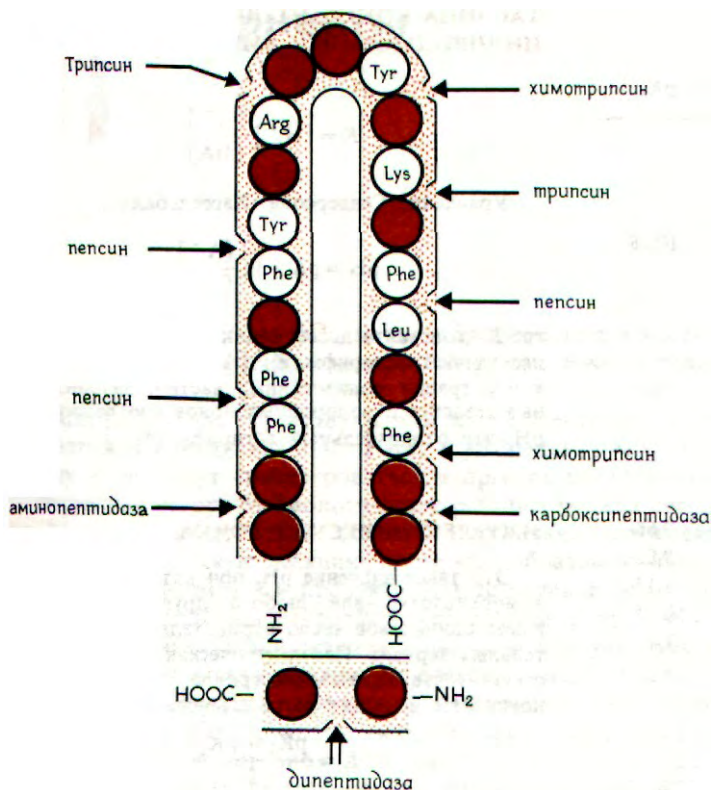


## ДЕНАТУРАЦИЯ БЕЛКОВ

Белковые молекулы могут быть денатурированы нагреванием, действием экстремальных значений pH, рентгеновскими лучами, УФ-светом, высокими давлениями и механически (энергичным перемешиванием растворов). Денатурация выражается в разрушении нативной структуры, главным образом вследствие разрыва водородных связей. Первичная структура белка при денатурации сохраняется. Денатурация сопровождается понижением растворимости, изменением оптического вращения, потерей биологических свойств, образованием новых антигенных детерминантов и увеличением чувствительности к расщеплению ферментами. В том случае, когда глобулярный белок денатурирован частично, денатурация может быть обратной (I - денатурация, II - ренатурация). Жирными линиями показаны S-S-связи белка.



## ФЕРМЕНТАТИВНОЕ РАСЩЕПЛЕНИЕ ПЕПТИДНОЙ СВЯЗИ



Эндопептидазы являются гидролазами, расщепляющими пептидную связь внутри полипептидной цепи.

Экзопептидазы расщепляют пептидную связь на конце белковой молекулы.

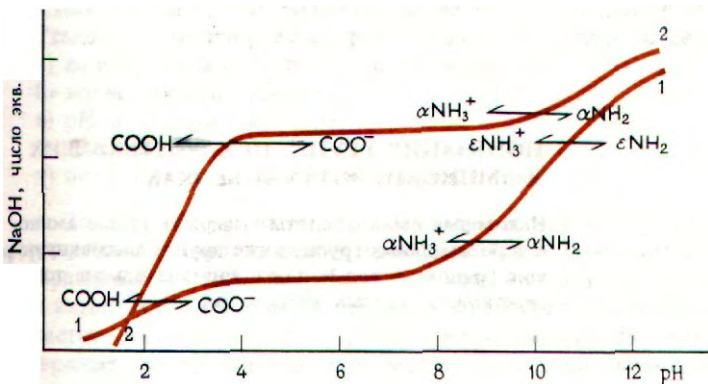
Аминопептидазы атакуют аминоконец полипептидной цепи белка, карбоксипептидазы атакуют ее карбоксильный конец.

Пепсин расщепляет пептидную связь между двумя гидрофобными аминокислотами.

Трипсин расщепляет связи, образованные Lys или Arg и другими аминокислотами. Образующийся фрагмент имеет Lys или Arg на C-конце.

Химотрипсин расщепляет связи, образованные Phe, Trp или Tyr и другими аминокислотами.

Эндопептидазы расщепляют белковые молекулы в желудке и в двенадцатиперстной кишке. Распад до индивидуальных аминокислот, катализуемый экзопептидазами и пептидазами, завершается в тонкой кишке.



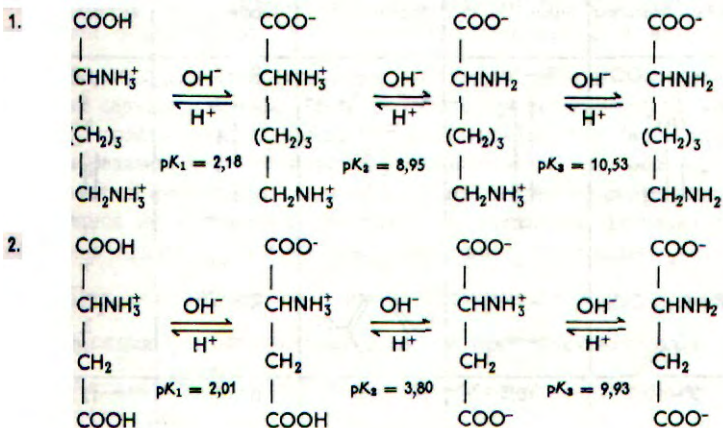
## АМИНОКИСЛОТЫ КАК АМФОЛИТЫ

Аминокислоты содержат по меньшей мере две ионизуемые группы: карбоксильную группу с  $pK$  лежащим между 1,7 и 3, и  $\alpha$ -аминогруппу с  $pK$  около 10. В растворе с  $pH$  между 4 и 9 аминокислоты существуют в виде *цвиттериона*, в котором и аминная, и карбоксильная группы ионизованы. Кроме этих двух групп в состав некоторых аминокислот входят и другие группы, способные к ионизации, как, например, еще одна  $NH_2$ - или еще одна  $COOH$ - или имидазол,  $OH$ -,  $SH$ -группы и др.

На рисунке изображены кривые титрования, отражающие последовательную ионизацию групп в основной аминокислоте (лизин, кривая 1) и в кислой аминокислоте (аспарагиновая кислота, кривая 2).

При физиологическом значении  $pH$  ионизованы обе  $NH_2$ -группы и  $COOH$ -группы лизина, что приводит к появлению небольшого суммарного положительного заряда молекулы. При том же  $pH$  аспарагиновая кислота имеет небольшой отрицательный заряд, вызванный диссоциацией двух карбоксильных групп.

Так же как и аминокислоты, белковые молекулы в водных растворах заряжены и величина заряда зависит от типа белка и от значения  $pH$ .



Аминокислота	pK <sub>1</sub>	pK <sub>2</sub>	pK <sub>3</sub>
Gly	2,35	9,78	
Ala	2,34	9,87	
Ser	2,21	9,15	
Cys	1,96	8,18	10,28
Met	2,28	9,21	
Val	2,32	9,62	
Leu	2,36	9,60	
Ile	2,36	9,68	
Tyr	2,60	9,10	10,1
Phe	2,58	9,24	
Trp	2,38	9,39	
Pro	2,00	10,60	
Hypro	1,92	9,73	
Glu	2,19	4,28	9,66
Asp	2,09	3,87	9,82
His	1,77	6,10	8,17
Lys	2,18	8,95	10,53
Arg	2,09	9,04	12,48
Thr	2,63	10,40	
Gln	2,17	9,13	
Asn	2,02	8,80	

## ТАБЛИЦА КОНСТАНТ ДИССОЦИИИ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ АМИНОКИСЛОТ

$$K = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]}$$

Уравнение Гендерсона-Хассельбалха:

$$pH = pK + \lg \frac{[A^-]}{[HA]}$$

где  $K$  - константа диссоциации,  $pK$  - отрицательный десятичный логарифм  $K$ ;  $[A^-]$ ,  $[HA]$  и  $[H^+]$  - концентрации ионизованных частиц, неионизованных молекул и водородных ионов соответственно,  $pH$  - это отрицательный логарифм  $[H^+]$ .

### ИЗОЭЛЕКТРИЧЕСКАЯ ТОЧКА

Это такое значение  $pH$ , при котором молекула аминокислоты (или любого другого амфолита) имеет одинаковое число отрицательных и положительных зарядов. Изоэлектрическая точка соответствует точке перегиба на кривой титрования аминокислоты и может быть вычислена по формуле

$$I_p = \frac{pK_1 + pK_2}{2}$$

### ИОНИЗАЦИЯ ГРУПП, ПРИСУТСТВУЮЩИХ В АМИНОКИСЛОТАХ И БЕЛКАХ

Некоторые аминокислоты содержат кроме аминок- и карбоксильных групп также другие диссоциирующие группы, которые дают дополнительные точки перегиба на кривых титрования.

Ионизованная группа	1-Карбоксил	4- или 5-Карбоксил	Имидазол	$\alpha$ -Амино	$\epsilon$ -Амино	Фенольный гидроксил	Сульфгидрильная (тиольная)	Гуанидинная
Соединения, содержащие группу	$\alpha$ -Аминокислоты	Аспарагиновая, глутаминовая кислота	Гистидин	$\alpha$ -Аминокислоты	Лизин	Тирозин	Цистеин	Аргинин
Ионизация	$\begin{array}{c} R-CHCOOH \\   \\ NH_3^+ \\ \rightleftharpoons \\ H^+ \\ + \\ R-CHCOO^- \\   \\ NH_3^+ \end{array}$	$\begin{array}{c} R-COOH \\ \rightleftharpoons \\ H^+ \\ + \\ R-COO^- \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{Imidazole} \\ \rightleftharpoons \\ H^+ \end{array}$	$\begin{array}{c} R-CHCOOH \\   \\ NH_3^+ \\ \rightleftharpoons \\ H^+ \\ + \\ R-CHCOOH \\   \\ NH_2 \end{array}$	$\begin{array}{c} R-NH_3^+ \\ \rightleftharpoons \\ H^+ \\ + \\ R-NH_2 \end{array}$	$\begin{array}{c} R-C_6H_4-OH \\ \rightleftharpoons \\ H^+ \\ + \\ R-C_6H_4-O^- \end{array}$	$\begin{array}{c} R-SH \\ \rightleftharpoons \\ H^+ \\ + \\ R-S^- \end{array}$	$\begin{array}{c} NH_2CNHR \\    \\ NH_2^+ \\ \rightleftharpoons \\ H^+ \\ + \\ NH_2CNHR \\    \\ NH \end{array}$
pH	1,7-2,6	4,3	6,1	9-10,7	10,5	10,1	8,1-8,3	12,5

# Ферменты



Ферменты - это *биокатализаторы*, образующиеся в клетке и представляющие собой либо простые белки, либо сложные, содержащие неаминокислотные компоненты.

*Коферменты* часто участвуют в переносе электронов или функциональных групп (водородный атом, ацетил, метил, аминокислоты и т.д.). Как и витамины, коферменты входят в качестве необходимого компонента в пищу и не могут синтезироваться в органах по крайней мере высших организмов.

Ферменты ускоряют биологические реакции, снижая энергию активации и не изменяя положения равновесия. Механизм их действия состоит в образовании комплекса *ES* между ферментом и субстратом, который вступает в химическую реакцию, после чего образовавшийся комплекс фермента с продуктом *EP* распадается до исходного фермента и продукта. Существование некоторых фермент-субстратных комплексов было доказано как косвенными (спектрофотометрия), так и прямыми методами (химическое выделение).

Субстрат связывается *активным центром* или участком фермента, который можно представить себе как пространственную организацию определенных аминокислот белковой части фермента с возможным участием протестической группы кофермента. Аминокислотами, часто играющими важную роль в активном центре, являются серин (ОН-группа) и гистидин (азот имидазольного кольца). Некоторые ферменты синтезируются непосредственно в активном виде, другие в виде неактивных проферментов (пепсиноген, трипсиноген) или имеют неактивную конформацию, в которой они существуют часть своей жизни (аллостерические ферменты). Для того чтобы начать функционировать, они должны быть активированы за счет специальных процессов.

Реакции, катализируемые ферментами, протекают с различными скоростями, зависящими от

- а) количества или активности фермента,
- б) концентрации субстрата,
- в) рН и состава раствора,
- г) температуры,
- д) присутствия активаторов и ингибиторов.

а. Так как концентрацию ферментов в живой клетке трудно измерить, мы часто говорим об активности ферментов. Активность фермента измеряется в *международных единицах* (МЕ), соответствующих активности, превращающей 1 мкмоль субстрата в мин, или, как это было введено недавно, в *каталах* (кат), соответствующих активности, превращающей 1 моль субстрата в секунду. *Удельная активность* выделенного фермента выражается в единицах на 1 мг белка. *Специфичность* фермента определяется типами структур, которые могут превращаться под действием фермента. Если специфичность абсолютна, фермент может катализировать химическое превращение единственного соединения, если же она относительна, несколько близких соединений могут быть субстратами одного и того же фермента. *Стереоспецифичность* фермента указывает на то, что фермент связывает определенный стереоизомер (L- или D-форму). Следует отметить, что один и тот же субстрат может быть превращен несколькими теоретически возможными реакциями, катализируемыми различными ферментами. Это обстоятельство важно в некоторых процессах, контролируемых метаболизмом.

б. При низких концентрациях субстрата ферментативная реакция протекает в соответствии с кинетикой реакций *первого порядка*, т.е. ее скорость пропорциональна концентрации субстрата. При высоких концентрациях субстрата реакция имеет *нулевой порядок*, т.е. фермент насыщен своим субстратом. Каждая ферментативная реакция характеризуется *константой Михаэлиса*  $K_m$ , она определяется как концентрация субстрата, при которой ферментативная реакция протекает со скоростью, равной половине от максимальной. Константа Михаэлиса не идентична константе диссоциации фермент-субстратного комплекса  $K_s$ , точно так же, как обратная величина не идентична константе ассоциации этого комплекса.

в. Для каждой ферментативной реакции существует *оптимальное значение рН*.

г. Каждая ферментативная реакция протекает наиболее быстро при *определенной температуре*.

д. Активаторы и ингибиторы ферментативной реакции - это соединения, ускоряющие и замедляющие ее соответственно.

*Активаторы* увеличивают скорость ферментативной реакции, способствуя образованию активного центра, и наиболее часто эту роль выполняют металлы, такие, как  $Mg^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ . Активация *аллостерических ферментов*, которые состоят из субъединиц, является важнейшим процессом контроля полиферментных систем. Обычно активация аллостерических ферментов достигается за счет их взаимодействия с различными органическими соединениями.

*Ингибиторы* ферментов бывают нескольких типов, среди них наиболее важными являются конкурентные и неконкурентные. Структура конкурентных ингибиторов сходна со структурой субстрата, и поэтому они конкурируют с субстратом за связывание с активным центром фермента. Такие ингибиторы вытесняются избытком субстрата. *Неконкурентные ингибиторы* реагируют не с активным центром, а с другой, также важной частью молекулы фермента (например, с SH-группой). Ингибирование может быть обратимым или необратимым; в последнем случае ингибитор связывается ковалентной связью с группой белка, важной для его функционирования. Неконкурентный ингибитор не вытесняется избытком субстрата.

Для того чтобы отличить различные типы ингибирования, используют большое число кинетических и графических приемов (например, преобразование по Лайнуиверу и Берку).

В условиях *in vivo* (в клетке) большинство ферментов организованы в пространстве в так называемые *мультиферментные системы*. Они либо связаны с клеточными структурами, либо находятся в свободном состоянии в различных органеллах клетки. Их внутриклеточная концентрация обычно выше, чем таковая других интермедиатов (для большинства метаболитов она выражается в миллимолях).

Названия ферментов складываются из названия катализируемой реакции с добавлением суффикса -аза. Все ферменты подразделяются на шесть главных классов. Обычно используются как систематические, так и тривиальные названия ферментов.



$$\text{Число оборотов} = \frac{\text{Число молей превращенного субстрата}}{\text{МИН}}$$

$$\text{Международная единица активности (МЕ)} = \frac{\text{Количество фермента, катализирующего превращение 1 мкмоль субстрата}}{\text{МИН}}$$

$$\text{Удельная активность} = \frac{\text{Число каталов}}{\text{Количество активного белка, кг}}$$

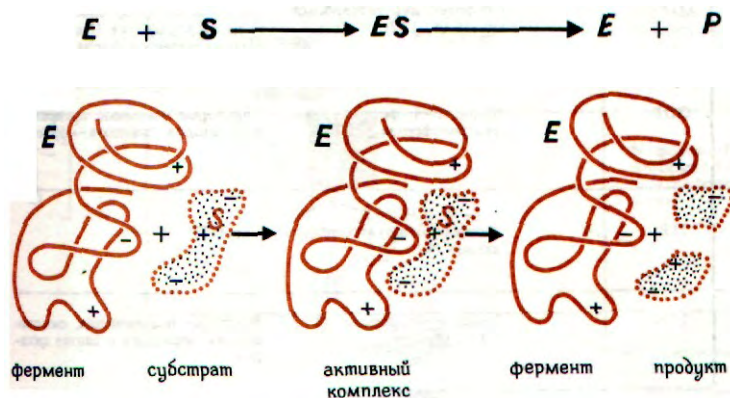
$$\text{Молярная активность} = \frac{\text{Число каталов}}{\text{Число молей фермента}}$$

## ТЕРМИНЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ЭНЗИМОЛОГИИ

Новая единица ферментативной активности была введена в 1973 г. и получила название *катал* (кат). Она соответствует количеству катализатора, способного превращать 1 моль субстрата в продукт за секунду. Международная единица ферментативной активности МЕ связана с каталом следующими равенствами:

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

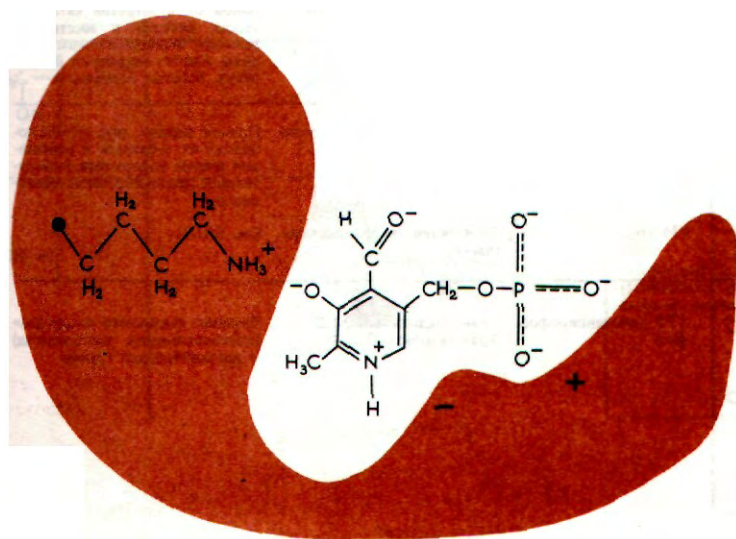
$$1 \text{ МЕ} = 1 \text{ мкмоль} \cdot \text{мин}^{-1} = 1/60 \text{ мкмоль} \cdot \text{с}^{-1} = 1/60 \text{ мккат} = 16,67 \text{ нкат}$$



## МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ФЕРМЕНТОВ

В процессе ферментативной реакции образуется промежуточный фермент-субстратный комплекс. Субстрат связывается с ферментом в *активном центре*, который создается определенной пространственной конформацией полипептидной цепи (или полипептидных цепей), сближающей боковые группы некоторых аминокислот (Ser, His, Tyr и других) друг с другом. Субстрат связывается с активным центром в нескольких точках; образующийся таким образом комплекс обычно нестабилен и распадается с образованием продуктов и свободного фермента после протекания химической реакции.

Боковые цепи аминокислот, образующие активный центр, обычно способны к ионизации (кислоты), обладают нуклеофильными (электронодоноры) или электрофильными (электроакцепторы) свойствами. Нуклеофильные группы могут быть связаны с ионами металлов ( $Mn^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ), которые в некоторых случаях составляют неотъемлемую часть ферментов. Все эти группы участвуют в сорбции субстратов и превращении их в продукты.



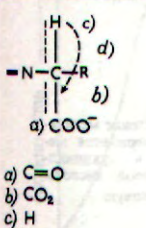
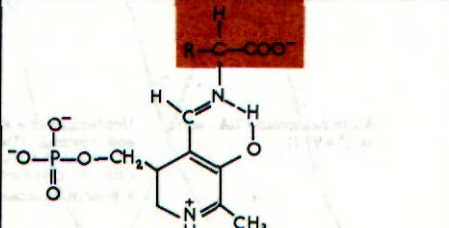
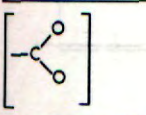
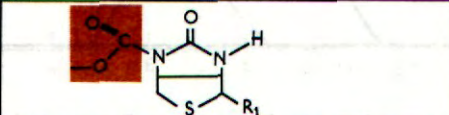
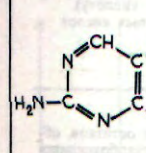
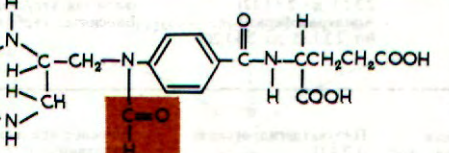
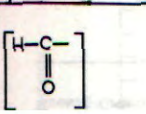
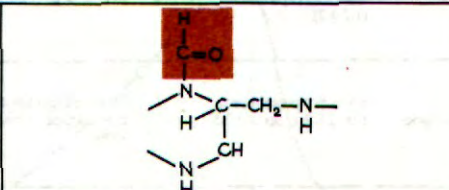

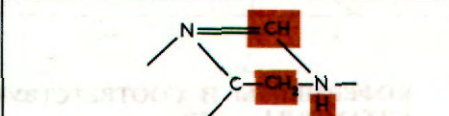
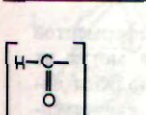
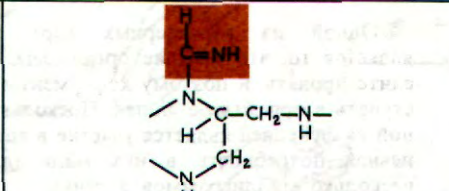
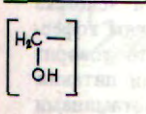
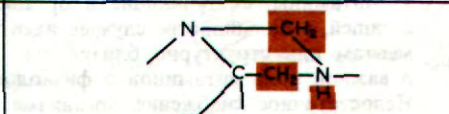
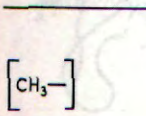
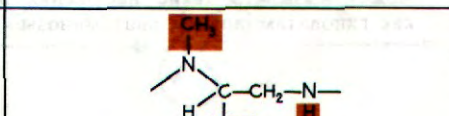
## ФЕРМЕНТЫ И КОФЕРМЕНТЫ


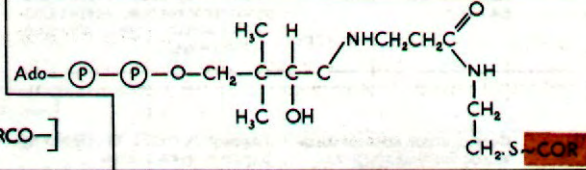
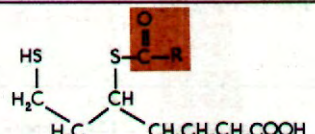
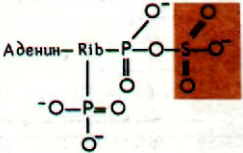
В некоторых ферментах в создании активного центра принимают участие молекулы кофермента, как это показано на рисунке на примере пиридоксальфосфата, входящего в состав активного центра фермента. Взаимодействие карбонильной группы пиридоксальфосфата с аминогруппой глутаминовой кислоты приводит к образованию основания Шиффа, содержащего альдиминную связь. Структура белковой части молекулы фермента способствует стабилизации определенных мезомерных структур основания Шиффа. В зависимости от природы белковой молекулы связанная аминокислота может подвергаться переаминированию, декарбосилированию или изомеризации.

**ГРУППЫ, ПЕРЕНОСИМЫЕ ФЕРМЕНТАМИ (КОФЕРМЕНТАМИ), И ПРИМЕРЫ КАТАЛИЗИРУЕМЫХ РЕАКЦИЙ**

свободная	Природа группы		Кофермент	Название фермента (номер по классификации)	Функция (примеры коферментзависимых реакций)
	связанная				
			АТФ	Гексокиназа (2.7.1.1)	Перенос фосфата (к и от —OR). Фосфорилирование гексоз
	--		АТФ	Рибозофосфат-пирофосфаткиназа (пирофосфотрансфераза) (2.7.1.6)	Перенос пирофосфата. Фосфорилирование D-рибозо-5-фосфата до 5-фосфорибозил-1-пирофосфата
	--		АТФ	Аминоацил-tРНК синтетазы (лигазы) (6.1.1.4-6.1.1.21)	Перенос аденилата (к и от R-C(=O)-). Активация аминокислот
	--		АТФ	Метиладенозилтрансфераза (2.5.1.6)	Перенос аденозила к и от метионина
			GTP	Фосфоенолпируваткарбоксикиназа (4.1.1.32)	Образование фосфоенолпирувата из оксалоацетата. (Некоторые реакции переноса фосфата.)
			GDP	Маннозо-1-фосфат-гуанилтрансфераза (2.7.7.13)	Некоторые взаимные превращения сахаров (манноза -> фукоза)
			ITP	Фосфоенолпируваткарбоксикиназа (4.1.1.32)	См. GTP
			UDP	Уридилтрансферазы (2.7.7.9-2.7.7.12)	Взаимные превращения, окисление, изомеризация и синтез сахаров
			CTP	Цитидилтрансферазы (2.7.8.1; 2.7.7.14; 2.7.7.15)	Взаимные превращения фосфолипидов
$[H^+] + [e^-] = H$			NADH	Дегидрогеназы (пиридинзависимые) (1.1.1.1-1.1.1.45)	Обратимый перенос двух восстановительных эквивалентов от субстрата к окисленной форме кофермента
			NADPH	Дегидрогеназы (пиридинзависимые) (1.1.1.10; 1.1.1.19; 1.1.1.34; 1.1.1.36; 1.1.1.49)	Перенос электронов от сильных восстановителей. Перенос электронов от субстратов катаболических реакций к восстановительным анаболическим реакциям. Синтез некоторых биомолекул, богатых водородом
$[H^+] + [e^-] = H$			FADH <sub>2</sub>	Дегидрогеназы (флавинозависимые) (1.3.99.1; 1.3.99.2)	Прямой перенос двух атомов водорода от субстрата к окисленной форме кофермента (окислительное дезаминирование аминокислот)
			FMNH <sub>2</sub>	Дегидрогеназы (флавинозависимые)	См. FADH <sub>2</sub>
			TPP (тиаминпирофосфат)	Трансальдолаза (2.2.1.2) Транскетолаза (2.2.1.1)	Перенос «активного альдегида» (гликольальдегид, ацетальдегид) и диоксиптильной группы



Природа группы		Кофермент	Название фермента (номер по классификации)	Функция (примеры коферментзависимых реакций)
свободная	связанная			
 <p>a) C=O b) CO<sub>2</sub> c) H</p>		Пиридоксальфосфат	Трансаминаза (аминотрансферазы) (2.6.1. 1-2.6.1.52) Декарбоксилаза (аминокислот) (4.1.1.22) Рацемизаза	Превращение α-L-аминокислот в α-кетокислоты, амины, α-D-аминокислоты
		Биотин (N-карбоксилаз)	Карбоксилаза (6.4.1.1-6.4.1.3)	Перенос двуокиси углерода. (Пируваткарбоксилаза, ацетил-CoA-карбоксилаза, пропионил-CoA-карбоксилаза)
		N <sup>10</sup> -формил-FH <sub>2</sub> (10-формил-5,6,7,8-тетрагидрофолиевая кислота)	Фосфорибозиламиноимидазолкарбоксамидформилтрансфераза (2.1.2.3)	Перенос формила. Биосинтез пуриновых нуклеотидов
		N <sup>5</sup> -формил-FH <sub>2</sub> (5-формил-5,6,7,8-тетрагидрофолиевая кислота)	Формилтрансфераза (2.1.2.6)	Перенос формила. Биосинтез пуриновых нуклеотидов
		N <sup>5,10</sup> -метилен-FH <sub>2</sub> (5,10-метилен-5,6,7,8-тетрагидрофолиевая кислота)	Фосфорибозилглицинамидформилтрансфераза (2.1.2.2)	Перенос формила. Биосинтез пуриновых нуклеотидов
		N <sup>5</sup> -формимино-FH <sub>2</sub> (5-формимино-5,6,7,8-тетрагидрофолиевая кислота)	Глутамат-формиминотрансфераза (2.1.2.5)	Перенос формиминогрупп от аминокислот (Gly, Glu)
		N <sup>5,10</sup> -метален-FH <sub>2</sub> (5,10-метилен-5,6,7,8-тетрагидрофолиевая кислота)	Тимидилатсинтетаза	Метилирование dUMP до dTMP
		N <sup>5</sup> -метил-FH <sub>2</sub> (5-метил-5,6,7,8-тетрагидрофолиевая кислота)	Метилтрансфераза	Метилирование гомоцистеина до метионина

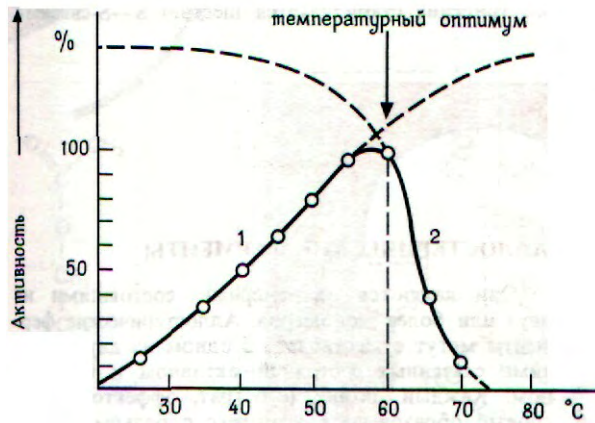
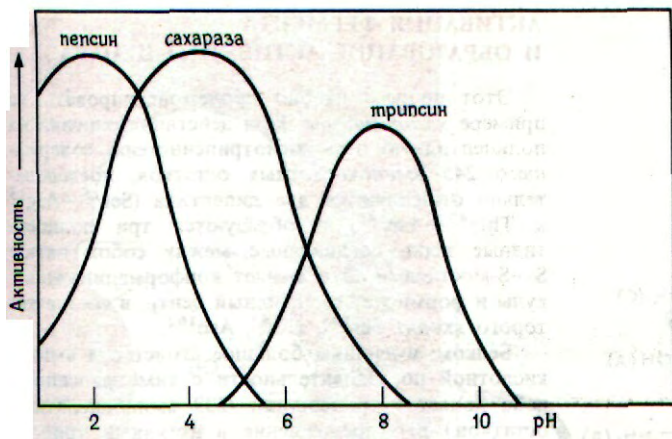
Природа группы		Кофермент	Название фермента (номер по классификации)	Функция (примеры коферментзависимых реакций)
свободная	связанная			
$[R_1-CH_3 + e^-]$		Кобамид	Метилмалонил-CoA-мутаза (5.4.99.2)	Перемещение и введение метильной группы. Изомеризация метилмалонил-CoA в сукцинил-CoA и глутаминовой кислоты в β-метиласпарагиновую
$[RCO-]$		CoA-SH (кофермент A)	Ацетилтрансферазы (от 2.3.1.1 до 2.3.1.12) Ацилтрансферазы (от 2.3.1.15 до 2.3.1.20)	Реакции карбоновых кислот (включая уксусную кислоту). Биосинтез карбоновых кислот
$[RCO- + 2e^-]$		Восстановленная S-ациллипоевая кислота	Пируватдегидрогеназа (1.2.4.1) Кетоглутаратдегидрогеназа (1.2.4.2)	Перенос ацильных остатков, образованных при декарбоксилировании α-кетокислот
$[-SO_3H]$		PAPS (фосфоаденозинфосфосульфат)	Сульфотрансфераза (от 2.8.2.1 до 2.8.15)	Перенос сульфогруппы к фенолу, стероидам, ариламину, хондроитину

Кофермент	Функция	Соответствующий витамин
Пиридоксальфосфат	Переаминирование Декарбоксилирование Рацемизация	Пиридоксин (B <sub>6</sub> )
Тиаминпирофосфат	Аэробное декарбоксилирование Перенос альдегидной группы	Тиамин (B <sub>1</sub> )
Кофермент A (CoA)	Перенос ацилов Аэробная деградация и синтез жирных кислот	Пантотеновая кислота
Тетрагидрофолиевая кислота	Перенос C <sub>1</sub> -групп	Фолиевая кислота
Биотин	Перенос CO <sub>2</sub>	Биотин (H)
NAD <sup>+</sup>	Перенос H <sup>+</sup> + e	Никотиновая кислота (ниацин) (PP)
NADP <sup>+</sup>	Перенос H <sup>+</sup> + e	Никотиновая кислота (PP)
FMN	Перенос H <sup>+</sup> + e	Рибофлавин (B <sub>2</sub> )
FAD	Перенос H <sup>+</sup> + e	Рибофлавин (B <sub>2</sub> )

## КОФЕРМЕНТЫ И СООТВЕТСТВУЮЩИЕ ИМ ВИТАМИНЫ

Одной из характерных черт коферментов является то, что высшие организмы не могут их синтезировать, и поэтому коферменты должны поступать в организм с пищей. Поскольку единственной их функцией является участие в катализе, ежедневная потребность в них мала (для человека несколько миллиграммов в день).

Витамины, поступающие в организм человека с пищей, в большинстве случаев идентичны коферментам или структурно близки им. Это говорит о важной роли витаминов в физиологии питания. Недостаточное снабжение организма витаминами может вызывать такие нарушения метаболизма, как гиповитаминозы и авитаминозы.



## ВЛИЯНИЕ pH НА ФЕРМЕНТАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ

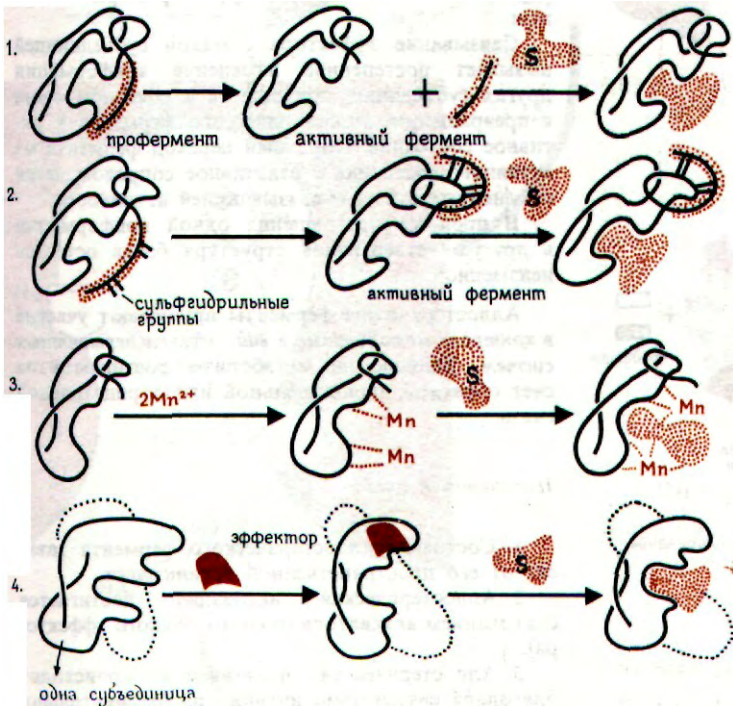
Большинство ферментов характерным образом изменяет свою активность в зависимости от pH. Оптимальной активности соответствует определенная область pH, причем уменьшение и увеличение pH приводит к снижению активности. Для различных реакций значения оптимума pH колеблются в широких пределах от сильно кислой среды (например, для пепсина) до сильно щелочной (например, для щелочной фосфатазы). Поэтому при работе с ферментами необходимо поддерживать pH с помощью соответствующего буфера.

Зависимость ферментативной активности от pH определяется значениями pK ионизирующихся групп белковой молекулы, особенно тех, которые находятся в активном центре или вблизи него (и, возможно, играют роль в связывании кофермента), а также групп, ответственных за изменения состояния активного центра путем конформационных изменений белковой молекулы. Кроме того, pH может влиять на степень ионизации или пространственную организацию субстрата (в том числе, если субстрат является белком). Наиболее резко выражены отличия в оптимуме pH для ферментов пищеварительного тракта.

## ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА ФЕРМЕНТАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ

Температура всегда влияет на скорость реакции. В пределах физиологических условий скорость реакции растет с увеличением температуры (1), но выше определенной температуры начинается тепловая инактивация белковой молекулы (2). Эти два явления и объясняют появление температурного оптимума реакции.

Не все ферменты одинаково меняют свою активность с изменением температуры. Это свойство можно использовать для разделения некоторых специфических ферментов. В активность смеси ферментов, определенной при сравнительно низкой температуре, вносят вклад все ферменты; при повышенной температуре активность смеси ферментов определяется наиболее термостабильными ферментами.

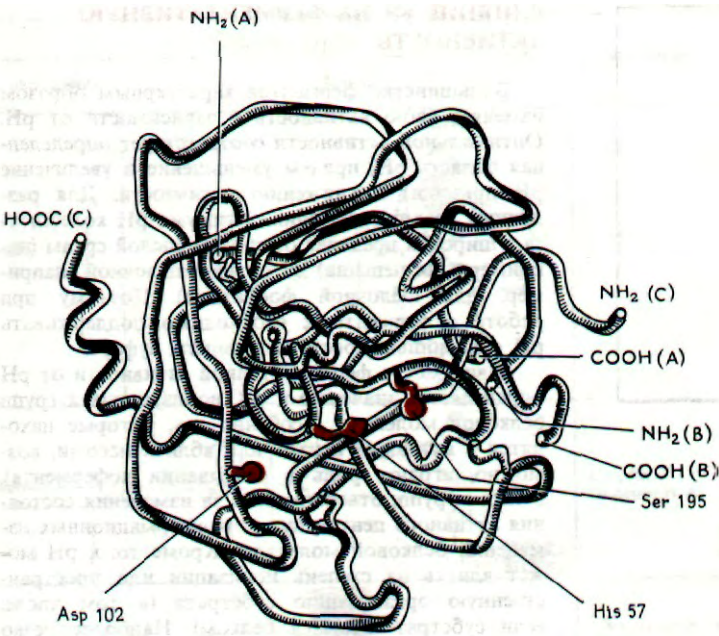


## АКТИВАЦИЯ ФЕРМЕНТОВ

Процесс активации идет одним из четырех путей:

- 1) отщепление олигопептида от профермента;
- 2) образование S—S-связей, делающее доступным активный центр;
- 3) образование комплекса с ионами металлов;
- 4) аллостерическая активация.





## АКТИВАЦИЯ ФЕРМЕНТА И ОБРАЗОВАНИЕ АКТИВНОГО ЦЕНТРА

Этот процесс удобно продемонстрировать на примере *химотрипсина*. При действии трипсина на полипептидную цепь химотрипсиногена, содержащего 245 аминокислотных остатков, последовательно отщепляются два дипептида ( $\text{Ser}^{14}-\text{Arg}^{15}$  и  $\text{Thr}^{147}-\text{Asn}^{148}$ ) и образуются три полипептидные цепи, соединенные между собой пятью S—S-мостиками. Это меняет конформацию молекулы и формирует ее активный центр, в состав которого входят  $\text{Ser}^{195}$ ,  $\text{His}^{57}$ ,  $\text{Asp}^{102}$ .

Белком, имеющим большое сходство в аминокислотной последовательности с химотрипсиногеном, является трипсиноген (239 аминокислотных остатков.) Его превращение в активный трипсин происходит при отщеплении гексапептида от N-конца молекулы. Конформация полипептидной цепи трипсина стабилизируется шестью S—S-связями.

## АЛЛОСТЕРИЧЕСКИЕ ФЕРМЕНТЫ

Они являются олигомерами, состоящими из двух или более мономеров. Аллостерические ферменты могут существовать в одном из двух обратимо связанных состояний - активном и неактивном. Каждый лиганд (субстрат, эффектор), способный образовывать комплекс с белком, может связываться с каждой субъединицей - субстрат в активном центре, эффектор в регуляторном.

Связывание эффектора с одной субъединицей вызывает постепенное изменение конформации других субъединиц, приводящее в конечном счете к превращению аллостерического фермента в активное состояние. Обратный переход фермента из активного состояния в неактивное сопровождается изменением субстрат-связывающей активности.

В процессе превращения одной конформации в другую четвертичная структура белка остается неизменной.

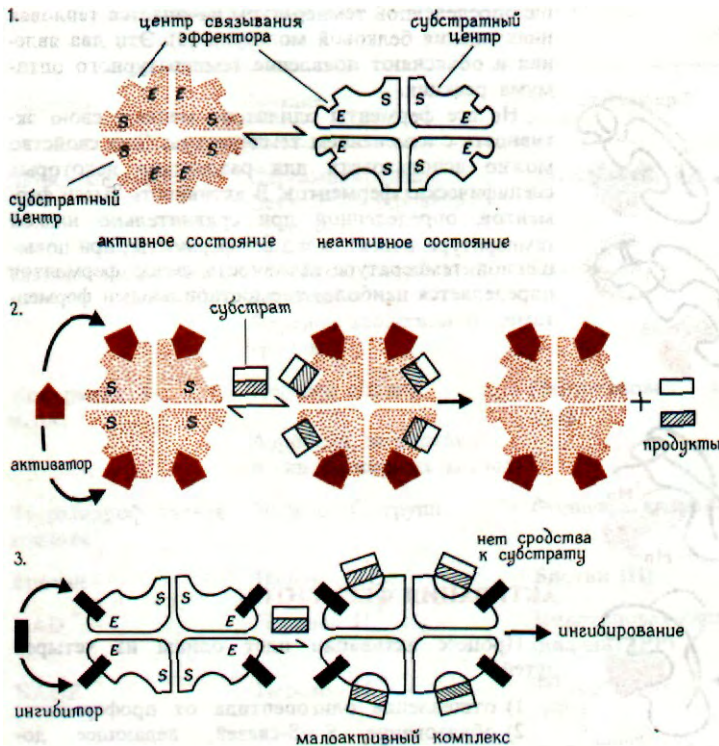
Аллостерические ферменты принимают участие в контроле метаболизма в виде мультиферментных систем. Влияние на метаболизм достигается за счет обратной, положительной или отрицательной связи.

### Пояснения к схеме

1. Состояния аллостерического фермента зависят от его пространственной организации.

2. Аллостерическая активация достигается связыванием активатора (положительного эффектора).

3. Аллостерическая инактивация происходит благодаря связыванию ингибитора (отрицательного эффектора).



## МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ФЕРМЕНТА РАСЩЕПЛЕНИЕ АЦЕТИЛХОЛИНА ХОЛИНЭСТЕРАЗОЙ

Активный центр фермента состоит из двух функционально важных и пространственно разделенных мест:

1) связывающей области, куда входит  $\text{COO}^-$  группа, электростатически взаимодействующая с положительно заряженным азотом  $\text{N}^+$  субстрата;

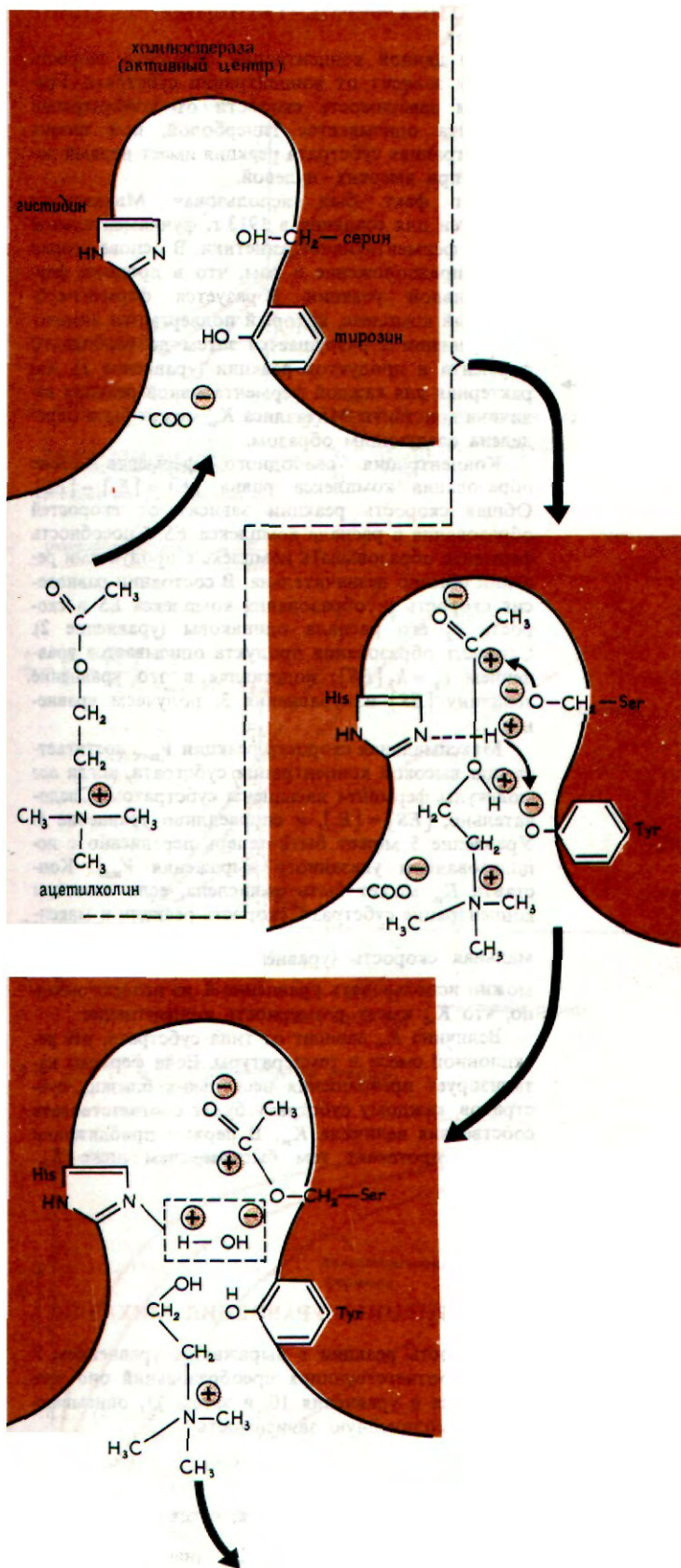
2) каталитической области, ответственной за эстеразную активность фермента, в которую входят Ser, His, Tyr.

Ацетилхолин является субстратом, он связывается в активном центре определенным образом за счет образования ионной связи между отрицательно заряженной  $\text{COO}^-$  группой и положительно заряженным четвертичным атомом азота  $>\text{N}^+$  субстрата.

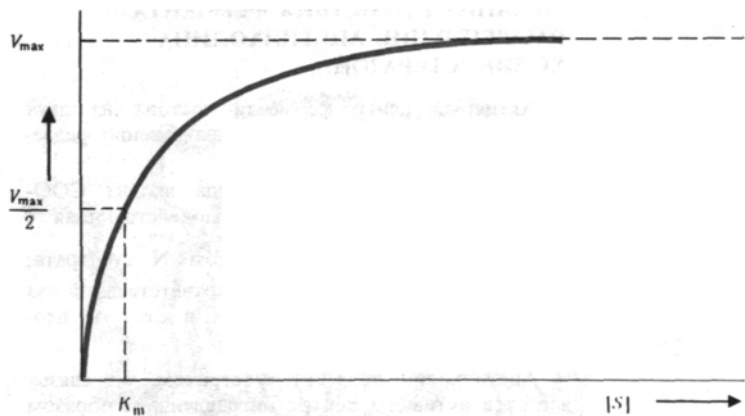
В процессе реакции протон гидроксильной группы тирозина активного центра связывается с атомом кислорода ацетилхолина (будущая спиртовая группа продукта реакции - холина). В результате увеличивается положительный заряд на углеродном атоме ацетильной группы субстрата, который атакуется отрицательно заряженным кислородным атомом белка, появившемся в результате диссоциации спиртовой группы серина активного центра. Связь между С (ацетила) и О (холина) разрывается с образованием в качестве промежуточного соединения ацетилсерина. Отщепляющийся от серина протон связывается кислородным атомом диссоциированной гидроксильной группы тирозина, и первоначальное состояние тирозина в активном центре восстанавливается. Гидролиз ацетилсерина начинается с диссоциации молекулы воды за счет взаимодействия протона с имидазольным кольцом гистидина активного центра. Освободившийся гидроксил атакует сложноэфирную связь ацетилсерина. Результатом гидролиза является освобождение уксусной кислоты.  $\text{H}^+$ , временно связанный с азотом имидазольной группы His, освобождается и вновь связывается с  $\text{O}^-$  Ser. Так восстанавливается исходное состояние всех трех аминокислотных остатков активного центра. Образовавшиеся холин и уксусная кислота освобождаются из активного центра за счет диффузии.

Все описанные выше процессы протекают более или менее одновременно. Гидролиз ацетилхолина происходит благодаря согласованному действию всех функциональных групп активного центра.

Течение реакции определяется расстояниями между отдельными участками активного центра. Модельные опыты, проведенные с аналогами субстратов, показывают, что реакция протекает наиболее благоприятно, если основная группа гистидина находится на расстоянии 0,5 нм от  $\text{COO}^-$  и если тирозин расположен в 0,25 нм от боковой цепи серина. Это еще раз доказывает важность конформации активного центра для проявления активности.







## КИНЕТИКА ФЕРМЕНТАТИВНЫХ РЕАКЦИЙ

При данной концентрации фермента скорость реакции зависит от концентрации субстрата. Графически зависимость скорости от концентрации субстрата описывается гиперболой, при низких концентрациях субстрата реакция имеет первый порядок, при высоких - нулевой.

Этот факт был использован Михаэлисом и Ментен для создания в 1913 г. фундаментальной теории ферментативной кинетики. В основе теории лежит предположение о том, что в процессе ферментативной реакции образуется фермент-субстратный комплекс, который подвергается химической реакции и разрушается затем до свободного фермента и продуктов реакции (уравнение 1). Характерная для каждой ферментативной реакции величина константы Михаэлиса  $K_m$  может быть определена следующим образом.

Концентрация свободного фермента после образования комплекса равна  $[E] = [E_t] - [ES]$ . Общая скорость реакции зависит от скорости образования и распада комплекса  $ES$ . Способность фермента образовывать комплекс с продуктами реакции обычно незначительна. В состоянии равновесия скорость  $v_1$  образования комплекса  $ES$  и скорость  $v_2$  его распада одинаковы (уравнение 2). Скорость образования продукта описывается уравнением  $v_1 = k_2[ES]$ ; подставляя в это уравнение величину  $[ES]$  из уравнения 3, получаем уравнение 5.

Максимальная скорость реакции  $V_{max}$  достигается при высокой концентрации субстрата, когда все молекулы фермента насыщены субстратом. Следовательно,  $[ES] = [E_t]$ , и справедливо уравнение 6. Уравнение 5 может быть теперь переписано с использованием указанного выражения  $V_{max}$ . Константа  $K_m$  может быть вычислена, если известны концентрация субстрата, скорость реакции и макси-

имальная скорость (уравнение 7). Если  $v = V_{max}/2$ , можно использовать уравнение 8, из которого видно, что  $K_m$  имеет размерность концентрации.

Величина  $K_m$  зависит от типа субстрата, pH реакционной смеси и температуры. Если фермент катализирует превращения нескольких близких субстратов, каждому субстрату будет соответствовать собственная величина  $K_m$ . В первом приближении реакция протекает тем быстрее, чем ниже  $K_m$ .

## ЛИНЕАРИЗАЦИЯ УРАВНЕНИЯ МИХАЭЛИСА

Скорость реакции  $v$  выражается уравнением 9. После соответствующих преобразований оно превращается в уравнения 10, и затем 11, описывающее прямолинейную зависимость

$$y = a + bx,$$

где  $y = 1/v$ ,  $a = 1/V_{max}$  (отрезок, отсекаемый прямой на оси ординат);  $b = K_m/V_{max}$  (наклон прямой);  $x = 1/[S]$ .



$$v_1 = k_1 [S] ([E] - [ES])$$

$$v_2 = k_2 [ES] + k_{-1} [ES]$$

$$2. k_1 ([E_t] - [ES]) [S] = k_2 [ES] + k_{-1} [ES]$$

$$3. \frac{([E_t] - [ES]) [S]}{[ES]} = \frac{k_2 + k_{-1}}{k_1} = K_m$$

$$4. [ES] = \frac{[E_t] \cdot [S]}{K_m + [S]}$$

$$5. v = \frac{k_2 [E_t] [S]}{K_m + [S]} = \frac{V_{max} [S]}{K_m + [S]}$$

$$6. V_{max} = k_2 [ES] = k_2 E_t$$

$$7. K_m = [S] \left( \frac{V_{max}}{v} - 1 \right)$$

$$8. K_m = [S]$$

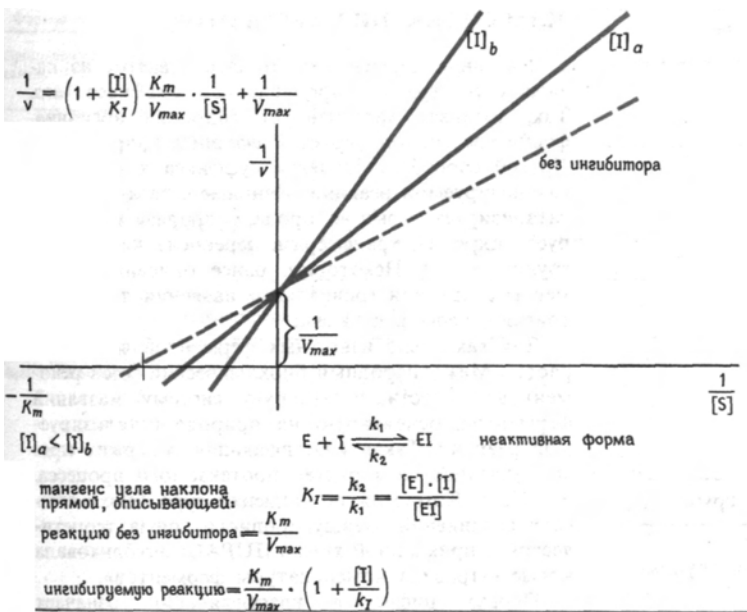
$$9. v = V_{max} \frac{[S]}{[S] + K_m}$$

$$10. \frac{1}{v} = \frac{K_m + [S]}{V_{max} [S]} = \frac{K_m}{V_{max} [S]} + \frac{[S]}{V_{max} [S]}$$

$$11. \frac{1}{v} = \frac{1}{V_{max}} + \frac{K_m}{V_{max}} \cdot \frac{1}{[S]}$$

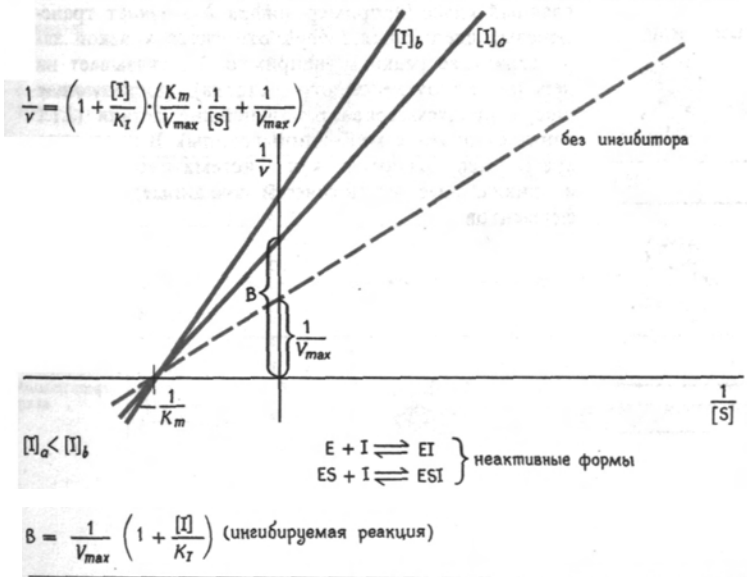
## КОНКУРЕНТНОЕ ИНГИБИРОВАНИЕ

Такое ингибирование обратимо и активность фермента может быть восстановлена добавлением высоких концентраций субстрата. Конкурентное ингибирование вызывается соединениями с меньшей, чем у субстрата, специфичностью к связывающей области фермента, в результате чего они могут связываться, но не обязательно подвергаться химическому превращению. Скорость реакции зависит от соотношения концентраций ингибитора и субстрата и их относительного сродства к ферменту. Кажущаяся величина  $K_m$  в присутствии конкурентных ингибиторов увеличивается.



## НЕКОНКУРЕНТНОЕ ИНГИБИРОВАНИЕ

Такое ингибирование не может обратиться избытком субстрата. Ингибитор связывается в ином месте, нежели субстрат и структурно отличается от субстрата. Скорость реакции зависит от концентрации ингибитора и от константы ингибирования  $K_i$ . Кажущаяся величина  $V_{max}$  уменьшается с ростом  $\left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)$ .



## АЛЛОСТЕРИЧЕСКОЕ ИНГИБИРОВАНИЕ

Оно может быть как обратимым, так и необратимым. Аллостерическое ингибирование вызывается связыванием отрицательного эффектора (ингибитора) по месту (регуляторный центр), отличному от активного центра. Такой аллостерический ингибитор часто является конечным продуктом действия мультиферментных систем. Зависимость скорости реакции от концентрации субстрата и ингибитора не проста и не может быть выражена через изменение  $K_m$ . Это связано с тем фактом, что зависимость начальной скорости от концентрации субстрата для аллостерических ферментов обычно имеет S-образный характер.



Класс	Подгруппа	Катализируемая реакция
1. Оксидоредуктазы	Гидрогенизация и дегидрогенизация	1.1 $\begin{array}{c}   \\ -\text{CH}-\text{OH} \\   \end{array}$ 1.2 $\begin{array}{c}   \\ -\text{C}=\text{O} \\   \end{array}$ 1.3 $\begin{array}{c}   \\ -\text{CH}=\text{CH}- \\   \end{array}$ 1.4 $\begin{array}{c}   \\ -\text{CH}-\text{NH}_2 \\   \end{array}$ 1.5 $\begin{array}{c}   \\ -\text{CH}-\text{NH}- \\   \end{array}$ 1.6 NADH, NADPH
2. Трансферазы	Перенос функциональных групп	2.1 Одноуглеродных остатков 2.2 Альдегидной или кетонной группы 2.3 Ацила 2.4 Гликозила 2.5 Алкильной (но не метила) или арильной группы 2.6 Азотсодержащей группы 2.7 Фосфорсодержащей группы 2.8 Серосодержащей группы
3. Гидролазы	Гидролитические реакции	3.1 Сложных эфиров 3.2 Гликозидов 3.3 Простых эфиров 3.4 Пептидов 3.5 Других C—N-связей 3.6 Ангидридов кислот
4. Лиазы	Присоединение по двойной связи	4.1 $\begin{array}{c}   \\ -\text{C}=\text{C}- \\   \end{array}$ 4.2 $\begin{array}{c}   \\ -\text{C}=\text{O} \\   \end{array}$ 4.3 $\begin{array}{c}   \\ -\text{C}=\text{N}- \\   \end{array}$
5. Изомеразы	Изомеризация	5.1 Рацемазы и эпимиразы 5.2 <i>цис-транс</i> -Изомеразы 5.3 Внутримолекулярные оксидоредуктазы 5.4 Внутримолекулярные трансферазы
6. Лигазы	Образование связей с использованием АТФ	6.1 $\begin{array}{c} > \\ > \text{C}=\text{O} \\   \end{array}$ 6.2 $\begin{array}{c}   \\ -\text{C}-\text{S}- \\   \end{array}$ 6.3 $\begin{array}{c} > \\ > \text{C}=\text{N}=\end{array}$ 6.4 $\begin{array}{c}   \\ -\text{C}-\text{C}- \\   \end{array}$

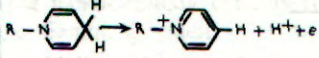
## КЛАССИФИКАЦИЯ ФЕРМЕНТОВ

Название фермента часто складывается из названия субстрата с прибавлением суффикса *-аза*. Так, аргиназа катализирует гидролиз аргинина, фосфатаза гидролизует фосфорные эфиры и т.д. Другой способ - добавление суффикса к названию катализируемой реакции. Например, дегидрогеназа катализирует отрыв водорода, гидролаза катализирует гидролиз, трансфераза переносит химические группы и т.д. Некоторые, ранее описанные ферменты сохранили тривиальные названия, такие, как трипсин, пепсин, каталаза.

Так как число известных ферментов все время растет, Международный биохимический союз рекомендовал ввести десятичную систему названий ферментов, основанную на природе катализируемой реакции. Такая классификация содержит прямое указание на характер протекаемого процесса. В 1972 г. Комиссия по номенклатуре биохимических соединений Международного союза теоретической и прикладной химии (IUPAC) опубликовала новые «Правила номенклатуры ферментов».

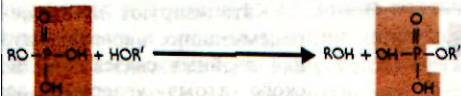


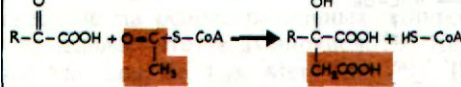
Первая цифра в классификации означает главный класс (например, цифра 2 означает трансферазы), следующая цифра относится к некой характеристике реакции (например, 2.1 указывает на перенос одноуглеродного остатка), последующая цифра предусматривает дальнейшие детали (2.1.1 означает перенос металльной группы). В настоящее время используются как систематические, так и тривиальные (но логически созданные) названия ферментов.



Фермент	Тип окисления	Основная реакция
Сукцинатдегидрогеназа	-C=C-образование	$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{COOH} \\   \\ \text{CH}_2\text{COOH} \end{array} \longrightarrow \begin{array}{c} \text{CHCOOH} \\    \\ \text{CHCOOH} \end{array} + 2\text{H}$
Алкогольдегидрогеназа	Спирт в альдегид	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} \longrightarrow \text{CH}_3\text{C} \begin{array}{l} \text{O} \\ // \\ \text{H} \end{array} + 2\text{H}$
Альдегиддегидрогеназа	Альдегид в кислоту	$\text{CH}_3\text{C} \begin{array}{l} \text{O} \\ // \\ \text{H} \end{array} + \text{H}_2\text{O} \longrightarrow \text{CH}_3\text{C} \begin{array}{l} \text{OH} \\   \\ \text{O}-\text{H} \end{array} \longrightarrow \text{CH}_3\text{C} \begin{array}{l} \text{OH} \\ // \\ \text{O} \end{array} + 2\text{H}$
Цитохромоксидаза	Ферро-феррипорфирин	$\text{R}-\text{Fe}^{\text{II}} \longrightarrow \text{R}-\text{Fe}^{\text{III}} + e$
NADH (или NADPH) дегидрогеназы	Дигидропиридин в пиридин	

## ОКСИДОРЕДУКТАЗЫ

Существует несколько типов окислительно-восстановительных ферментативных реакций. Ферменты этого типа переносят *водород или электроны* и катализируют биологическое окисление. В их состав входят специфические коферменты. Они подразделяются в соответствии с донором, от которого переносится водород или электрон, или в соответствии с акцептором, к которому идет перенос.

Фермент	Переносимая группа	Основная реакция
фосфотрансфераза	Фосфорил -H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	
Аминотрансфераза	Амино -NH <sub>2</sub>	
Сульфотрансфераза	Сульфурил -SO <sub>3</sub> H	
Ацилтрансфераза	Ацетил, сукцинил, аминоацил	

## ТРАНСФЕРАЗЫ

Переносят *группы атомов* с помощью специфических переносчиков, которые действуют как коферменты. Они играют роль в биохимических превращениях и могут переносить метильные, карбоксильные, amino-, сульфо-, формильные (C<sub>1</sub>) или фосфорильные группы.

Фермент	Субстрат	Атакуемая связь	Основная реакция
Пептидазы	Белки Пептиды	Пептидная	$\text{R}-\text{C} \begin{array}{l} \text{O} \\ // \\ \text{NH}-\text{CH}_2\text{R}' \end{array} + \text{H}_2\text{O} \longrightarrow \text{RCOOH} + \text{NH}_2\text{CH}_2\text{R}'$
Гликозид-гидролазы	Полисахариды, дисахариды	Гликозидная	
Эстеразы, липазы	Нейтральные липиды, фосфолипиды	Эфирная	$\text{R}-\text{C} \begin{array}{l} \text{O} \\ // \\ \text{O}-\text{CH}_2\text{R}' \end{array} + \text{H}_2\text{O} \longrightarrow \text{RCOOH} + \text{HOCH}_2\text{R}'$
Фосфо-диэстеразы	Полинуклеотиды	Фосфодиэфирная	
Фосфатазы	Эфиры фосфорной кислоты	Фосфомоноэфирная	

## ГИДРОЛАЗЫ

Катализируют *гидролитическое расщепление* и называются в соответствии с типом разрываемой связи (гликозидазы, эстеразы и т.д.).

Фермент	Уходящая группа	Основная реакция
Декарбоксилаза	CO <sub>2</sub>	$\text{RC}-\text{COOH} \longrightarrow \text{RCH} + \text{CO}_2$
Альдолаза	Альдегид $\text{C}=\text{O}$	$-\text{C}^5-\text{C}^4-\text{C}^3-\text{C}^2-\text{C}^1-\text{O}-\text{P} \rightleftharpoons -\text{C}^5-\text{C}^4=\text{O} + \text{C}^3-\text{C}^2-\text{C}^1-\text{O}-\text{P}$
Лиаза или синтаза для обратимых процессов	Кетокислота	$\text{HOOCCH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{COOH} \rightleftharpoons \text{HC}(\text{O})\text{COOH} + \text{HOOCCH}_2\text{COOH}$
Дегидратаза	H <sub>2</sub> O	$\text{RCH}_2\text{CHR}' \rightleftharpoons \text{RCH}=\text{CHR}' + \text{H}_2\text{O}$
Дезаминаза	NH <sub>3</sub>	$\text{RCH}_2\text{CHR}' \rightleftharpoons \text{RCH}=\text{CHR}' + \text{NH}_3$

где  $\text{P} = \begin{array}{c} \text{O}^- \\ | \\ \text{P} \\ | \\ \text{OH} \end{array}$

## ЛИАЗЫ

Отщепляют группы от молекулы субстрата *негидролитически*: они также образуют двойные связи или присоединяют группы по двойным связям. Они могут отщеплять CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O, NH<sub>3</sub> и более сложные группы.

Фермент	Изомеризующаяся группа	Возможные положения группы	Основная реакция
Глюкозо-6-фосфатизомераза	Карбонил	C-1 ↔ C-2	$\text{P}-\text{O}-\text{C}^6-\text{C}^5-\text{C}^4-\text{C}^3-\text{C}^2-\text{C}^1=\text{O} \rightleftharpoons \text{P}-\text{O}-\text{C}-\text{C}-\text{C}-\text{C}-\text{C}=\text{O}-\text{C}^1$
Фосфоглицерат-фосфомутаза	Фосфорил	C-2 ↔ C-3	$\text{HOCH}_2-\text{HCOOH} \rightleftharpoons \text{H}_2\text{C}(\text{OH})-\text{COOH}$
Рацемаза	Гидроксил или водород	D ↔ L	$\begin{array}{c} \text{R}'' \\   \\ \text{HO}-\text{C}-\text{H} \\   \\ \text{R}' \end{array} \rightleftharpoons \begin{array}{c} \text{R}'' \\   \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\   \\ \text{R}' \end{array}$

## ИЗОМЕРАЗЫ

Катализируют *превращения изомеров*, включая рацемизацию, *цис-транс*-изомеризацию, перемещение двойных связей, обмен групп у асимметрического атома углерода, перемещение фосфатной группы к другому атому углерода и т.д.

Фермент	образующаяся связь	Пример
Аминоацил-тРНК-синтаза	C-O	Активация аминокислот - белковый синтез
Глутаминсинтаза	C-N	Биосинтез глутамина
Лигаза аминокислот	C-N	Синтез белка
Ацетил-СоА-карбоксилаза	C-C	Синтез жирных кислот (образование малонил-СоА)

## ЛИГАЗЫ

Являются ферментами, *синтезирующими связи* с помощью макроэргических фосфоангидридных соединений. В качестве таких компонентов может выступать АТФ или другое макроэргическое соединение, а также биотин в процессах ферментативного карбоксилирования.

# IV

Аминокислоты являются важнейшими субстратами метаболизма азота в гетеротрофных организмах. От аминокислот берут начало белки, ферменты, пуриновые и пиримидиновые основания (и нуклеиновые кислоты), пиррольные производные (порфирины), биологически активные соединения пептидной природы (гормоны), а также ряд других соединений. При необходимости аминокислоты могут служить источником энергии, главным образом за счет окисления их углеродного скелета.

В живых организмах аминокислоты образуют пул, величина которого во взрослом состоянии остается в физиологических условиях постоянной. Она соответствует разнице между поступлением аминокислот извне или иногда из эндогенных источников, и расходом аминокислот, служащих субстратами в анаболических и катаболических процессах. Живые организмы не запасают аминокислоты и белки впрок, поэтому необходимое количество азота (лучше в форме аминокислот) должно поступать с пищей. Во взрослом организме в физиологических условиях количество поступающего и выводящегося азота одинаково (азотное равновесие). Аминокислоты из экзогенных источников (из пищи) всасываются в пищеварительном тракте и переносятся кровью в печень и другие ткани и органы, где они далее используются. Кроме того, источником аминокислот (эндогенный источник) могут служить тканевые белки организма, которые постоянно подвергаются метаболизму с освобождением входящих в них аминокислот. Эти аминокислоты используются для синтеза новых белков лишь в малой степени, однако эндогенные источники очень важны, поскольку они обеспечивают около двух третей всего пула аминокислот, и только одна треть аминокислот поступает из пищи. Это было показано изучением обращения тканевых белков с помощью изотопов. Скорость распада и синтеза индивидуальных белков (выраженная в биологическом полупериоде) различна для разных тканей одного и того же организма. Так, биологический полупериод белков печени и плазмы крови составляет 10 сут, белков слизистой оболочки кишечника - всего лишь несколько суток, а полупериод гормонов белковой природы и ферментов - только часы или минуты (для инсулина 6-9 мин). В среднем полупериод распада белка в организме человека, как было вычислено на основе различных данных, составляет 80 сут.

*Незаменимые аминокислоты* - это те аминокислоты, которые не могут синтезироваться данным организмом. Для человека это Val, Leu, Ile, Lys, Met, Thr, Phe, Trp и, в определенных условиях, также Arg и His. Использование аминокислот как блоков для белкового синтеза описано в гл. XIII, а их роль как субстратов для синтеза других биологически активных соединений обсуждается в гл. VIII.

Превращения углеродного скелета аминокислот в аэробных условиях приводит к соединениям, которые далее включаются в цикл лимонной кислоты и подвергаются там дальнейшему окислению. Этот процесс требует предварительного удаления аминогруппы. Чаще всего это достигается *перееаминованием*, в ходе которого аминогруппа аминокислоты переносится на  $\alpha$ -кетоглутаровую кислоту, которая в результате превращается в глутаминовую кислоту. Затем специфическими дегидрогеназами глутаминовая кислота дезаминируется до  $\alpha$ -кетоглутаровой кислоты и  $\text{NH}_3$ . *Аэробное дезаминирование* аминокислот неспецифическими оксидазами (кроме случая лизина) не является типичным для человека.

Перееаминование аминокислот также является важным связующим звеном между метаболизмом аминокислот (белков) и сахаров. В этот процесс вовлечены заменимые гликогенные аминокислоты, которые превращаются в гликоген за счет глюконеогенеза через ряд промежуточных соединений цикла лимонной кислоты. Углеродные атомы аминокислот могут включаться в цикл лимонной кислоты пятью возможными путями в виде: а) ацетил-СоА, б)  $\alpha$ -кетоглутаровой кислоты, в) сукцинил-СоА, г) фумаровой кислоты, д) оксалоацетата.

а. Аминокислоты, входящие в цикл лимонной кислоты в виде ацетил-СоА, делятся на две группы. Из Cys, Gly, Ser и Thr образуется ацетил-СоА через пируват (гликогенные аминокислоты), а из Leu, Lys, Phe, Trp и Trp образуется ацетил-СоА через ацетоацетил-СоА (кетогенные аминокислоты).

б. Аминокислоты Pro, His, Arg, Glu и Gln включаются через  $\alpha$ -кетоглутарат.

в. Met, Ile и Val включаются через сукцинил-СоА.

г. Четыре углеродных атома Phe и Trp включаются через фумарат.

д. Asn и Asp включаются через оксалоацетат.

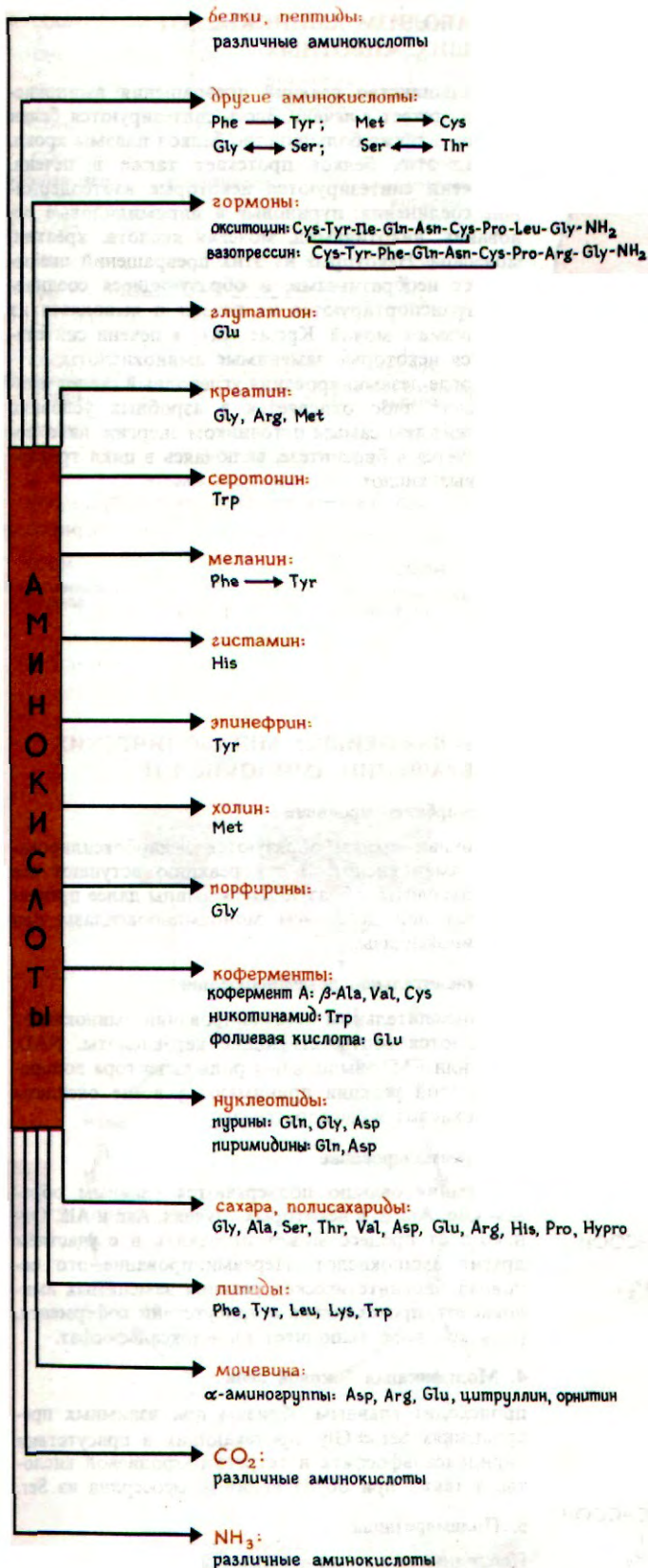
*Аммиак* образуется при *дезаминировании* аминокислот. Он токсичен для организма и выводится в виде различных соединений. У человека, других млекопитающих, а также у пластиножаберных рыб конечным продуктом является *мочевина*, у птиц и пресмыкающихся - *мочевая кислота* и у костистых рыб конечный продукт -  $\text{NH}_3$  (образующийся деградацией глутамина). Только беспозвоночные могут выделять аммиак как таковой в окружающую среду.

*Мочевина* образуется в результате процесса, который получил название *цикла мочевины (орнитина)*. Для биосинтеза мочевины требуются две молекулы аммиака (одна для образования карбамоилфосфата, а другая для образования аспарагиновой кислоты). Источником аммиака для первой реакции служит окислительное дезаминирование глутаминовой кислоты; для второй реакции используется аммиак из аспарагиновой кислоты, которая образуется из глутаминовой кислоты при переносе аминогруппы на оксалоацетат. Обе реакции протекают в матриксе митохондрий клеток печени. Глутаминовая кислота проникает в митохондрии из цитоплазмы с помощью специфического переносчика. В цитоплазме находится предшественник глутаминовой кислоты -  $\alpha$ -кетоглутаровая кислота, являющаяся основным акцептором аминогрупп, переносимых от ряда аминокислот в реакции переаминирования. Реакцией орнитина с карбамоилфосфатом образуется цитруллин, который затем с участием аспарагиновой кислоты превращается в аргинин. Аргинин отщепляет молекулу мочевины под действием аргиназы с образованием орнитина, замыкая, таким образом, цикл. В целом цикл является эндогенным процессом и требует три молекулы АТФ (две для образования карбамоилфосфата и одну для реакции цитруллина с аспарагиновой кислотой). Цикл мочевины происходит в печени.

*Декарбоксилирование* аминокислот - это процесс, который у высших организмов особенно интенсивно происходит после смерти. Такие биогенные амины, как кадаверин и путресцин, образуются соответственно из лизина и орнитина. В живых организмах аминокислоты декарбоксилируются под действием микробных декарбоксилаз (например, в толстой кишке).

Врожденное отсутствие некоторых ферментов, катализирующих метаболизм аминокислот, или снижение их активности вызывает так называемые *врожденные нарушения обмена*. Эти пороки метаболизма связаны с чрезмерным накоплением и выделением промежуточных соединений нормального превращения аминокислот (например, фенилпировата, гомогентизиновой кислоты, *n*-оксифенилпировата).





## ОСНОВНЫЕ ПУТИ МЕТАБОЛИЗМА АМИНОКИСЛОТ

Белки синтезируются из аминокислот. Тирозин образуется окислением фенилаланина. Met превращается в гомоцистеин путем переноса метильной группы. Ser превращается в Gly, и наоборот, отщеплением или присоединением активного формила (с участием тетрагидрофолиевой кислоты и пиридоксальфосфата).

Окситоцин и вазопрессин - это циклические пептиды с гормональным действием.

Глутамин - это трипептид γ-глутамилцистеинилглицин.

Креатин образуется реакцией Arg с Gly и метилированием промежуточного продукта - гуанидин-ацетата.

Серотонин получается гидроксированием Trp с последующим декарбоксилированием образующегося 5-OH-Trp.

Меланин образуется за счет превращения Tyr.

Гистамин образуется декарбоксилированием His декарбоксилазой в присутствии пиридоксаль-5-фосфата.

Адреналин (эпинефрин) - гормон, образующийся при метаболизме Tyr.

Холин образуется метилированием этанол-амина, при этом Met является донором «активных» CH<sub>3</sub>.

Биосинтез порфириногена начинается с реакции янтарной кислоты с Gly.

Фолиевая кислота (птероилглутаминовая кислота) синтезируется из птеридина, β-аминобензоата и Glu.

Кофермент А образуется из аденозин-3',5'-дифосфата и пантотеинфосфата. Пантотеновая кислота образуется из пантовой кислоты (α,γ-диокси-β,β-диметилмасляной кислоты) и β-аланина.

Никотинамидмононуклеотид (NMN) образуется из никотиновой кислоты, являющейся одним из главных продуктов превращения Trp.

Синтез пуринов связан с метаболизмом аминокислоты Gly. Создание пуриновых оснований начинается с модификации рибозо-5-Р. Первая стадия биосинтеза пиримидинов заключается в реакции Asp с карбамоилфосфатом. Молекула аспарагиновой кислоты образует существенную часть скелета пуриновых и пиримидиновых ядер.

Сахариды образуются из гликогенных аминокислот, метаболизм которых заканчивается образованием пирувата, либо в процессе глюконеогенеза из некоторых метаболитов цикла лимонной кислоты.

Ацетил-СоА используется в синтезе жирных кислот, которые образуются при деградации некоторых аминокислот.

Мочевина - конечный продукт распада аминокислот (см. цикл мочевины).

CO<sub>2</sub> выделяется при декарбоксилировании аминокислот до аминов (в присутствии пиридоксальфосфата).

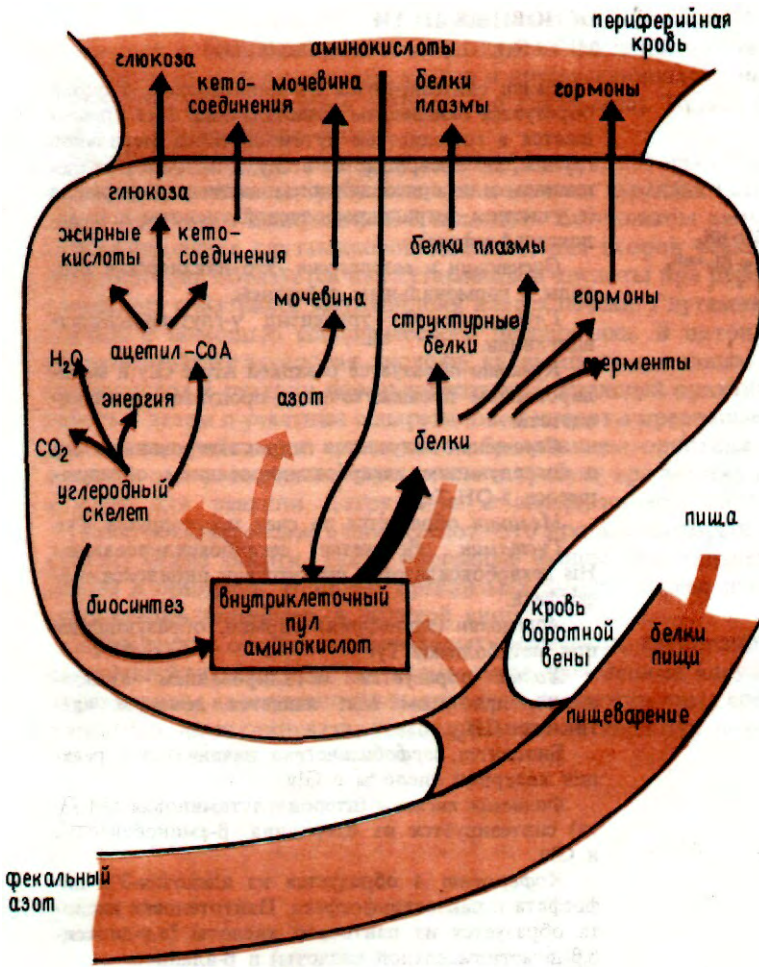
Аммиак образуется при аэробном дезаминировании всех аминокислот. В этом процессе принимают участие оксидазы.



## МЕТАБОЛИЗМ АМИНОКИСЛОТ ВЫСШИХ ЖИВОТНЫХ

Большинство реакций превращения аминокислот протекает в печени. Здесь синтезируются белки печени, а также большинство белков плазмы крови. Распад этих белков протекает также в печени. В печени синтезируются некоторые азотсодержащие соединения: пуриновые и пиримидиновые основания, никотинамид, мочевая кислота, креатин, мочевины. Некоторые из этих превращений оказываются необратимыми, и образующиеся соединения транспортируются из печени и выводятся из организма с мочой. Кроме того, в печени синтезируются некоторые заменимые аминокислоты.

После дезаминирования углеродный скелет аминокислот либо окисляется в аэробных условиях и служит тем самым источником энергии, либо используется в биосинтезе, включаясь в цикл трикарбоновых кислот.



## ПЯТЬ ВАЖНЕЙШИХ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ПРЕВРАЩЕНИЙ АМИНОКИСЛОТ

### 1. Декарбоксилирование

Первичные амины образуются декарбоксилированием аминокислот. В эту реакцию вступают все аминокислоты; образующиеся амины далее превращаются под действием моноаминоксидазы или диаминоксидазы.

### 2. Окислительное дезаминирование

При окислительном дезаминировании аминокислот образуются соответствующие кетокислоты. NAD, FAD или FMN выполняют роль акцептора водорода. В этой реакции принимают участие оксидазы аминокислот и дегидрогеназы.

### 3. Переаминирование

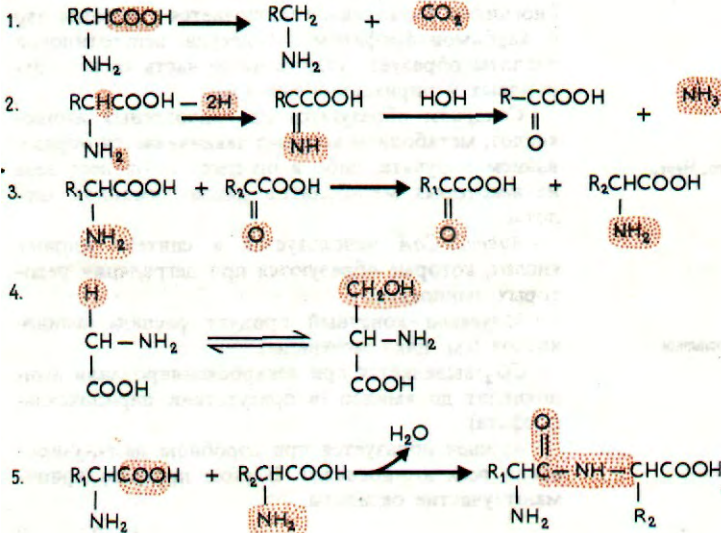
Переаминированию подвергаются главным образом Glu, Asp и, в некоторых случаях, Asn и Ala. Однако этот процесс может протекать и с участием других аминокислот. Переаминирование - это основная биосинтетическая реакция заменимых аминокислот, протекающая в присутствии кофермента, роль которого выполняет пиридоксальфосфат.

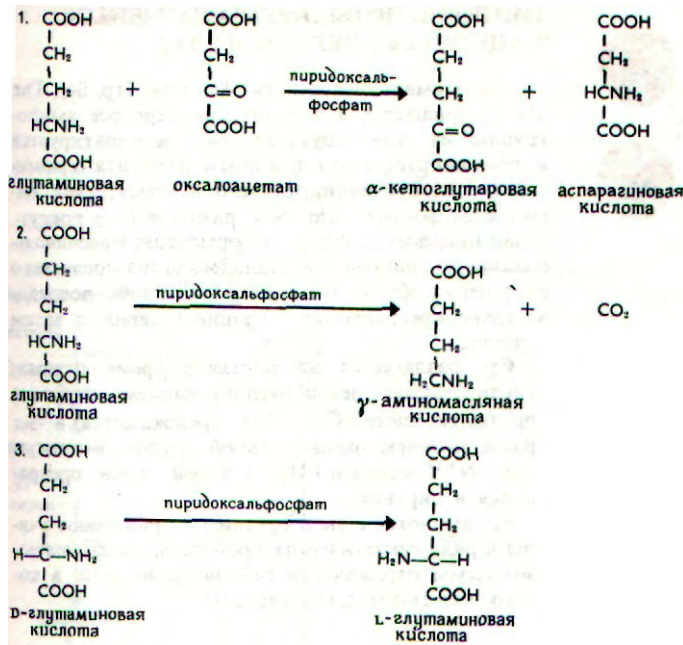
### 4. Модификация боковой цепи

происходит главным образом при взаимных превращениях Ser <=> Gly, протекающих в присутствии пиридоксальфосфата и тетрагидрофолиевой кислоты, а также при образовании фосфосерина из Ser.

### 5. Полимеризация

Пептидные цепи (три-, тетра-, пента-, олиго- и полипептиды) возникают за счет полимеризации аминокислот.





## ТРИ ОСНОВНЫХ ТИПА РЕАКЦИЙ АМИНОКИСЛОТ, ДЛЯ ПРОТЕКАНИЯ КОТОРЫХ НЕОБХОДИМ КОФЕРМЕНТ ПИРИДОКСАЛЬФОСФАТ

### 1. Переаминирование

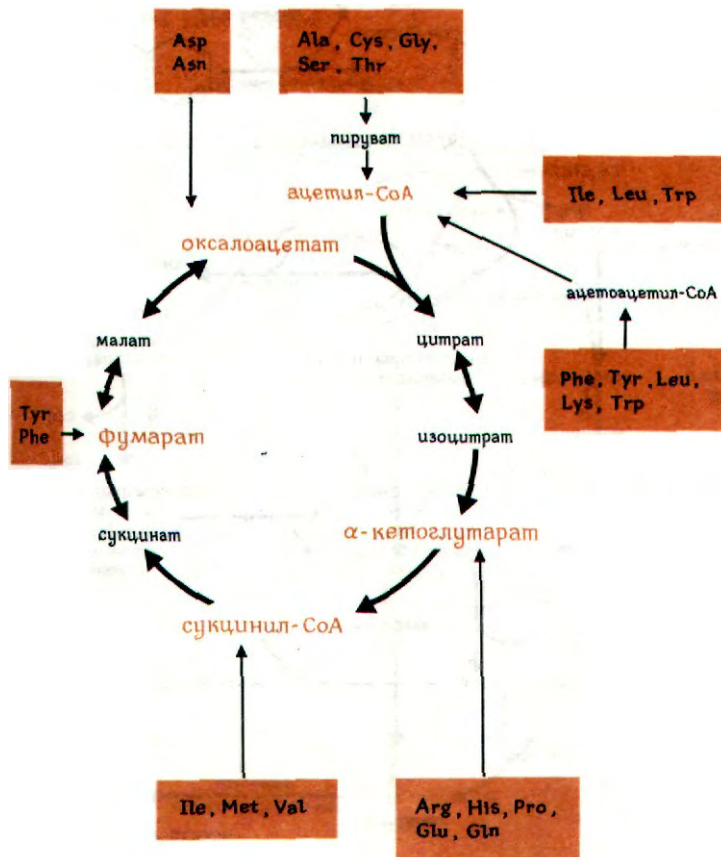
Переаминирование - это наиболее распространенный путь синтеза глутаминовой кислоты из α-кетоглутаровой кислоты и аспарагиновой кислоты и, наоборот, аспарагиновой кислоты и α-кетоглутаровой кислоты из оксалоацетата и глутаминовой кислоты. Аналогично протекает переаминирование между глутаминовой кислотой и пируватом, в результате которого образуется аланин.

### 2. Декарбоксилирование аминокислот

Все аминокислоты в присутствии пиридоксальфосфата могут декарбоксилироваться с образованием биогенных аминов. Например, из серина образуется этаноламин, из глутаминовой кислоты - γ-аминомасляная кислота, из 3,4-диоксифенилаланина (DOPA) получается 3,4-диоксифенилэтиламин, из гистидина - гистамин и т.д.

### 3. Рацемизация

Все аминокислоты, входящие в белки, принадлежат к L-ряду, однако в некоторых клетках присутствуют и D-аминокислоты (например, в клеточных стенках некоторых микроорганизмов). Превращение D-формы в L-форму протекает в присутствии пиридоксальфосфата.



## ОКИСЛИТЕЛЬНАЯ ДЕГРАДАЦИЯ УГЛЕРОДНОГО СКЕЛЕТА АМИНОКИСЛОТ

приводит к соединениям, которые включаются в цикл лимонной кислоты, в пяти различных местах. Реакция через ацетил-СоА может протекать двумя путями:

1. Сначала синтезируется из аминокислот пируват, затем из него после окислительного декарбоксилирования образуется ацетил-СоА.
2. Из аминокислот сначала образуется ацетоацетил-СоА, из которого впоследствии получается ацетил-СоА. Метаболизм аминокислот - это сложный процесс, протекающий через ряд промежуточных продуктов. Эти продукты могут служить предшественниками биологически важных соединений.

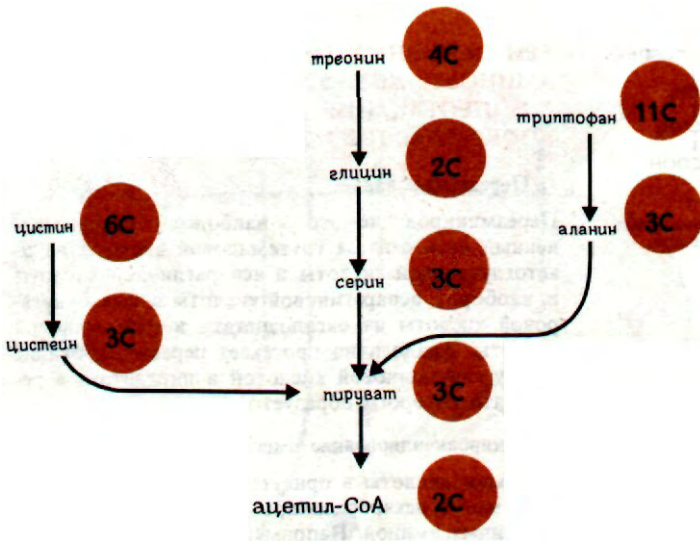


## АМИНОКИСЛОТЫ, ПРЕВРАЩАЮЩИЕСЯ В АЦЕТИЛ-CoA ЧЕРЕЗ ПИРУВАТ

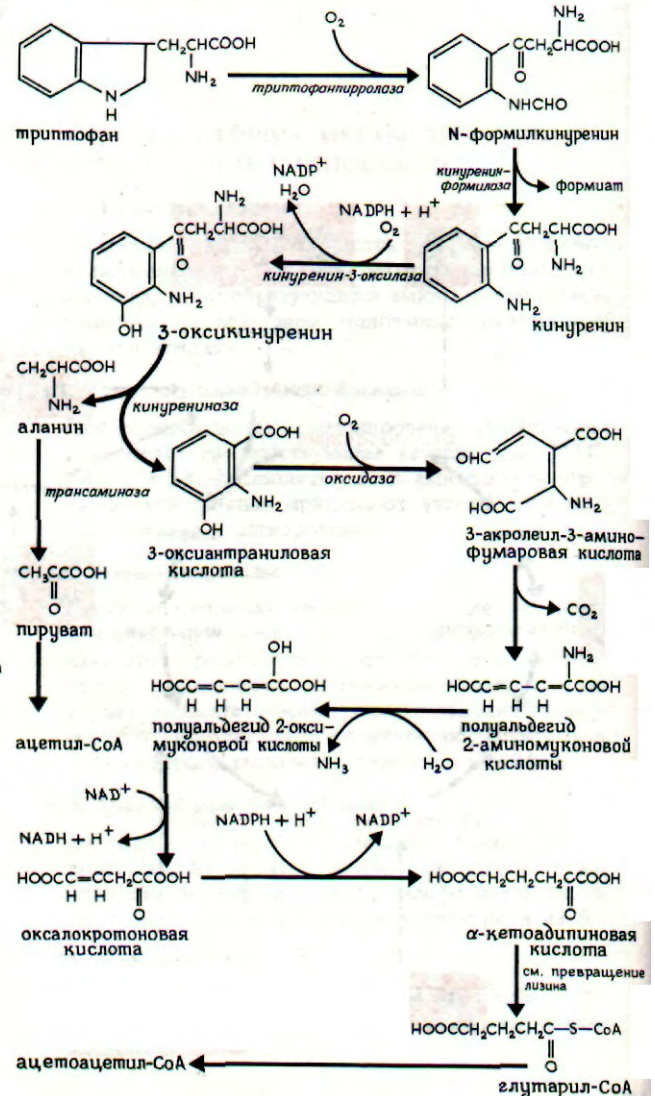
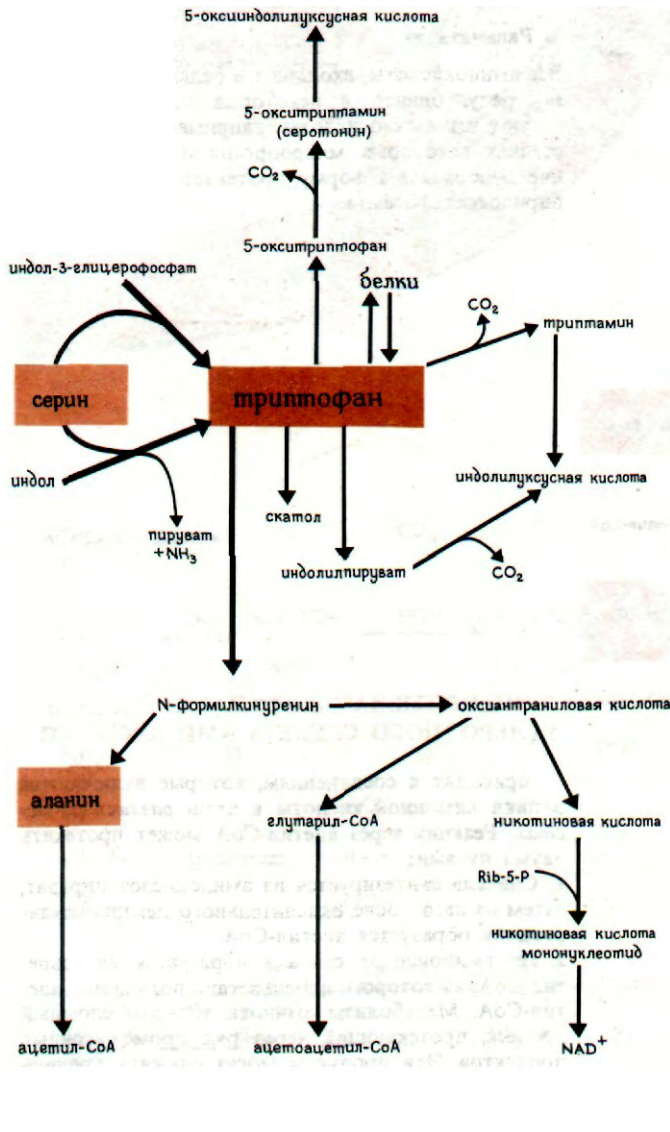
Таких аминокислот пять: Ala, Cys, Trp, Ser, Thr. Ala превращается в пируват при переносе аминогруппы на  $\alpha$ -кетоглутарат. Ser дегидратируется и дезаминируется под действием фермента *сериндегидратазы*, функционирующего в присутствии пиридоксальфосфата. Thr либо разлагается в присутствии пиридоксальфосфата ферментом *треонинальдолазой* до глицина и ацетальдегида (из последнего соединения образуется ацетил-CoA), либо последовательно превращается в глицин и серин, а затем в пируват.

Cys разлагается до пирувата тремя путями; окислительным декарбоксилированием пирувата образуется ацетил-CoA. Glu превращается в Ser присоединением оксиметильной группы в присутствии  $N^{5,10}$ -метилен-FH4, а затем серин превращается в пируват.

Все аминокислоты в организме принимают участие в ряде синтетических процессов. Нижеследующие схемы отражают метаболические пути, в которых участвуют аминокислоты.



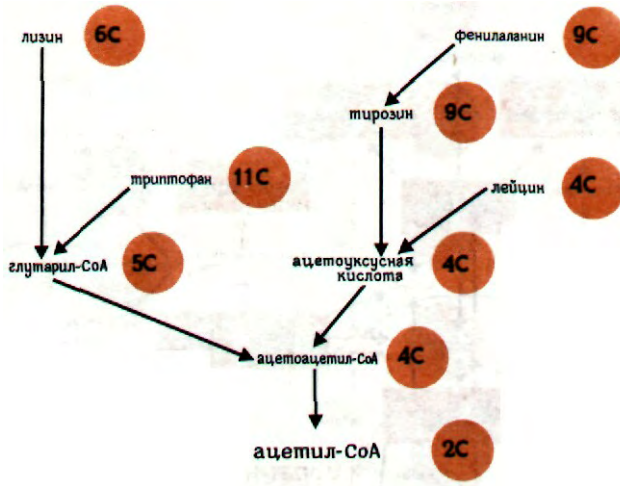
## МЕТАБОЛИЗМ ТРИПТОФАНА







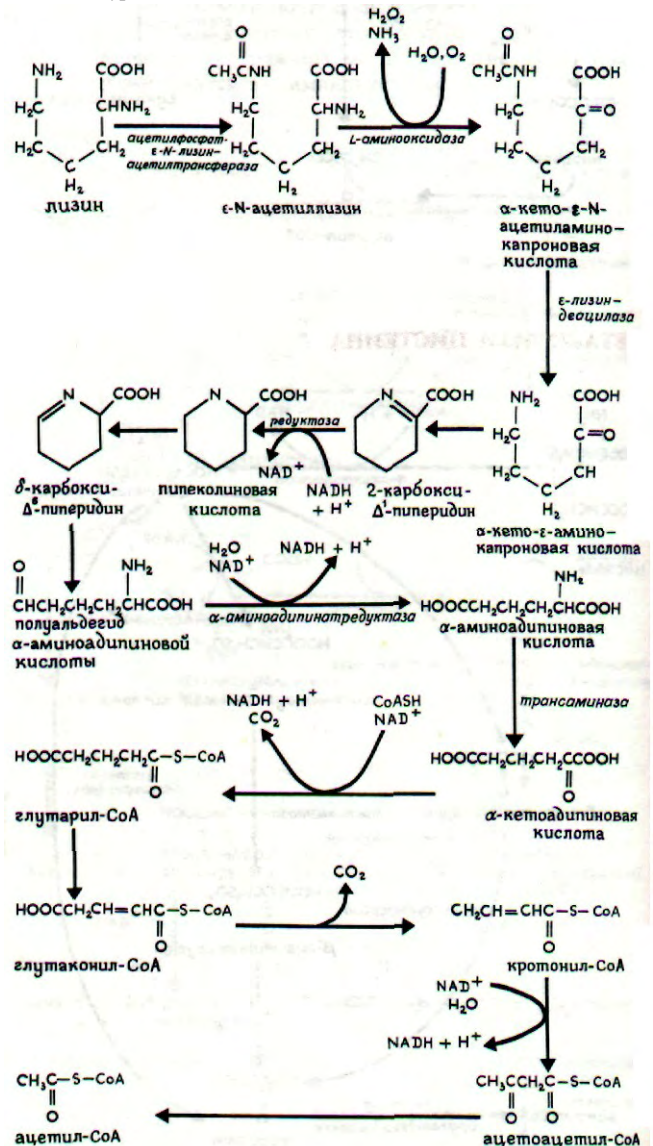
## АМИНОКИСЛОТЫ, ПРЕВРАЩАЮЩИЕСЯ В АЦЕТИЛ-CoA ЧЕРЕЗ АЦЕТОАЦЕТИЛ-CoA



По этому пути идет превращение следующих аминокислот: Phe, Tyr, Lys, Trp, Leu. Из Phe и Tyr образуется свободный ацетоацетат, который затем превращается в ацетоацетил-CoA. Один из пяти углеродных атомов, оставшихся от этих двух аминокислот в результате аэробного декарбоксилирования, выделяется в форме  $\text{CO}_2$ . Четыре остальных атома в молекуле этих двух аминокислот превращаются в фумарат.

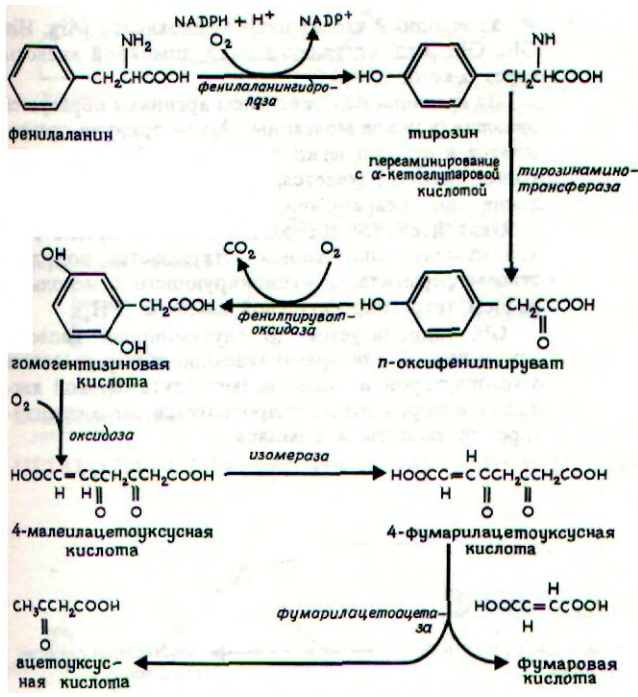
В результате генетических дефектов у некоторых особей отсутствует фенилаланингидроксилаза и фенилаланин прямо превращается в фенилпироват, который накапливается в крови и выводится с мочой, что приводит к так называемой *фенилкетонурии*. Аналогично результатом отсутствия оксидазы гомогентизиновой кислоты является *алкаптонурия*.

## МЕТАБОЛИЗМ ЛИЗИНА

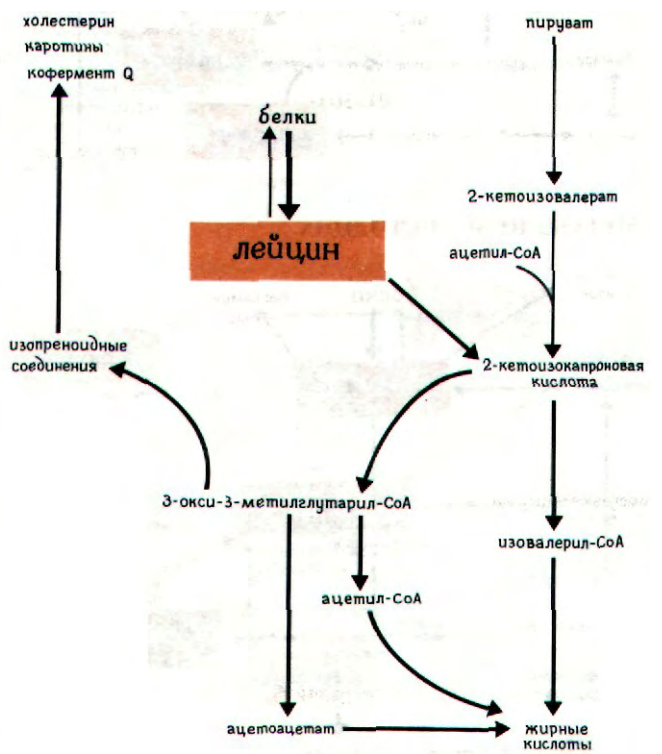
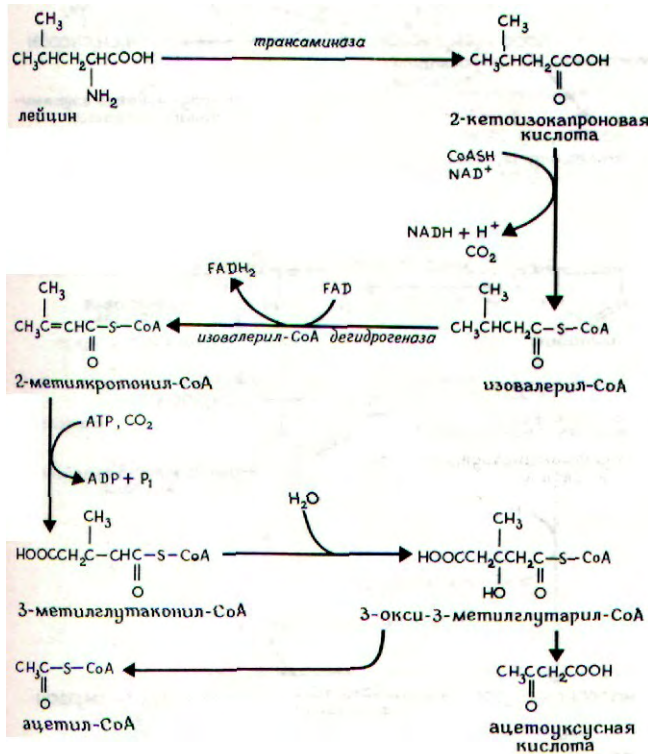




## МЕТАБОЛИЗМ ФЕНИЛАЛАНИНА И ТИРОЗИНА



## МЕТАБОЛИЗМ ЛЕЙЦИНА



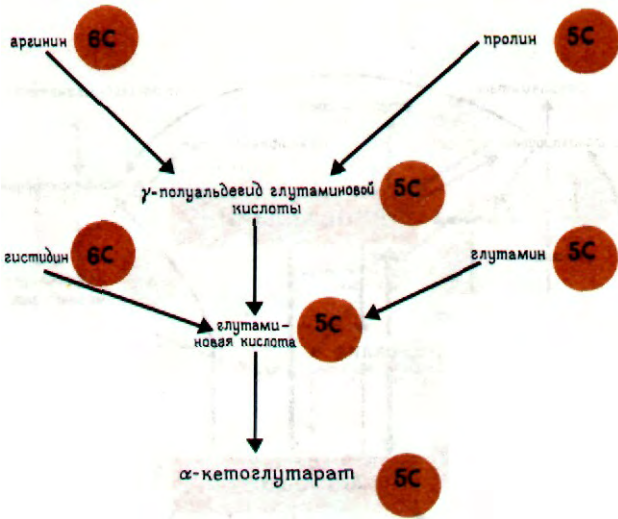
## АМИНОКИСЛОТЫ, ПРЕВРАЩАЮЩИЕСЯ В $\alpha$ -КЕТОГЛУТАРАТ

Углеродный скелет пяти аминокислот (Arg, His, Glu, Gln, Pro) вступает в цикл лимонной кислоты через  $\alpha$ -кетоглутарат.

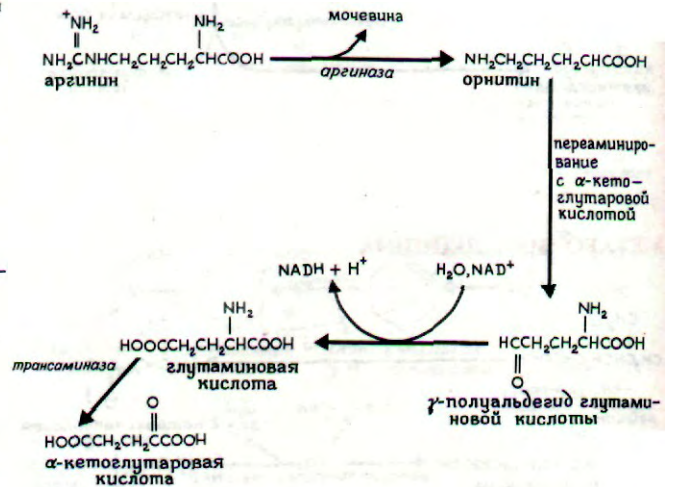
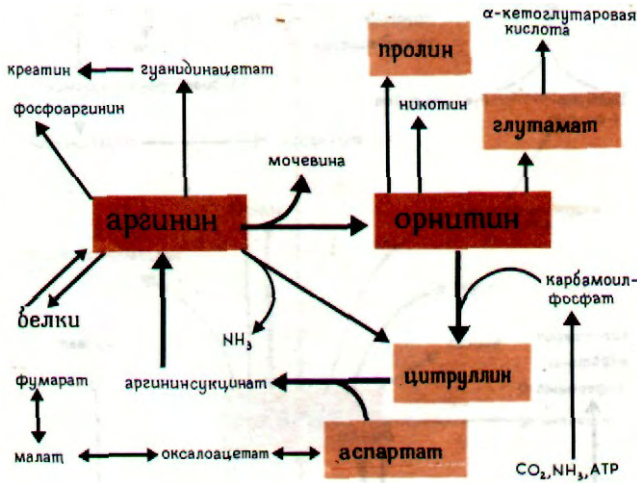
Из *аргинина* под действием аргиназы образуется *орнитин* (в цикле мочевины). Затем орнитин превращается в полуальдегид глутаминовой кислоты, который также получается, в качестве продукта окисления при превращении Pro.

Окислительное превращение His интересно тем, что имидазольное кольцо открывается под действием фермента, функционирующего с использованием тетрагидрофолиевой кислоты (FH<sub>4</sub>).

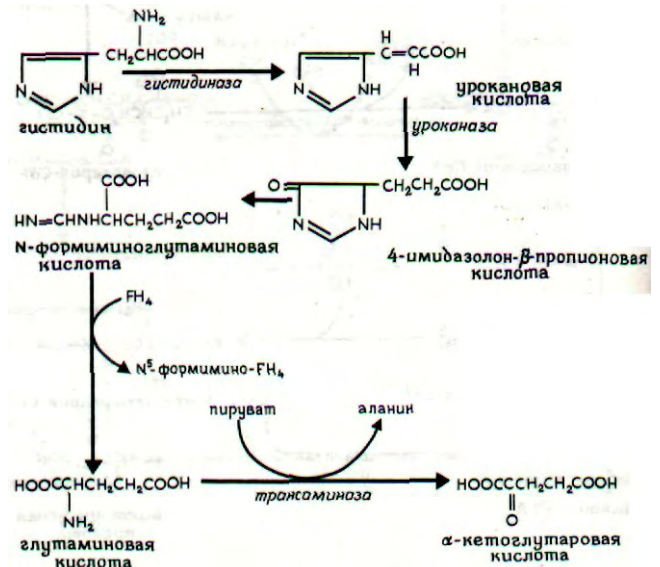
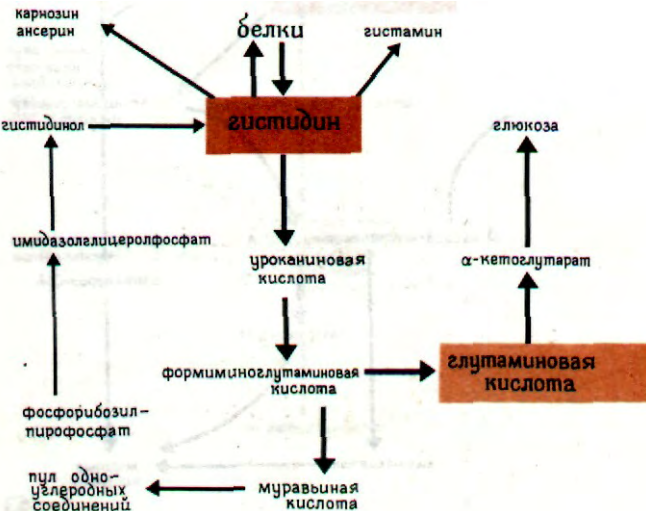
Gln гидролизуется до глутаминовой кислоты глутаминазой или прямо дезаминируется до амида  $\alpha$ -кетоглутаровой кислоты (кетоглутамаровой кислоты), которая затем гидролизуется до  $\alpha$ -кетоглутаровой кислоты и аммиака.



## МЕТАБОЛИЗМ АРГИНИНА

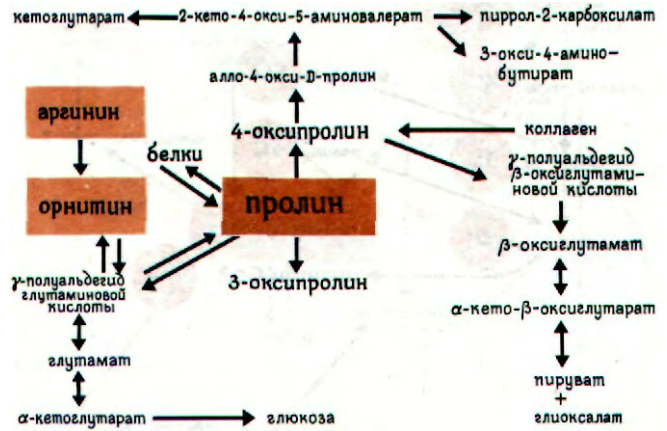
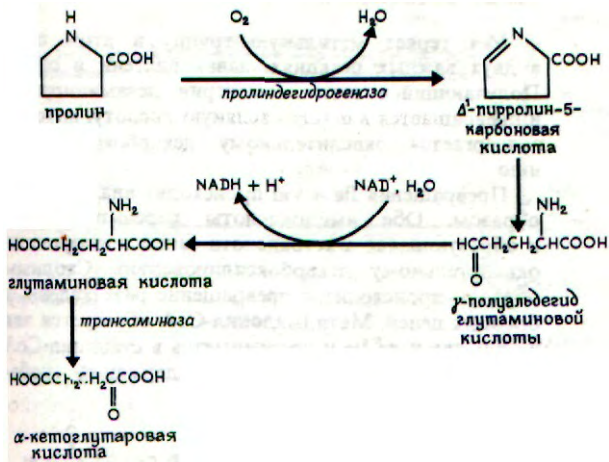


## МЕТАБОЛИЗМ ГИСТИДИНА

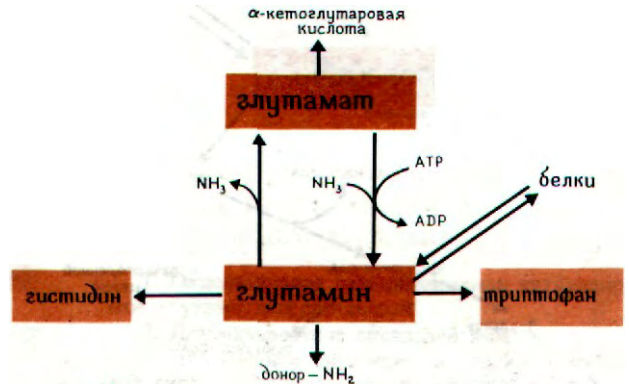
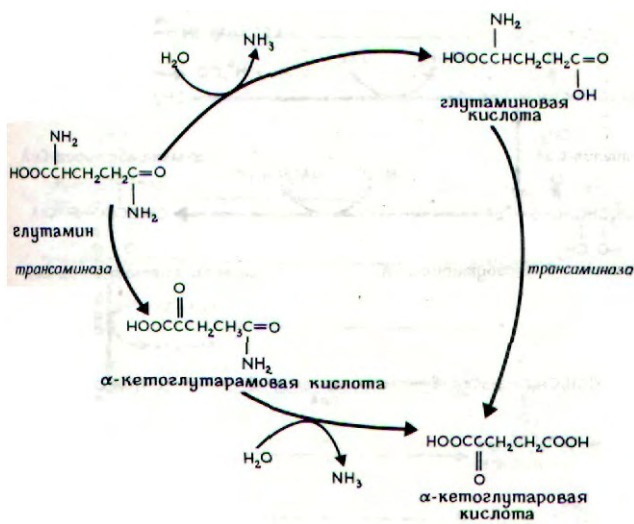




## МЕТАБОЛИЗМ ПРОЛИНА



## МЕТАБОЛИЗМ ГЛУТАМИНА И ГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ



Синтезы:

цитидина:  
 уридин-5'-трифосфат + цитидин-5'-трифосфат

инозин адениловой кислоты:  
 5-фосфорибозилпирофосфат + 5'-фосфорибозиламин

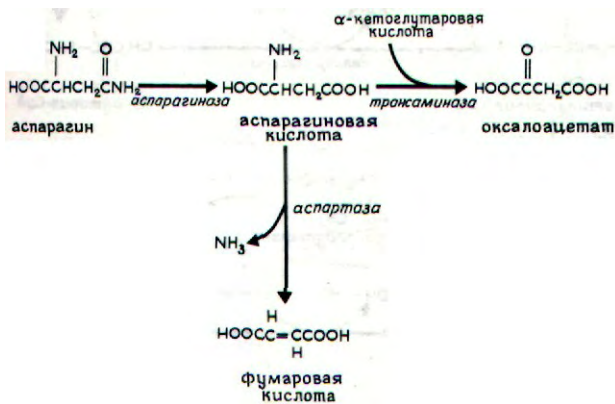
гуаниловой кислоты:  
 N-формилглицинамидрибонуклеотид → N-формилглицинамидинрибонуклеотид

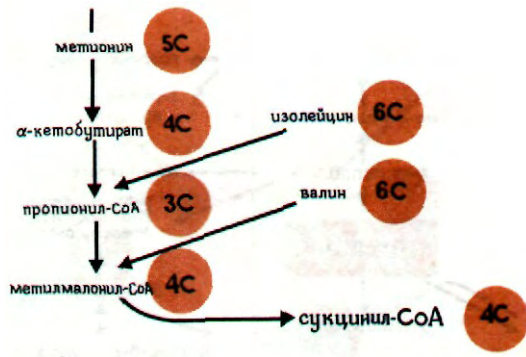
ксантиловая кислота → гуаниловая кислота

глюкозамина:  
 D-фруктозо-6-P → α-D-глюкозамин-6-P

мочевины:  
 CO<sub>2</sub> + ATP → карбамоилфосфат

## МЕТАБОЛИЗМ АСПАРАГИНОВОЙ КИСЛОТЫ





### МЕТАБОЛИЗМ ИЗОЛЕЙЦИНА



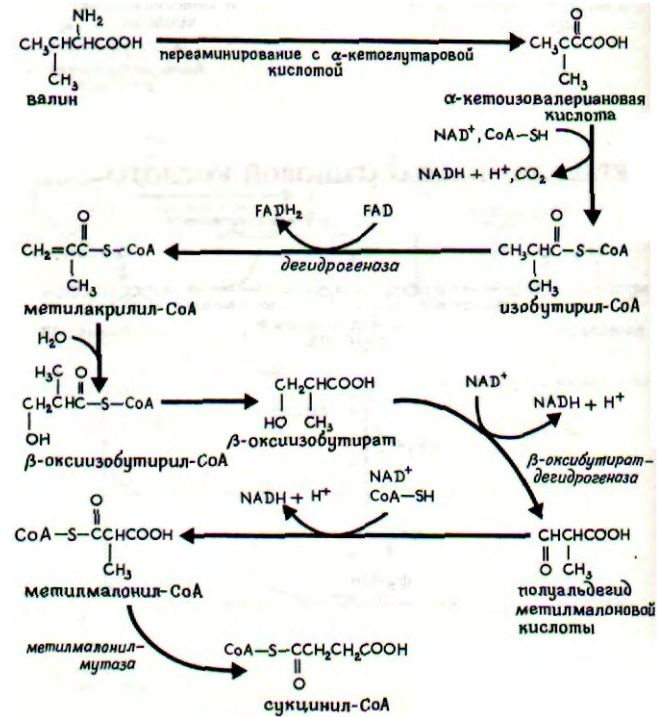
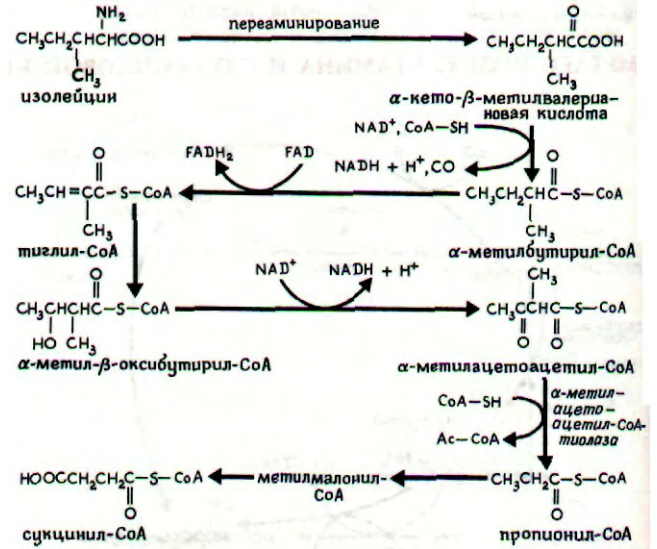
### МЕТАБОЛИЗМ ВАЛИНА



### АМИНОКИСЛОТЫ, ПРЕВРАЩАЮЩИЕСЯ ЧЕРЕЗ СУКЦИНИЛ-CoA

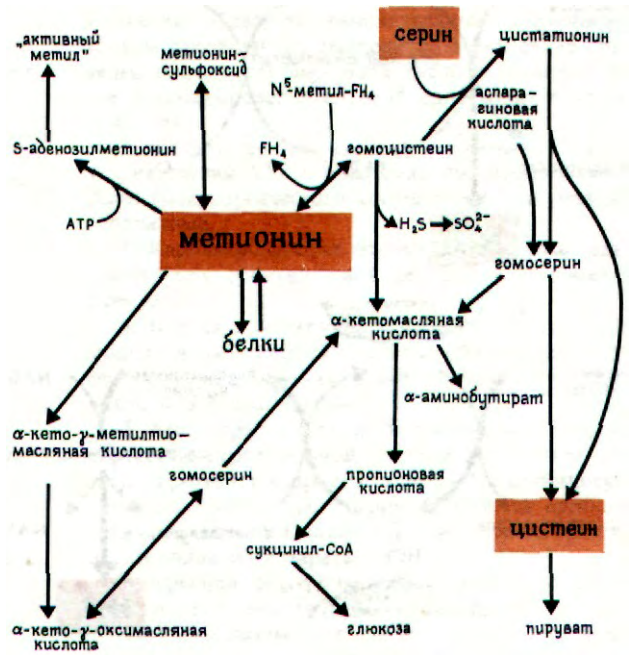
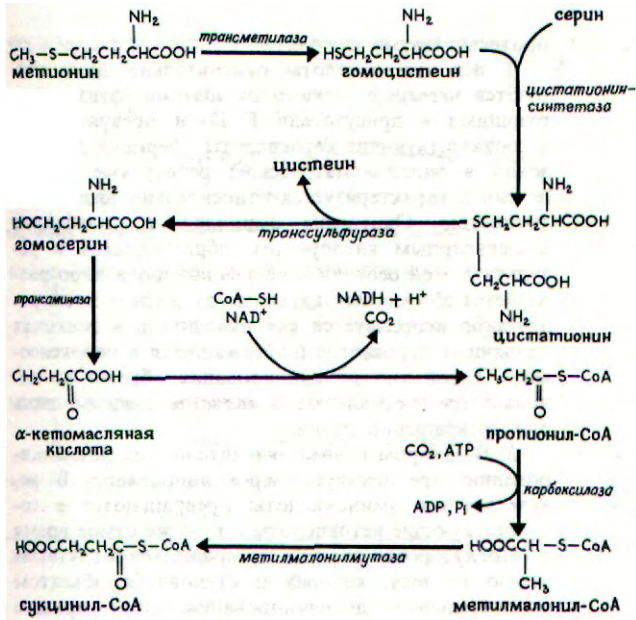
Met теряет метильную группу и атом серы в двух важных реакциях, давая цистеин и серин. Получающийся затем гомосерин дезаминируется и превращается в α-кетомасляную кислоту, которая подвергается окислительному декарбоксилированию.

Превращения Ile и Val происходят аналогичным образом. Обе аминокислоты переаминируются и образующаяся α-кетокислота затем подвергается окислительному декарбоксилированию. Сходным образом происходит и превращение разветвленных боковых цепей. Метилмалонил-CoA образуется из Val, так и из Ile и превращается в сукцинил-CoA метилмалонил-CoA-мутазой, содержащей кобальтовый кофактор.





## МЕТАБОЛИЗМ МЕТИОНИНА



1. глутаминовая кислота	$\rightarrow$	$\alpha$ -кетоглутаровая кислота	+ $\text{NH}_3$
2. $\alpha$ -аминокислота	$\rightarrow$	$\alpha$ -кетокислота	+ $\text{NH}_3$
3. цистеин	$\rightarrow$	пируват	+ $\text{NH}_3$
4. гистидин	$\rightarrow$	урокановая кислота	+ $\text{NH}_3$
5. глицин	$\rightarrow$	глиоксалева кислота	+ $\text{NH}_3$
6. глюкозамин-6-Р	$\rightarrow$	глюкоза-6-Р	+ $\text{NH}_3$
7. глутамин	$\rightarrow$	глутаминовая кислота	+ $\text{NH}_3$

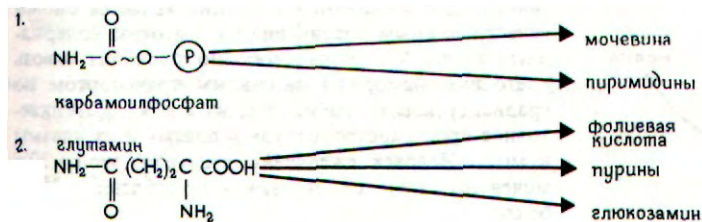
## РЕАКЦИИ, ПРОТЕКАЮЩИЕ С ВЫДЕЛЕНИЕМ АММИАКА

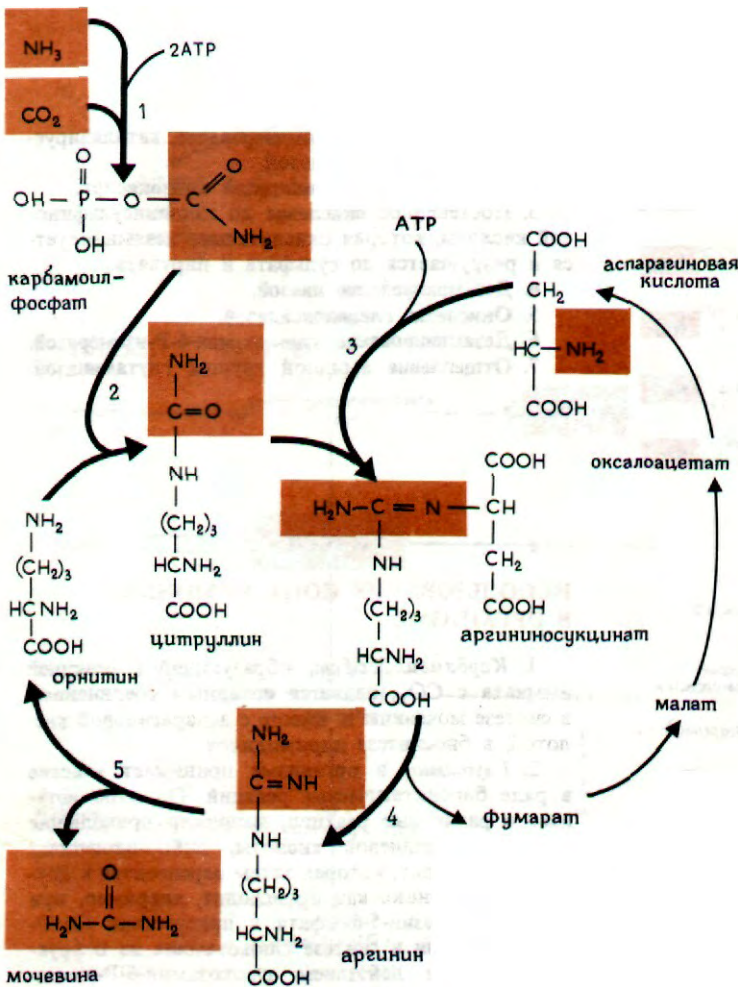
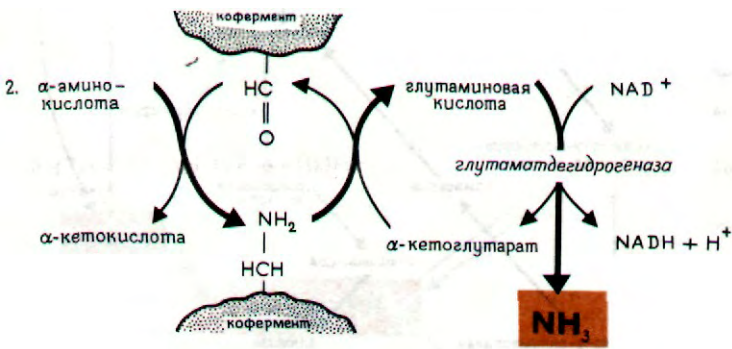
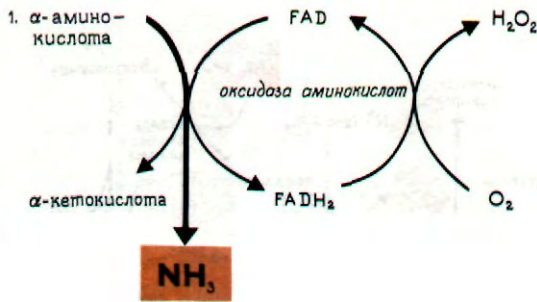
1. Окислительное дезаминирование, катализируемое глутаматдегидрогеназой.
2. Дезаминирование оксидазой аминокислот.
3. Постепенное окисление до цистеинсульфиновой кислоты, которая окислительно дезаминируется и разрушается до сульфата и пирувата.
4. Дезаминирование лиазой.
5. Окисление глицинооксидазой.
6. Дезаминирование глюкозамин-6-Р-изомеразой.
7. Отщепление амидной группы глутаминазой.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИОНА АММОНИЯ В ОРГАНИЗМЕ

1. **Карбамоилфосфат**, образующийся реакцией аммиака с  $\text{CO}_2$ , является исходным соединением в синтезе мочевины и, вместе с аспарагиновой кислотой, в биосинтезе пиримидинов.

2. **Глутамин** в организме принимает участие в ряде биосинтетических реакций. Он либо вступает в различные реакции, например приводящие к синтезу фолиевой кислоты, либо отщепляет амидную группу, которая затем переносится к другому соединению, как происходит, например, при синтезе гуанозин-5-фосфата в присутствии GMP-синтетазы, или в синтезе глюкозамина из D-фруктоза-6-Р под действием глюкозамин-6-Р-изомеразы.





## ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ДЕЗАМИНИРОВАНИЕ АМИНОКИСЛОТ

протекает двумя путями:

1. Все аминокислоты окислительно дезаминируются *неспецифическими оксидазами* (функционирующими в присутствии FAD) и превращаются в соответствующие кетокислоты. Фермент локализован в эндоплазматическом ретикулуме клеток печени и характеризуется относительно низкой активностью. Окисление аминокислот происходит молекулярным кислородом, образующаяся в результате этой реакции перекись водорода либо разлагается с помощью каталазы до воды и кислорода, либо используется как окислитель в реакциях различных пероксидаз (содержащихся в пероксисомах). Такой тип дезаминирования обычно не используется в организме, а является важным лишь для превращения лизина.

2. Во втором случае окислительному дезаминированию предшествует переаминирование. В результате все аминокислоты превращаются в соответствующие кетокислоты и в то же самое время  $\alpha$ -кетоглутаровая кислота превращается в глутаминовую кислоту, которая и становится объектом окислительного дезаминирования. Этот процесс протекает под действием *специфической глутаматдегидрогеназы* (для работы которой необходим NAD<sup>+</sup>). Продуктами реакции оказываются  $\alpha$ -кетоглутаровая кислота и NH<sub>3</sub>. Этот путь превращения аминокислот является довольно общим. Глутаматдегидрогеназа, благодаря её ключевым позициям в превращении аминокислот, является аллостерическим ферментом, состоящим из нескольких одинаковых субъединиц. Молекулярная масса этого фермента 280000, фермент способен образовывать агрегаты палочкообразной формы с молекулярной массой 2,2 · 10<sup>6</sup>. Эффекторы влияют на равновесие между мономерной и полимерной формами. Фермент ингибируется ATP, GTP, NADH, а активируется ADP и различными аминокислотами. Активность меняется также под действием тироксина и некоторых стероидных гормонов.

## СИНТЕЗ МОЧЕВИНЫ

Синтез мочевины - это циклический процесс, являющийся последней фазой превращения аммиака, который выделяется при дезаминировании аминокислот.

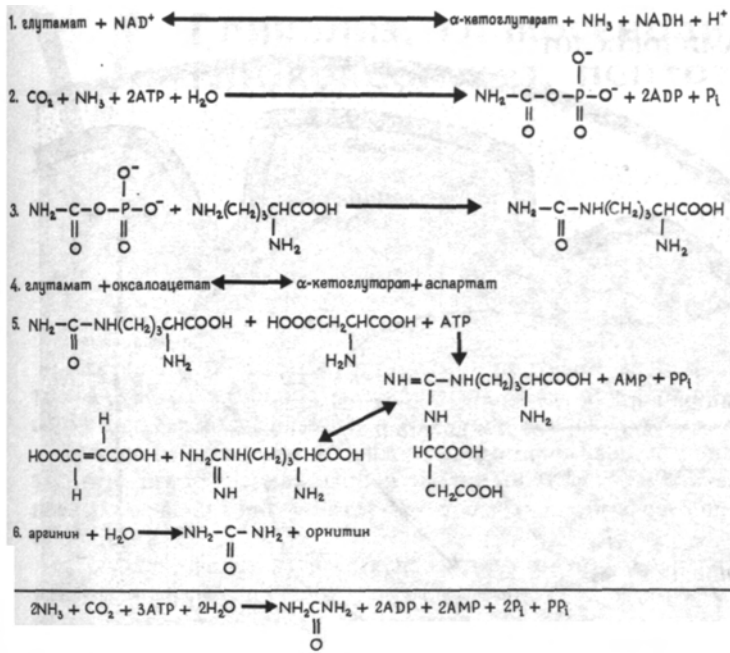
Биологическое значение этого процесса состоит в том, что таким образом удаляется аммиак, токсичный для организма. Мочевина является биологически важным соединением с высоким содержанием азота. Мочевина свободно проходит сквозь клеточные мембраны пассивным транспортом по градиенту концентрации, т.е. из клетки в межклеточное пространство, оттуда в плазму и из плазмы в мочу. Человек ежедневно выделяет около 30 г мочевины при ежедневном потреблении 100 г белка.

*Пояснения к схеме*

Последовательные реакции синтеза мочевины катализируются следующими ферментами: 1) карбамоилфосфатсинтетазой, 2) орнитинкарбамоилтрансферазой, 3) аргининсукцинатсинтетазой, 4) аргининсукцинатлиазой, 5) аргиназой.



## ОБЩИЙ БАЛАНС В ЦИКЛЕ МОЧЕВИНЫ



1. Первая  $\text{NH}_2$ -группа, включающаяся в цикл мочевины, образуется окислительным дезаминированием какой-нибудь аминокислоты (на схеме приведен пример глутаминовой кислоты, окислительное дезаминирование которой происходит в митохондриях).

2. Выделяющийся аммиак реагирует с  $\text{CO}_2$  в присутствии АТФ с образованием *карбамоилфосфата* (макроэргического соединения). Эта реакция необратима.

3. Карбамоилфосфат отдает свою карбамоильную группу орнитину, и в результате получается *цитруллин*.

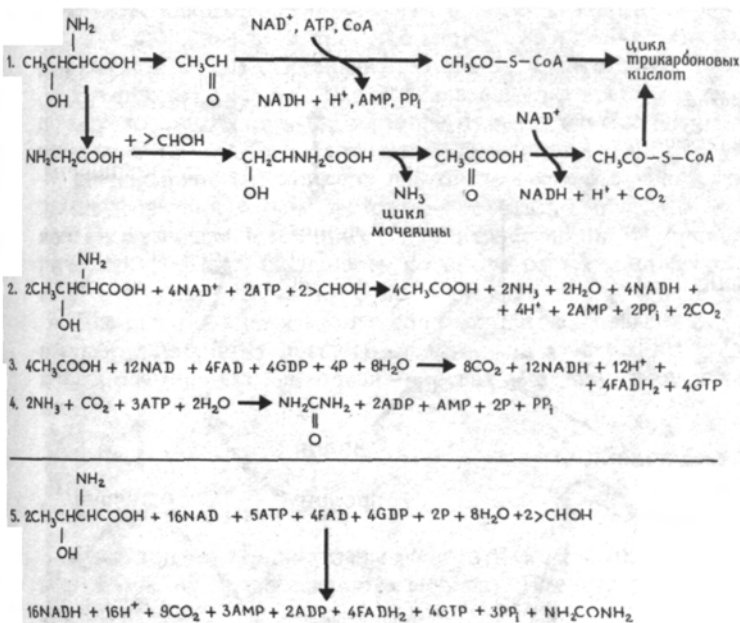
4. Вторая аминогруппа включается в цикл с помощью аспарагиновой кислоты, образующейся за счет переаминирования между глутаминовой кислотой и оксалоацетатом.

5. Аминогруппа аспарагиновой кислоты конденсируется с карбамильной группой цитруллина. Реакция протекает в присутствии АТФ и аргининсукцинатасинтетазы. В результате образуется *аргининсукцинат*, который затем обратимо расщепляется до аргинина и фумарата.

6. Аргинин расщепляется аргиназой до мочевины и орнитина, который снова входит в цикл.

Таким образом, для синтеза одной молекулы мочевины требуются две молекулы аммиака, одна молекула двуокиси углерода и три молекулы АТФ.

## ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ БАЛАНС РАСЩЕПЛЕНИЯ АМИНОКИСЛОТ



В качестве примера на схеме приведено окислительное расщепление треонина до  $\text{CO}_2$  и мочевины и расчет количества АТФ, образующегося в ходе происходящих реакций.

1. Из одной молекулы Thр образуются две молекулы ацетил-СоА, включающегося в цикл лимонной кислоты, и одна молекула  $\text{NH}_3$ . (Ради упрощения ацетил-СоА далее рассматривается как уксусная кислота.)

2. Из Thр при метаболизме образуется уксусная кислота и аммиак. Но поскольку для синтеза одной молекулы мочевины требуется две молекулы аммиака, необходимо для расчета учитывать две молекулы Thр.

3. Образующаяся уксусная кислота окисляется в цикле лимонной кислоты в соответствии со следующим уравнением:



4. Реакции синтеза мочевины из аммиака.

5. Суммарное уравнение для всех превращений Thр. Энергетический баланс метаболизма Thр, таким образом, будет следующим:

48 молекул АТФ синтезируются из 16 молекул  $\text{NADH}$  при его окислении

8 молекул АТФ синтезируются из 4 молекул  $\text{FADH}_2$  за счет его окисления

4 молекулы АТФ соответствуют 4 молекулам  $\text{GTP}$

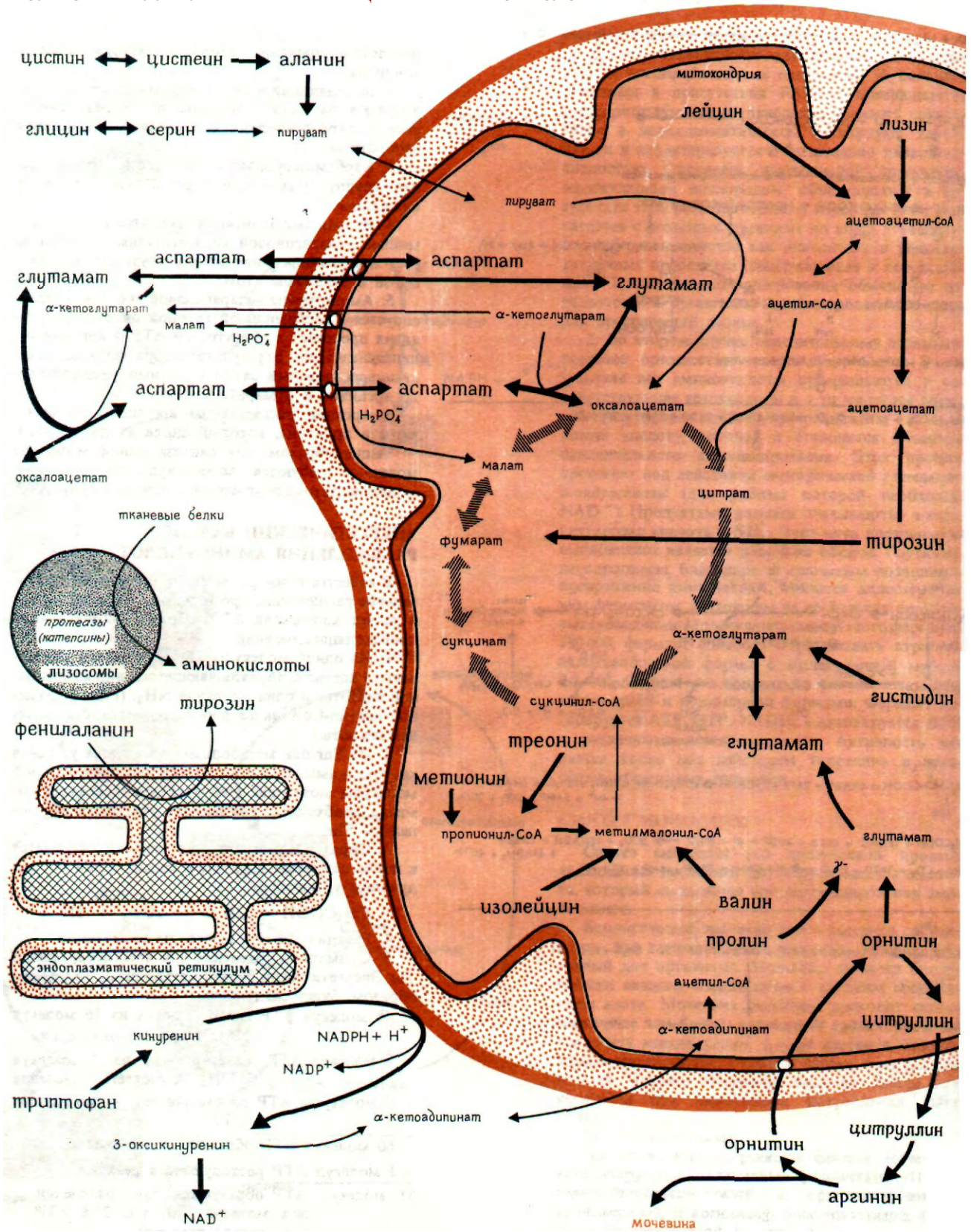
60 молекул АТФ образуются в реакциях

—5 молекул АТФ расходуются в реакциях

55 молекул АТФ образуются при окислении двух молекул Thр, т.е. 27,5 АТФ на молекулу треонина.



**ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЙ ПУЛ АМИНОКИСЛОТ,  
РОЛЬ ОРГАНЕЛЛ КЛЕТКИ В ПРЕВРАЩЕНИЯХ АМИНОКИСЛОТ**





# V

## Гликолиз, гликогенолиз, гликогенез, глюконеогенез, пентозный цикл

Клетки гетеротрофных организмов получают энергию в результате реакций окисления, в которых электроны субстрата (донора) переносятся к акцептору. При анаэробных условиях эту роль обычно выполняет кислород.

Сахара (моносахариды, дисахариды и полисахариды) являются субстратами окислительных реакций. В результате превращения сахаров клетка получает, во-первых, энергию, необходимую для выполнения жизненных функций, и, во-вторых, промежуточные соединения для синтеза других биологически важных соединений.

*Гликолиз* - филогенетически наиболее старая и очень широко распространенная последовательность ферментативных реакций, в которых метаболическим превращениям подвергается глюкоза. Гликолиз является анаэробным процессом, т.е. реакции окисления не сопровождаются переносом водорода или электронов в дыхательную цепь и затем к кислороду. Промежуточными продуктами гликолиза являются гексозофосфаты и триозофосфаты. Такие соединения, как глюкозо-6-фосфат и глицеральдегид-3-фосфат, оказываются промежуточными продуктами, общими для гликолиза и пентозного цикла. *Лактат*, образуется из пирувата под действием лактатдегидрогеназы (LDH) в присутствии NADH, полученного в процессе окисления глицеральдегид-3-фосфата; лактат является конечным продуктом гликолиза в клетках животных при анаэробных условиях. В дрожжах пируват декарбоксилируется до ацетальдегида, восстанавливающегося в *этанол* под действием алкогольдегидрогеназы и NADH. Только небольшая часть энергии, запасенной в молекуле глюкозы, освобождается в процессе гликолиза и только два моля АТФ синтезируются, исходя из одного моля глюкозы. Реакции гликолиза протекают в цитоплазме и не связаны с клеточными структурами.

В аэробных условиях начальные стадии превращения глюкозы также идут гликолитическим путем, вплоть до образования пирувата, но затем пируват окислительно декарбоксилируется и с участием HS-CoA превращается в ацетил-CoA, который в качестве главного субстрата входит в цикл трикарбоновых кислот.

Интенсивность процессов гликолиза падает в присутствии кислорода (*эффект Пастера*).

Фосфорилирование фруктозо-6-фосфата до фруктозо-1,6-дифосфата, катализируемое фосфофруктокиназой, является ключевой реакцией гликолитического пути, происходящего в тканях. Фосфофруктокиназа - аллостерический фермент, активность которого растет в присутствии AMP и ADP и ингибируется под действием АТФ и цитрата. Важную роль в регуляции гликолиза также играет глицеральдегидфосфатдегидрогеназа.

Для строгих анаэробов гликолиз служит единственным источником энергии. У факультативных анаэробов и строгих аэробных организмов гликолиз оказывается первой стадией превращения сахаров. В присутствии кислорода продукт гликолиза - пируват выступает в качестве первого субстрата аэробного декарбоксилирования.

### Гликогенолиз и гликогенез

Гликоген - внутриклеточный, осмотически неактивный резервный полисахарид, способный к быстрому и обратимому превращению в глюкозу. Процесс его распада называется гликогенолизом, процесс синтеза - гликогенезом.

Гликогенолиз начинается с фосфоролитической деградации гликогена под действием фосфорилазы. В присутствии фосфата от гликогена отщепляется глюкозо-1-фосфат, который превращается фосфоглюкомутазой в глюкозо-6-фосфат. Все дальнейшие реакции этого соединения аналогичны процессам гликолиза. Энергетический выход фосфоролитического распада гликогена выражается в синтезе трех молекул АТФ в расчете на одно звено глюкозы молекулы гликогена.

Гликоген образуется из UDP-глюкозы в реакции, катализируемой гликогенсинтазой.

Расшифрованы очень тонкие механизмы контроля распада и синтеза гликогена. Оба процесса регулируются цикло-AMP (3',5'-AMP), который определяет активность протеинкиназы. В последовательности дальнейших реакций этот фермент включается в превращение фосфорилазы *b* (неактивная, нефосфорилированная форма) в фосфорилазу *a* (активная, фосфорилированная форма). Но тот же самый фермент (зависимый от

cAMP), наоборот, превращает активную (нефосфорилированную форму I) гликогенсинтазы в неактивную (фосфорилированную) форму D. Внутриклеточную концентрацию cAMP регулируют гормоны, стимулирующие (адреналин, глюкагон) или угнетающие (инсулин) аденилатциклазу, которая катализирует образование cAMP из АТР.

В пищеварительном тракте, т. е. не внутри клетки, гликоген (подобно крахмалу) гидролизуется  $\alpha$ -амилазой с образованием смеси глюкозы и мальтозы. Остающийся при этом декстрин превращается далее  $\alpha(1\rightarrow6)$ -глюкозидазой в смесь глюкозы и мальтозы.

*Глюконеогенез* - процесс синтеза глюкозы (или гликогена) из неуглеводных субстратов: а) из молочной или пировиноградной кислоты; б) из гликогенных аминокислот (Ala, Arg, Cys, Asp, Glu, Gly, His, Met, Pro, Ser, Thr, Val, Hуро); в) из любых других промежуточных продуктов метаболизма, приводящих к образованию пирувата или участвующих в цикле лимонной кислоты.

Глюконеогенез не может проходить за счет простого обращения реакций гликолиза, поскольку равновесие ряда реакций, катализируемых пируваткиназой (Р-енолпируват  $\rightarrow$  пируват), фосфофруктокиназой (фруктозо-6-Р  $\rightarrow$  фруктозо-1,6-дифосфат) и гексокиназой (глюкоза  $\rightarrow$  глюкозо-6-Р), смещено в одну сторону. Для преодоления этих затруднений используются обходные пути.

1. Образование фосфоенолпирувата из пирувата через оксалоацетат. Оксалоацетат получается из пирувата карбоксилированием его под действием митохондриального фермента в присутствии биотина. Оксалоацетат восстанавливается далее в митохондриях с участием NADH до малата, который вне митохондрий окисляется вновь в оксалоацетат. Фосфорилирование оксалоацетата (GTP или ИТР) и следующее за ним декарбоксилирование дает Р-енолпируват.

2. Гидролиз фруктозо-1,6-дифосфата до фруктозо-6-фосфата, катализируемый фруктозо-1,6-дифосфатазой.

3. Расщепление глюкозо-6-Р до глюкозы с помощью глюкозо-6-фосфатазы. Синтез молекулы глюкозы из двух молекул пирувата требует шести молекул АТР.

Процесс глюконеогенеза в данной ткани требует присутствия всех ключевых ферментов. Он легко протекает в печени и в почках, но не происходит в мозге, сердечных и скелетных мышцах, поскольку там нет глюкозо-6-фосфатазы. Поэтому гликоген мышц нельзя использовать в качестве источника снабжения крови глюкозой. В мышцах гликоген превращается в лактат, который вместе с кровью переносится в печень и превращается там в гликоген печени за счет реакций глюконеогенеза.

*Пентозный цикл* - последовательность реакций, протекающих одновременно с гликолизом. В одной его части молекулы глюкозы постепенно окисляются с одновременным образованием NADPH, в то время как в другой идет синтез рибозо-5-фосфата и эритрозо-4-фосфата за счет взаимных превращений производных фосфорных эфиров трех-, четырех-, пяти-, шести- и семиуглеродных сахаров.

Протекание определенных реакций пентозного цикла в обратном направлении используется для фиксации  $CO_2$  в процессе фотосинтеза.

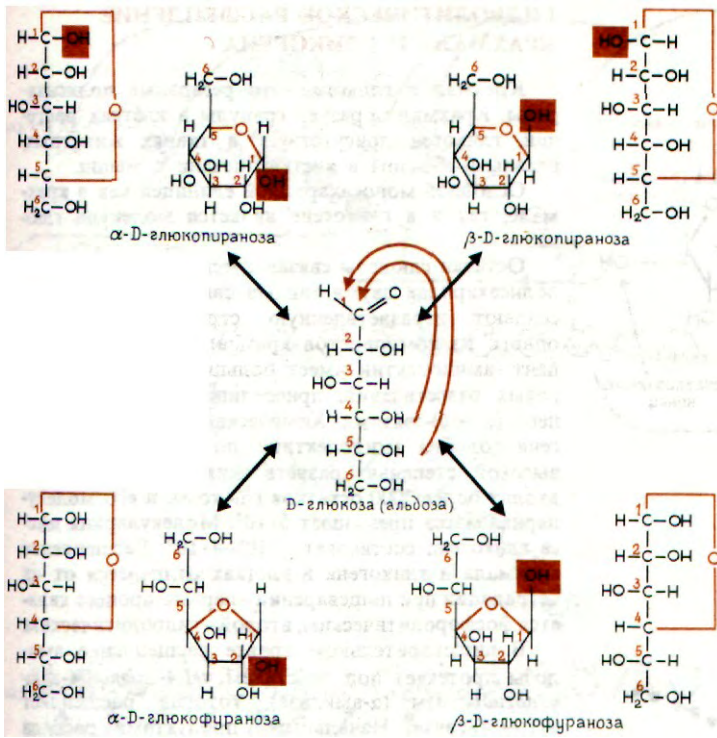
Все промежуточные соединения пентозного цикла образуют некий пул, объединенный с гликолизом глюкозо-6-фосфатом, фруктозо-6-фосфатом и глицеральдегид-3-фосфатом. Ферменты пентозного цикла, подобно ферментам гликолиза, функционируют в свободном виде в цитоплазме.

Пентозный цикл не является основным путем метаболизма глюкозы, но его связь с гликолизом может изменяться в зависимости от ткани и ее биологической функции.

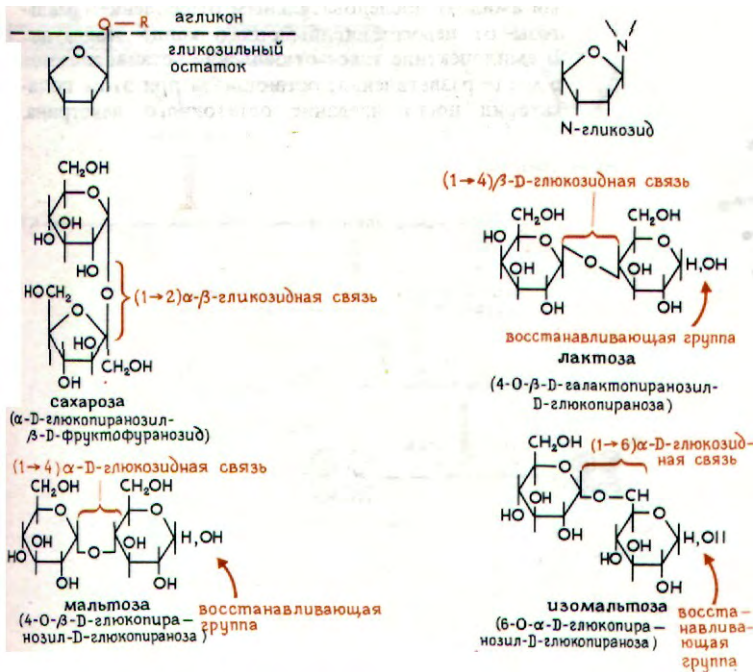
Реакции пентозного цикла не могут служить источником энергии (окисление NADH не приводит непосредственно к АТР).

Биологическое значение пентозного цикла во всех клетках состоит в генерации NADPH, необходимого для восстановительных синтезов (например, жирных кислот, холестерина, стероидных гормонов и других соединений), в синтезе рибозо-5-фосфата, который служит предшественником биосинтеза нуклеотидов и нуклеиновых кислот и в синтезе эритрозо-4-фосфата, выступающего предшественником в биосинтезе ароматических аминокислот в автотрофных организмах.

## СТРУКТУРА МОНОСАХАРИДОВ



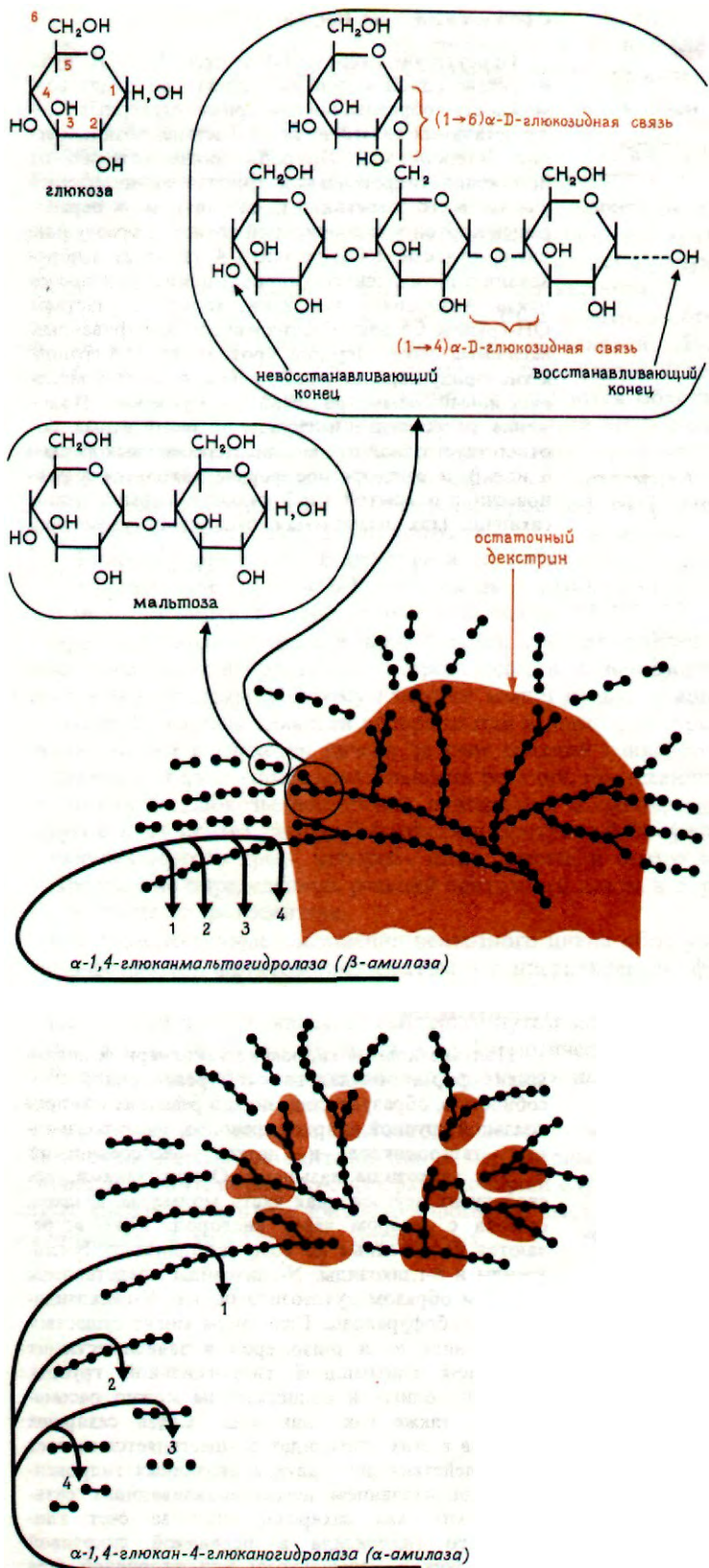
Присутствие оксо- (=O)- и окси- (-OH)-групп в составе одной и той же молекулы создает возможность образования внутримолекулярных полуацетальных связей и, как следствие, возникновения гетероциклов. Природа цикла зависит от положения гидроксильной группы, принимающей участие в его замыкании и, следовательно, переносящей протон к карбонильной группе. Образование цикла с участием OH-группы C4 приводит к образованию пятичленного гидрированного *фуранового цикла*. Аналогично замыкание кольца с участием OH-группы C5 дает шестичленный гидрированный *пирановый цикл*. Перенос протона от OH-группы к кислороду карбонильной группы создает в молекуле новый асимметрический атом углерода. Положение гидроксильной группы у этого атома соответствует одной из двух диастереомерных форм - α или β. В растворе обе формы находятся в равновесии с открытой карбонильной формой моносахарида (так называемая оксоциклотаутомерия).



## ГЛИКОЗИДЫ

Полуацетальный гидроксил таутомерных циклических форм, обладая высокой реакционной способностью, образует гликозиды в реакциях с гидроксильной группой спиртов, фенолов, оксипроизводных гетероциклов и других оксисоединений. Эти гликозиды называют O-гликозидами, поскольку их неуглеводная часть молекулы, *агликон*, связана с сахаром через кислород. Реже встречаются построенные по тому же принципу N-гликозиды и S-гликозиды. N-гликозиды представлены главным образом нуклеозидами, т.е. N-гликозидами β-D-рибофуранозы. Гликозиды могут существовать в виде α- и β-изомеров в зависимости от положения гликозидной гидроксильной группы. Ди-, три-, олиго- и полисахариды можно рассматривать также как гликозиды. Связь сахарных остатков в этих гликозидах осуществляется за счет взаимодействия либо двух гликозидных гидроксильных групп с образованием невосстанавливающих сахаров, таких, как сахароза, либо за счет гликозидного гидроксильного и первичной спиртовой группы (как в изомальтозе) или вторичной (как в лактозе и мальтозе). В этих случаях образуются восстанавливающие сахара.





## ГИДРОЛИТИЧЕСКОЕ РАСЩЕПЛЕНИЕ КРАХМАЛА И ГЛИКОГЕНА

Крахмал и гликоген - это резервные полисахариды. Крахмал образует гранулы в клетках растений, гликоген присутствует в тканях животных, главным образом в клетках печени и мышц.

Основной моносахаридной единицей как в крахмале, так и в гликогене является молекула глюкозы.

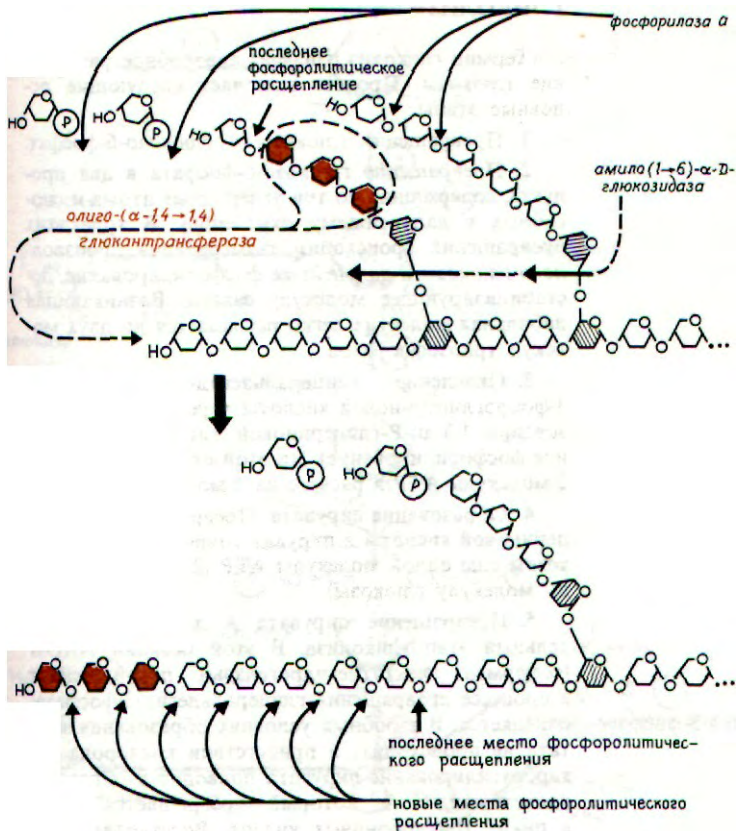
Остатки глюкозы связаны между собой в обоих полисахаридах двумя типами связей. (1→4)-Связи создают неразветвленную структуру амилозы, одного из компонентов крахмала. Второй компонент - амилопектин имеет большое количество боковых разветвлений, присоединенных к основной цепи (1→6)-связями. Химическая структура гликогена подобна амилопектину, но отличается более высокой степенью разветвления. В амилопектин входит более 3000 остатков глюкозы, и его молекулярная масса превышает  $5 \cdot 10^5$ . Молекулярная масса гликогена составляет  $1 \cdot 10^6 - 4 \cdot 10^6$ . Расщепление крахмала и гликогена в клетках отличается от их деградации при пищеварении - первый процесс является фосфоролитическим, второй - гидролитическим.

В пищеварительном тракте расщепление амилозы протекает под действием α-1,4-глюкан-4-глюканогидролазы (α-амилаза), которая расщепляет α(1→4)-связи. Начальными продуктами распада являются олигосахариды, содержащие 6-7 остатков глюкозы, конечными - смесь мальтозы и глюкозы.

В амилопектине α-амилаза расщепляет α(1→4)-связи, оставляя незатронутыми (1→6)-связи. Последние расщепляются α(1→6)-глюкозидазами (ферментами, ликвидирующими боковые цепи). Конечными продуктами расщепления амилопектина под действием двух ферментов являются глюкоза и мальтоза.

α-1,4-Глюканмальтогидролазы (β-амилаза) являются α(1→4)-гликозидазами, расщепляющими амилозу последовательным отщеплением мальтозы от невосстанавливающего конца молекулы. В амилопектине такое отщепление останавливается в месте разветвления; остающийся при этом полисахарид носит название остаточного декстрина.



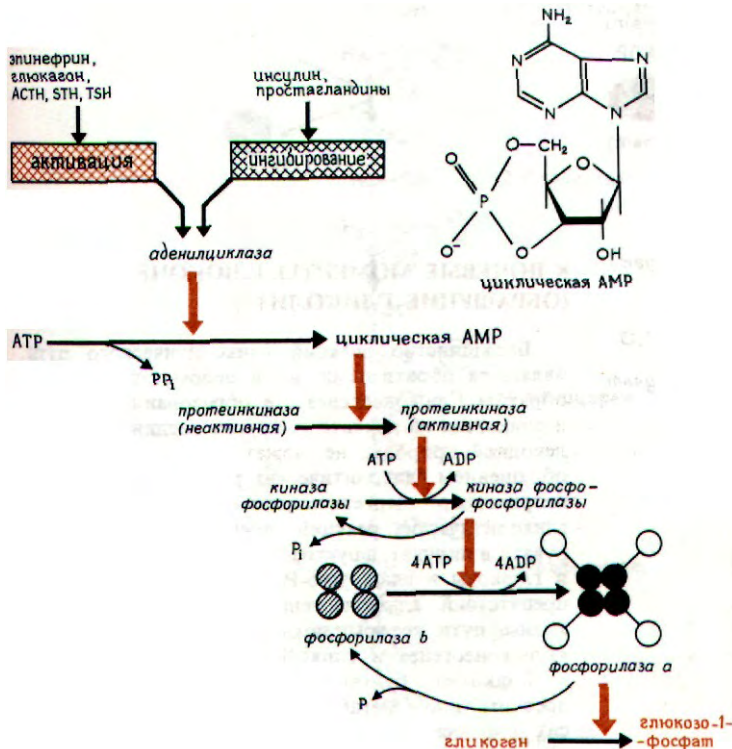


## ФОСФОРОЛИТИЧЕСКАЯ ДЕГРАДАЦИЯ ГЛИКОГЕНА

В ходе этого процесса *фосфорилаза* отщепляет глюкозу, имеющую свободную 4-ОН-группу с невосстанавливающего конца полисахарида в виде глюкозо-1-фосфата. Эта реакция приводит к освобождению нового концевой остатка со свободной 4-ОН-группой. Процесс последовательного отщепления будет продолжаться до тех пор, пока в полисахаридной цепи не останется приблизительно четыре остатка глюкозы до места разветвления, т.е. до (1→6)-связи. На этой стадии, когда действие фосфорилазы прекращается, активируется олиготрансфераза, способная отщеплять мальтотриозу от укороченной цепи и переносить ее к невосстанавливающему концу полисахарида, привязывая ее (1→4)-гликозидной связью.

Отщепление оставшихся после действия олиготрансферазы молекул глюкозы, связанных (1→6)-связями, происходит под действием амило-(1→6)-α-D-глюкозидазы.

Совместное действие этих двух ферментов приводит к образованию достаточно длинных неразветвленных цепей, которые вновь могут расщепляться фосфорилазой.



## ВНУТРИКЛЕТОЧНАЯ ФОСФОРИЛАЗА СУЩЕСТВУЕТ В ДВУХ ФОРМАХ

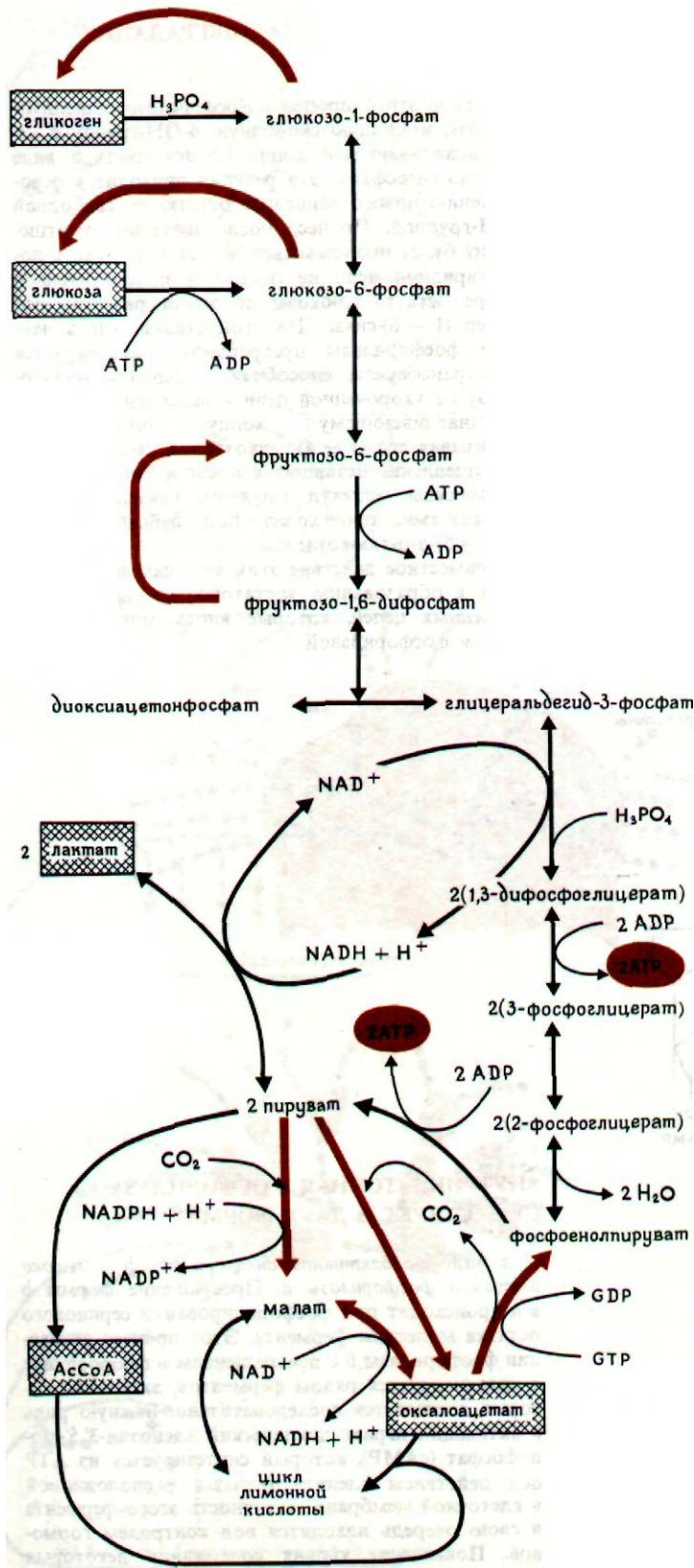
в виде малоактивной *фосфорилазы b* и высоко активной *фосфорилазы a*. Превращение формы *b* в *a* происходит при фосфорилировании серинового остатка молекулы фермента. Этот процесс активации *фосфорилазы b* с превращением в *фосфорилазу a* катализируется рядом ферментов, активацию которых достигается последовательно. Важную роль в активации играет циклический аденозин-3',5'-монофосфат (сАМР), который синтезируется из АТФ под действием аденилатциклазы, расположенной в клеточной мембране. Активность этого фермента в свою очередь находится под контролем гормонов. Повышение уровня содержания некоторых гормонов, таких, как адреналин и глюкагон, служит мощным сигналом для запуска процесса гликогенолиза.

## ГЛИКОЛИЗ

Термин гликолиз означает анаэробное разрушение глюкозы. Процесс включает следующие основные этапы:

1. Превращение глюкозы в глюкозо-6-фосфат.
2. Превращение глюкозо-6-фосфата в два продукта, содержащих по три углеродных атома и способных к дальнейшему окислению. В ходе этих превращений происходит изомеризация производного глюкозы и дальнейшее фосфорилирование, дестабилизирующее молекулу сахара. Возникающая лабильная молекула легко распадается до двух молекул триозофосфатов.
3. Окисление глицеральдегид-3-фосфата до 3-фосфоглицериновой кислоты через стадию образования 1,3-ди-Р-глицериновой кислоты (анаэробное фосфорилирование). На этой стадии образуется 2 молекулы АТФ в расчете на 1 молекулу глюкозы.
4. Образование пирувата. Превращение 3-Р-глицериновой кислоты в пируват сопровождается синтезом еще одной молекулы АТФ (2 молекулы АТФ на молекулу глюкозы).

5. Превращение пирувата в лактат — заключительный этап гликолиза. В этой реакции  $\text{NADH}$  (кофермент лактатдегидрогеназы), получившийся в процессе превращения глицеральдегид-3-фосфата, окисляется. В аэробных условиях образования лактата не происходит; в присутствии кислорода декарбоксилирование пирувата приводит к образованию ацетил- $\text{CoA}$ , который превращается далее в цикле трикарбоновых кислот. Восстановленный  $\text{NADH}$  вновь окисляется в процессе работы дыхательной цепи.

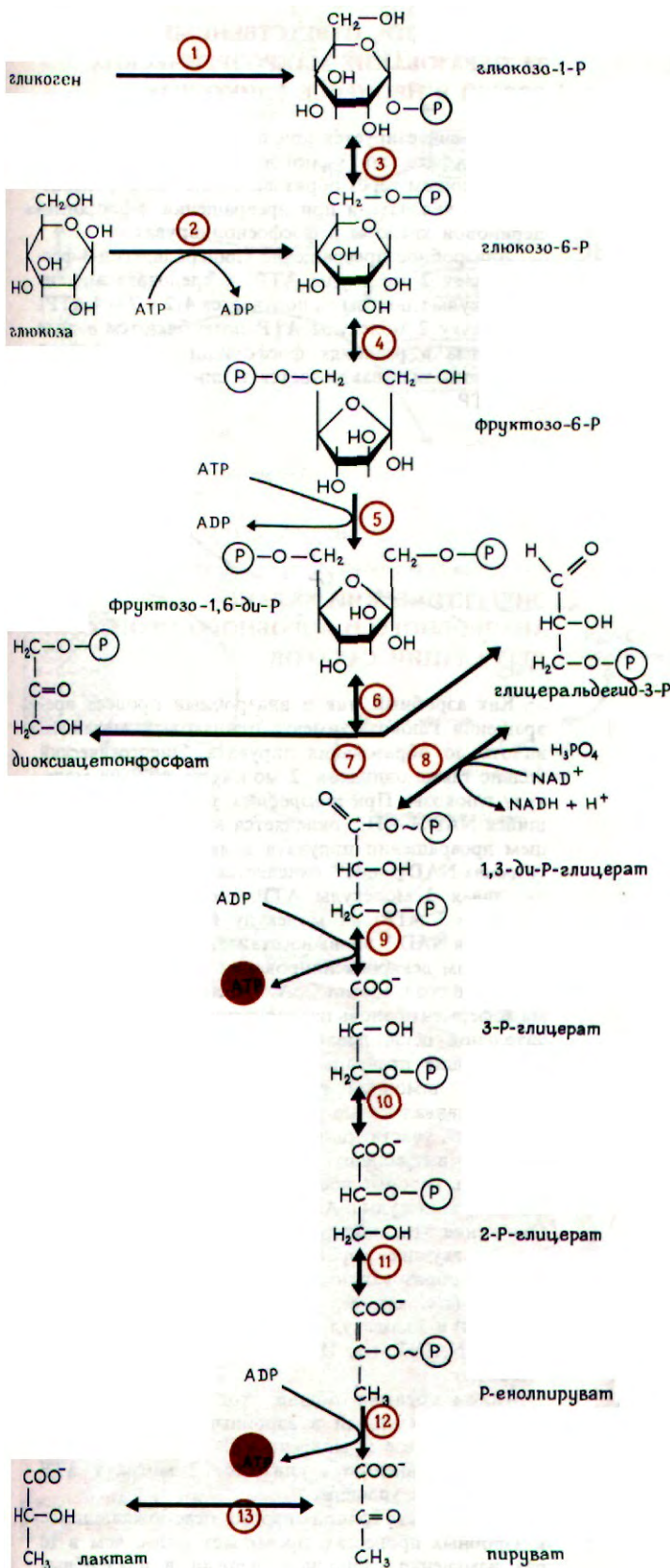


## КЛЮЧЕВЫЕ МОМЕНТЫ ГЛЮКОНЕОГЕНЕЗА (ОБРАЩЕНИЕ ГЛИКОЛИЗА)

Большинство реакций гликолитического пути являются обратимыми, но в целом гликолиз необратим. Глюконеогенез, т.е. образование глюкозы и гликогена из лактата и других соединений неуглеводной природы, не может протекать простым обращением гликолитических реакций из-за неблагоприятного энергетического баланса некоторых гликолитических реакций: превращения Р-енолпирувата в пируват, фруктозо-6-Р в фруктозо-1,6-ди-Р и глюкозы в глюкозо-6-Р. Для преодоления этих препятствий глюконеогенез протекает через обходные пути, которые показаны на схеме к разделу «Глюконеогенез и гликогонеогенез» (см. ниже).

Гликолиз, будучи филогенетически наиболее древним типом метаболизма глюкозы, остается до сих пор основным путем превращения глюкозы как в анаэробных условиях, так и в присутствии кислорода у всех живых организмов.

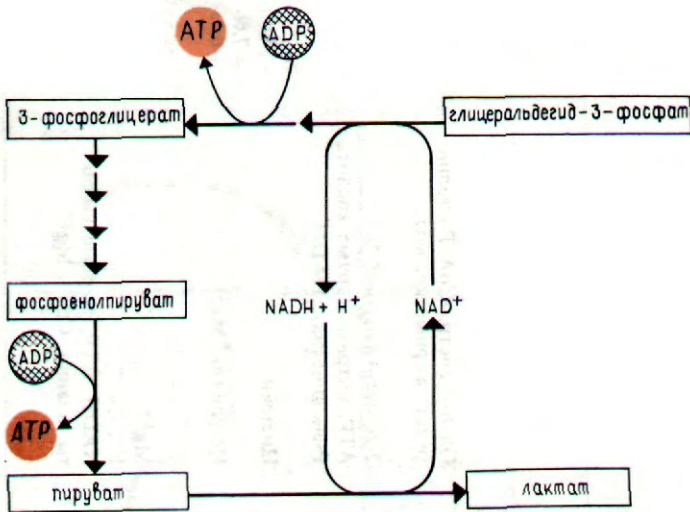




Номер реакции	Фермент	Коферменты и кофакторы	Активаторы, стимуляторы	Ингибиторы	$\Delta G^{\circ}$ , кДж/моль
1	Гликогенфосфорилаза				-19,68
2	Гексокиназа (гликокиназа)	$P_i$ $Mg^{2+}$	$Mg^{2+}$ , ADP, инсулин	Glc-6-Р, ацетил-СоА, Р-енолпируват, жирные кислоты	-14,31
3	Фосфоглицеральдегид-3-фосфат-дегидрогеназа	$Mg^{2+}$ , глюкозо-1,6-ди-Р $Mg^{2+}$	ADP, АМР, $K^+$ , $NH_4^+$ , инсулин, адреналин $Fe^{2+}$ , $Co^{2+}$ , $Zn^{2+}$	2-дезоксиглюкозо-6-Р АТР, цитрат, жирные кислоты, Р-енолпируват, NADH	+1,88 -14,23
4	Фосфоглицеральдегид-3-фосфат-дегидрогеназа	$Mg^{2+}$	Арсенат	Цистеин	-24,00 +7,66 +6,28
5	Альдолаза	$Mg^{2+}$		Иодоацетат, $Mg^{2+}$	-28,37 +4,43
6	Триозофосфатизомераза	$Mg^{2+}$ , $Mn^{2+}$		$Mg^{2+}$ $F^-$ , $Ca^{2+}$	+1,84
7	Глицеральдегид-3-фосфат-дегидрогеназа	$Mg^{2+}$ , $Mn^{2+}$		NADH, АТР, жирные кислоты, аланин, $Ca^{2+}$ , $Mg^{2+}$	-23,94
8	Глицеральдегид-3-фосфат-дегидрогеназа	$Mg^{2+}$ , $Mn^{2+}$			-
9	Фосфоглицераткиназа	$Mg^{2+}$			-
10	Фосфоглицеромутаза	$Mg^{2+}$ , $Mn^{2+}$			-
11	Енолаза	$K^+$ , фруктозо-1,6-ди-Р, галактозо-3-Р, глюкозо-6-Р			-
12	Пируваткиназа	$NAD^+$			-
13	Лактатдегидрогеназа				-25,12



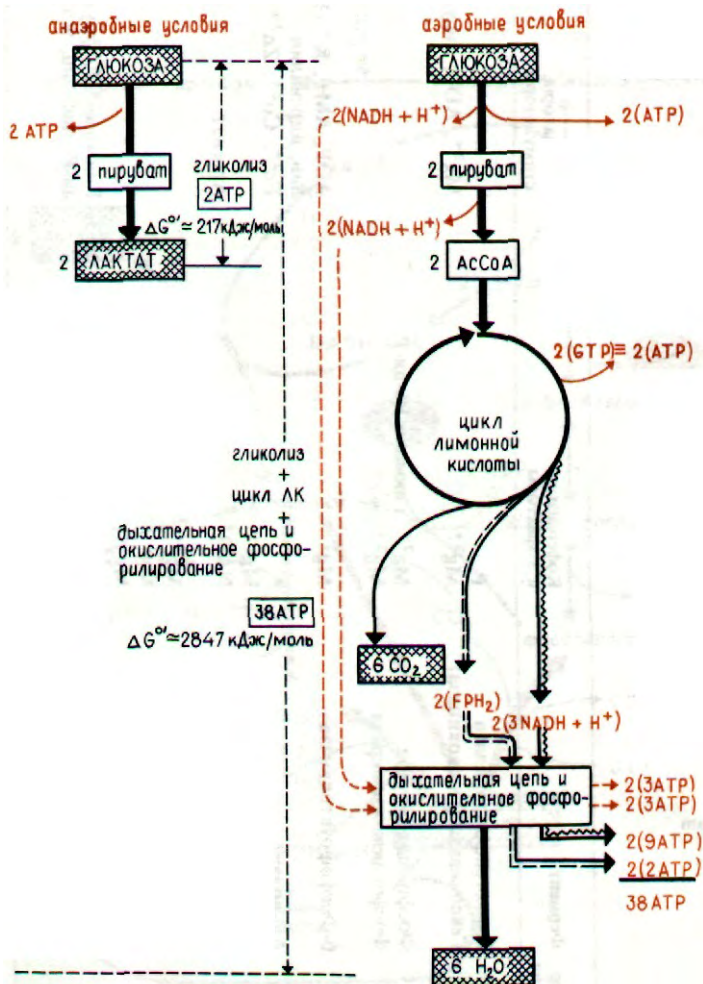
## ДВЕ РЕАКЦИИ, ОТВЕТСТВЕННЫЕ ЗА ОБРАЗОВАНИЕ МАКРОЭРГИЧЕСКИХ СВЯЗЕЙ В ПРОЦЕССЕ ГЛИКОЛИЗА



АТР синтезируется при окислении глицеральдегид-3-фосфата до 3-фосфоглицериновой кислоты, протекающем через образование 1,3-дифосфоглицериновой кислоты, и при превращении 2-фосфоглицериновой кислоты в фосфоенолпируват.

Анаэробное превращение глицеральдегид-3-фосфата дает 2 молекулы АТР и, следовательно, из 1 молекулы глюкозы их получается 4 ( $2 \times 2 = 4$  АТР). Поскольку 2 молекулы АТР потребляются в ходе гликолиза в реакциях фосфорилирования, общий итог гликолиза заключается в синтезе двух молекул АТР.

## ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ БАЛАНС АНАЭРОБНОГО И АЭРОБНОГО ПРОЦЕССОВ ДЕГРАДАЦИИ САХАРОВ



Как аэробный, так и анаэробный процесс превращения глюкозы имеют одинаковый механизм вплоть до образования пирувата. Энергетический баланс также одинаков: 2 молекулы АТР на молекулу глюкозы. При *анаэробных условиях* образующийся  $\text{NADH} + \text{H}^+$  окисляется вновь при дальнейшем превращении пирувата в лактат. В *аэробных условиях*  $\text{NADH} + \text{H}^+$  окисляется в дыхательной цепи, давая 3 молекулы АТР, т.е. шесть молекул АТР ( $2 \times 3$  АТР) на молекулу глюкозы. Образовавшийся  $\text{NAD}^+$  вновь восстанавливается при окислительном декарбоксилировании пирувата, превращающего его в ацетил-СоА, а восстановленная форма кофермента вновь подвергается окислению в дыхательной цепи, давая еще шесть молекул АТР. Дальнейшие превращения 2 молекул ацетил-СоА в цикле лимонной кислоты дают 2 молекулы ГТР, эквивалентные 2 молекулам АТР. Дегидрогеназы, участвующие в работе цикла лимонной кислоты, выщепляют из субстратов  $4 \times 2$  атомов водорода, которые поступают в дыхательную цепь в виде 1 молекулы  $\text{FADH}_2$  и трех молекул  $\text{NADH}$ . Окисление этих коферментов в дыхательной цепи и сопутствующее аэробное фосфорилирование приводят к образованию 2 молекул АТР окислением  $\text{FADH}_2$  (т.е. четырех молекул АТР на молекулу глюкозы) и 3 молекул АТР окислением каждой молекулы  $\text{NADH}$  (т.е. 18 молекул АТР на молекулу глюкозы).

Таким образом, общий итог образования макроэргических связей в аэробных условиях выражается в синтезе 38 молекул АТР на молекулу глюкозы по сравнению с синтезом 2 молекул АТР в анаэробных условиях.

Величина свободной энергии, освобождающаяся в аэробных процессах, превышает более чем в 10 раз изменение свободной энергии в анаэробных условиях.

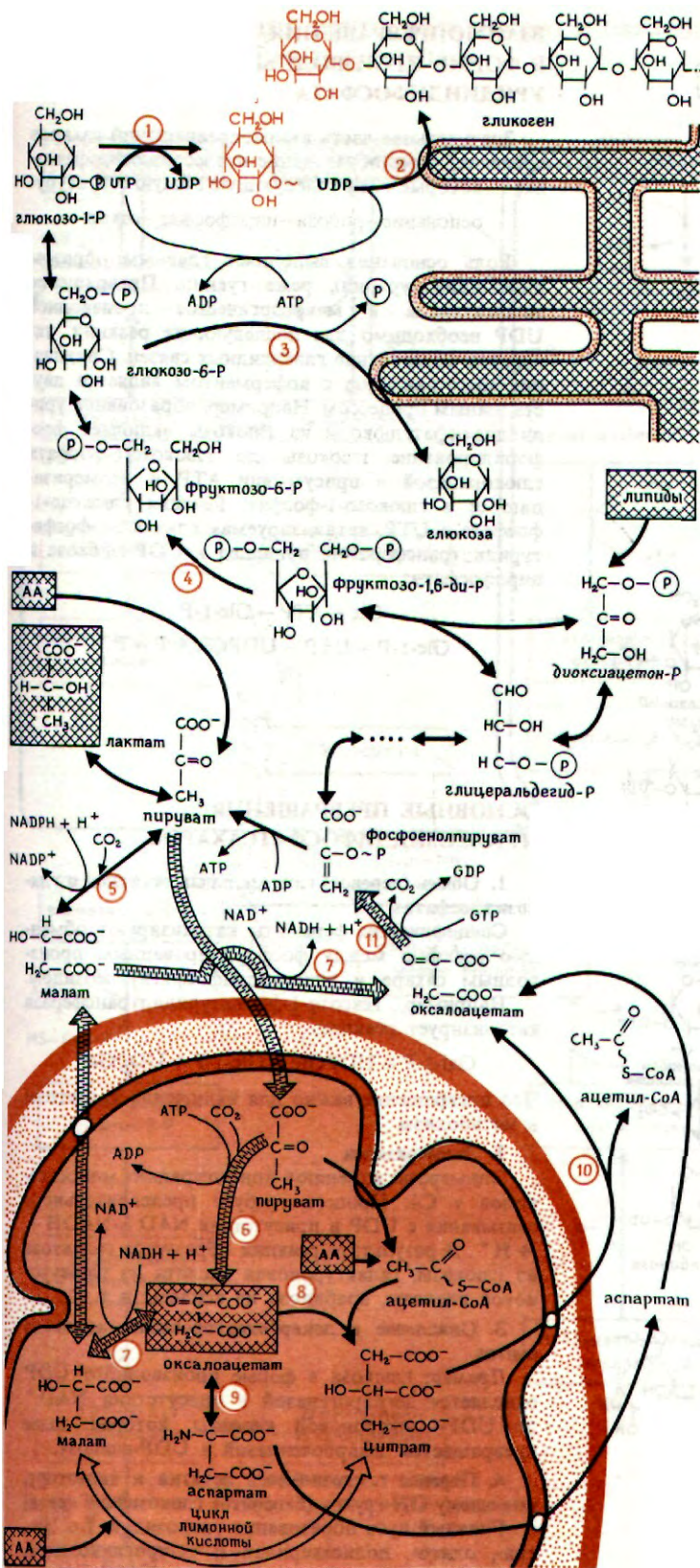
## ГЛЮКОНЕОГЕНЕЗ И ГЛИКОГЕНЕОГЕНЕЗ

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

1. Образование фосфоенолпирувата из пирувата протекает через оксалоацетат. Основной путь превращения пирувата в оксалоацетат локализован в митохондриях и происходит следующим образом. После прохождения через мембрану митохондрий пируват карбоксилируется пируваткарбоксилазой до оксалоацетата, который выходит из митохондрий в цитоплазму в виде малата, цитрата и аспартата. Путь через малат в количественном отношении наиболее важен; оксалоацетат восстанавливается малатдегидрогеназой митохондрий до малата, который переносится в цитоплазму и затем вновь превращается в оксалоацетат цитоплазматической малатдегидрогеназой. (Кроме того, в цитоплазме происходит прямое превращение пирувата в малат, так называемое восстановительное карбоксилирование; количественный вклад этого процесса невелик.) Другой важный путь переноса оксалоацетата из митохондрий в цитоплазму протекает через образование цитрата: оксалоацетат конденсируется с ацетил-СоА под действием цитратсинтазы. Образующийся цитрат разлагается цитрат-омыляющим ферментом. Перенос оксалоацетата в виде аспартата количественно менее важен. Превращение оксалоацетата в фосфоенолпируват включает за счет действия ТТР или GTP одновременное декарбоксилирование и фосфорилирование, катализируемое фосфоенолпируваткарбоксикиназой.

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

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



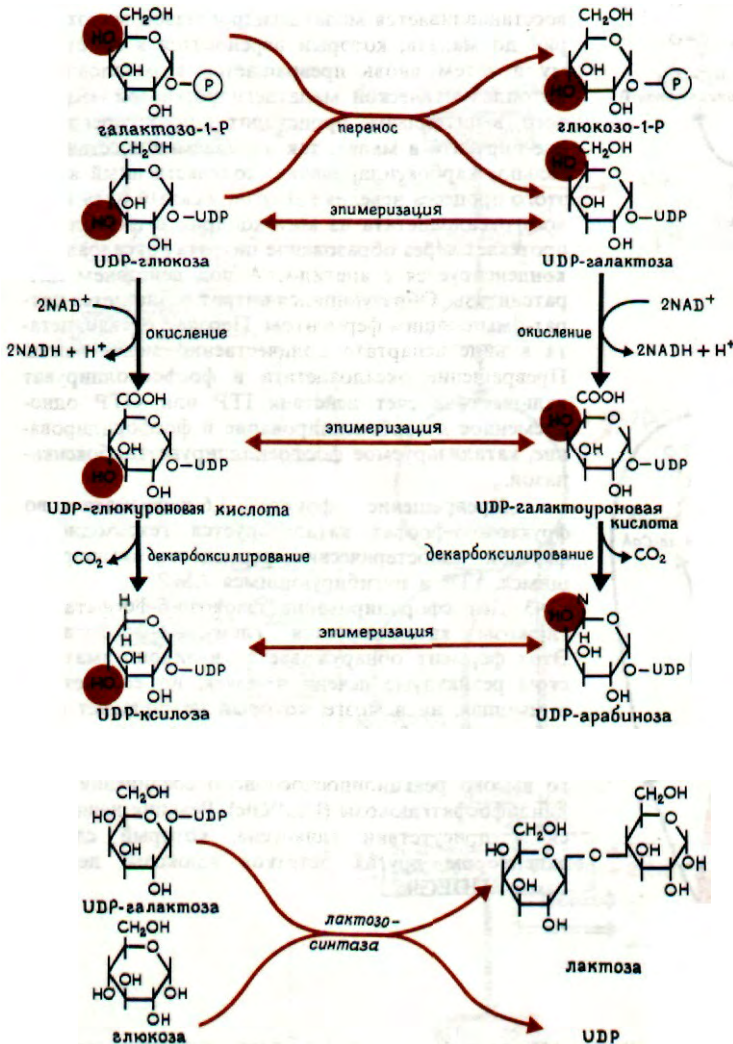
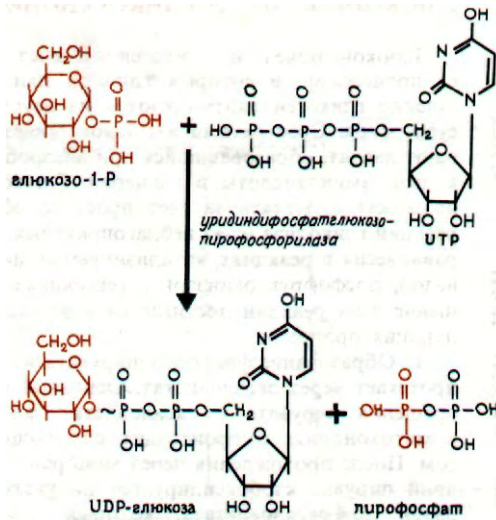
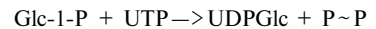
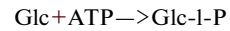


## ВЗАИМОПРЕВРАЩЕНИЯ МОНОСАХАРИДОВ В ФОРМЕ ПРОИЗВОДНЫХ УРИДИДИФОСФАТА

Значительная часть взаимопревращений сахаров протекает через образование нуклеозидифосфатсахаров, которые имеют следующую общую структуру:

основание—рибоза—пирофосфат—сахар

Роль основания выполняет главным образом пиримидин (урацил), реже гуанин. Превращение моносахарида в макроэргическое производное UDP необходимо для последующих реакций, таких, как образование гликозидных связей. Связывание моносахаридов с коферментом является двухстадийным процессом. Например, образование уридилдифосфатглюкозы из глюкозы включает фосфорилирование глюкозы до глюкозо-6-фосфата глюкокиназой в присутствии ATP и изомеризацию ее в глюкозо-1-фосфат. Реакция глюкозо-1-фосфата с UTP, катализируемая глюкозо-1-фосфатуридилтрансферазой, приводит к UDP-глюкозе и пирофосфату:

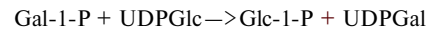


## ОСНОВНЫЕ ПРЕВРАЩЕНИЯ НУКЛЕОЗИДИДФОСФАТСАХАРОВ

### 1. Обмен (перенос) гликозильных остатков в гликозилфосфатах

Специфические ферменты катализируют обменную реакцию между фосфорилированным производным сахара и гликозилдифосфатнуклеозидом.

Например, гексозо-1-фосфатуридилтрансфераза катализирует реакцию



Это превращение важно для включения галактозы в метаболизм.

### 2. Эпимеризация

Эпимеразы изменяют конфигурацию моносахаридов у C4. Процесс требует предварительного связывания с UDP и присутствия NAD<sup>+</sup>/NADH + H<sup>+</sup>. В результате реакции образуется галактоза из глюкозы, галактурановая кислота из глюкуроновой кислоты, арабиноза из ксилозы и т.д.

### 3. Окисление и декарбоксилирование гексоз до пентоз

*Пример:* глюкоза в форме производного UDP окисляется дегидрогеназой в присутствии NAD<sup>+</sup> до UDP-глюкуроновой кислоты, которая далее превращается декарбоксилазой в UDP-ксилозу.

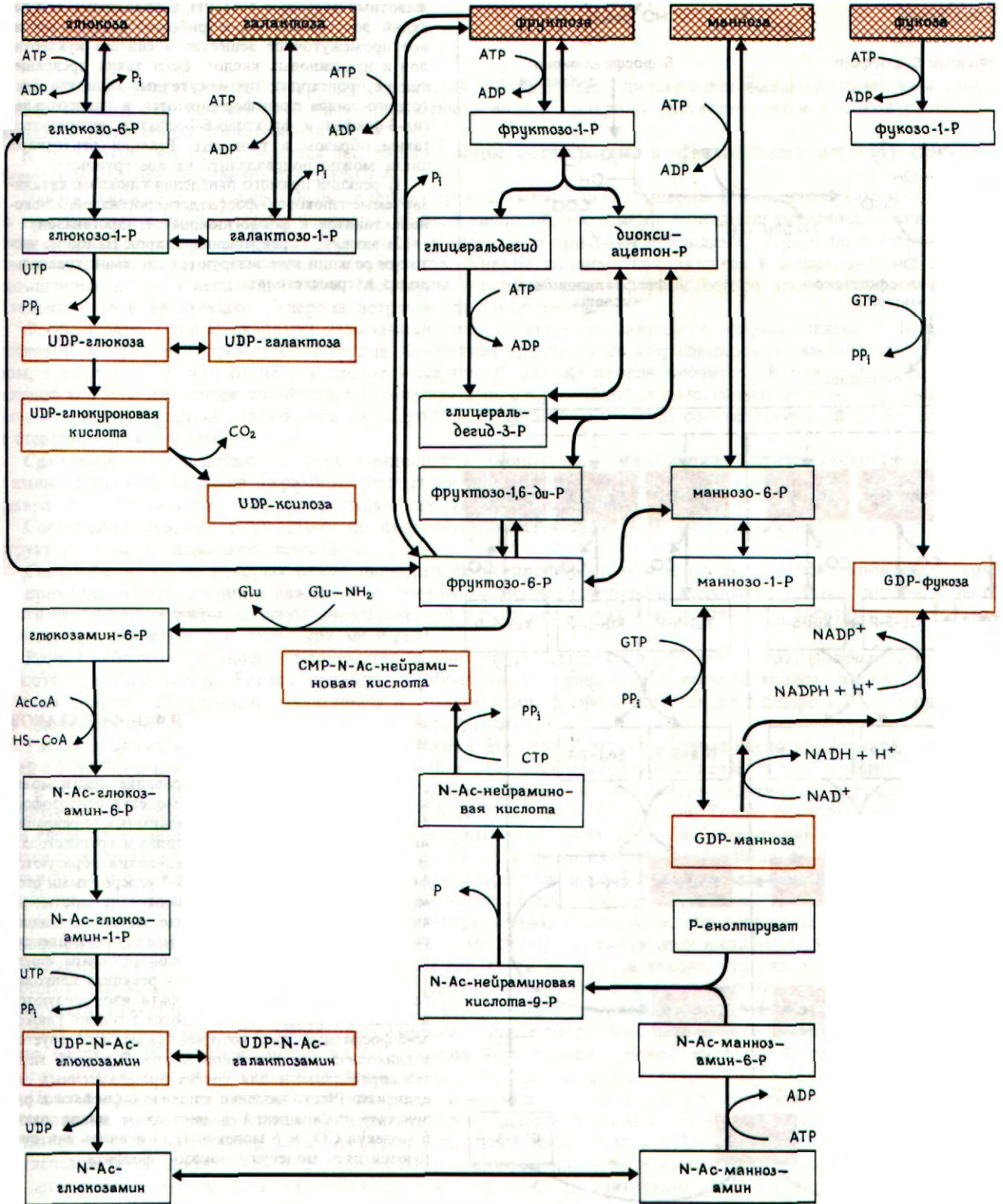
### 4. Перенос гликозильного остатка к акцептору, имеющему ОН-группу (биосинтез гликозидной связи)

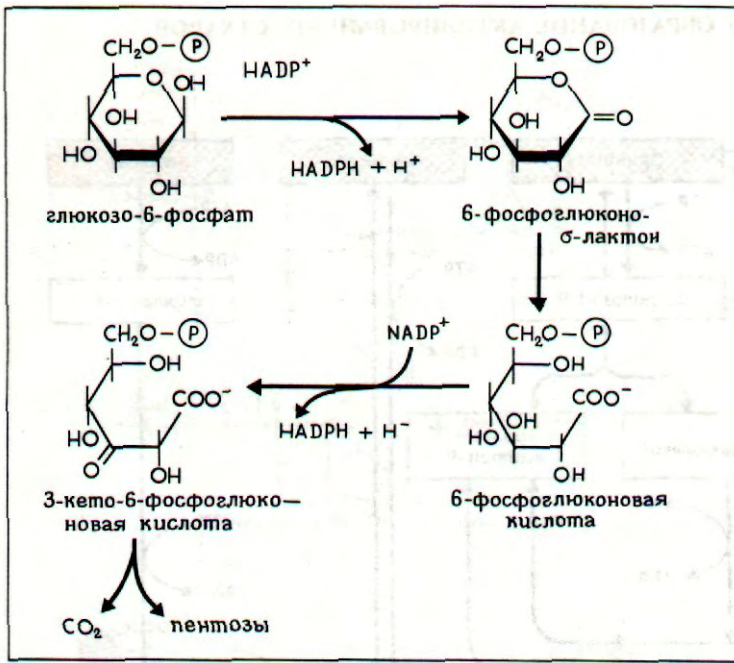
Главный путь образования гликозидов, т.е. ди-, три-, олиго-, полисахаридов и гетерогликозидов, состоит в переносе гликозильных остатков, активированных связыванием с нуклеозиддифосфатами.

*Пример:* синтез лактозы.



**ВЗАИМОПРЕВРАЩЕНИЯ НЕКОТОРЫХ ГЕКСОЗ И ОБРАЗОВАНИЕ АКТИВИРОВАННЫХ САХАРОВ  
ДЛЯ ПОЛИСАХАРИДНОГО СИНТЕЗА**



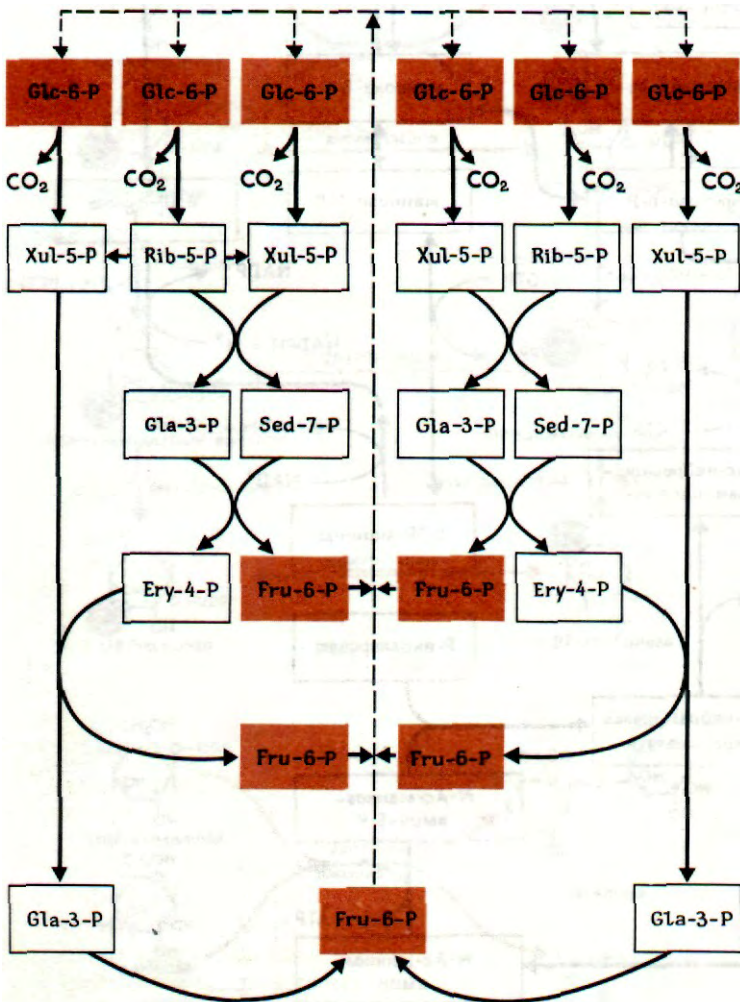


## ПЕНТОЗНЫЙ ЦИКЛ

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

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

2) взаимные превращения сахаров. Наиболее часто эти реакции катализируются системой трансальдоз и транскетолаз.



## ВЗАИМНЫЕ ПРЕВРАЩЕНИЯ ФОСФОСАХАРОВ В ПЕНТОЗНОМ ЦИКЛЕ

Окисление и декарбоксилирование шести молекул глюкозо-6-фосфата дает 6 молекул пентозофосфата, которые способны к взаимным превращениям под действием трансальдоз и транскетолаз. В качестве промежуточных соединений образуются фосфорилированные эфиры с 3-7 углеродными атомами. Из этих эфиров получают четыре молекулы фруктозо-6-фосфата и две молекулы глицеральдегид-3-фосфата. Эти две молекулы конденсируются с образованием фосфорного эфира фруктозы или превращаются далее в реакциях гликолиза. Молекулы фруктозо-6-фосфата изомеризуются в глюкозо-6-фосфат и включаются в общий глюкозо-6-фосфатный пул, который далее используется в гликолизе или пентозном цикле. В равной мере это справедливо и для других промежуточных соединений. Шесть молекул глюкозо-6-фосфата в результате превращений в пентозном цикле дают 6 молекул  $\text{CO}_2$  и 6 молекул  $\text{H}_2\text{O}$  и вновь синтезируются пять молекул глюкозо-6-фосфата.



## Структура и метаболизм липидов и стероидов

# VI

Липиды представляют собой группу соединений, обладающих одинаковыми физико-химическими свойствами, в частности ограниченной растворимостью в воде и полярных растворителях и высокой растворимостью в неполярных растворителях.

К этой группе веществ относятся нейтральные жиры, фосфолипиды и сфинголипиды. Все эти соединения имеют общего предшественника - ацил-СоА.

*Нейтральные жиры и фосфолипиды* содержат трехосновный спирт глицерин. В зависимости от того, сколько гидроксильных групп этерифицировано жирной кислотой, различают моноацилглицерины, диацилглицерины и триацилглицерины (ранее их называли моно-, ди- и триацилглицеридами). Природные жиры всегда являются смесями различных триацилглицеринов. *Жирные кислоты*, находящиеся в жирах, могут быть как насыщенными, так и ненасыщенными. Молекулы кислот обычно содержат четное число атомов углерода. Кислоты с 16 и 18 атомами углерода встречаются наиболее часто.

*Фосфатами (фосфолипидами)* называются диацилглицерины, связанные эфирной связью с фосфорной кислотой по третьей гидроксильной группе. Фосфатная группа далее этерифицирована аминоспиртом (холином, этаноламином) или оксиаминокислотой (серином), или же иногда инозитом. В плазмалогенах вместо жирной кислоты находится длинная алифатическая цепь с  $\alpha,\beta$ -двойной связью, связанная с  $\alpha$ -углеродным атомом глицерина эфирной связью; при ее гидролизе получается альдегид, соответствующий пальмитиновой и стеариновой кислотам.

*Сфинголипидами* называются эфиры аминоспирта - сфингозина. Они содержат жирную кислоту, связанную с аминогруппой сфингозина (церамид). Одна гидроксильная группа сфингозина остается обычно свободной; сахара (в гликолипидах) или фосфорилхолины (в сфингомиелинах) связаны с первичным гидроксилом.

Соединения, сходные с липидами по физико-химическим свойствам, но отличающиеся от липидов по структуре, обычно называют *липоидами*.

*Стероиды*, в основе которых лежит циклопентапергидрофенантрен, относятся к группе липоидов. К ним же принадлежат холестерин и важные биологически активные гормоны и желчные кислоты. Липиды, в частности нейтральные жиры, создают энергетический резерв организма и являются компонентами высокоорганизованных структур (биологических мембран).

*Распад нейтральных липидов* происходит за счет гидролитического действия *липаз*: *фосфолипиды* расщепляются *фосфолипазами*. Распад приводит к образованию глицерина и жирных кислот, иногда фосфатов и аминоспиртов. *Глицерин*, получающийся в этой реакции, фосфорилируется до глицеро-1-Р, дегидрируется до диоксиацетон-Р и участвует далее в процессе гликолиза.

*Распад жирных кислот в результате  $\beta$ -окисления*. На первой стадии жирные кислоты активируются реакцией с HS-СоА в присутствии АТФ. Образующийся ацил-СоА постепенно окисляется при помощи дегидрогеназ и гидратаз до  $\beta$ -окси- и  $\beta$ -кетокислот, из которых молекула ацетил-СоА («активная уксусная кислота») образуется под действием другой молекулы СоА со свободной SH-группой. Таким образом, молекула жирной кислоты в конце концов распадается до продуктов, имеющих всего два углеродных атома, превращающихся в цикле трикарбоновых кислот. Восстановленные коферменты впоследствии вновь окисляются в дыхательной цепи с одновременным образованием макроэргических фосфатов. С точки зрения образования АТФ, окисление жирных кислот составляет основной энергетический резерв организма.

*Синтез жирных кислот* катализируется полиферментным комплексом, образованным шестью субъединицами, причем каждая соответствует индивидуальному ферменту, входящему в стабильную структуру, трудно разделяемую на компоненты. Пространственная структура комплекса такова, что каждый компонент может перенести промежуточные соединения от активного центра одного к активному центру другого фермента. В результате такой организации конечный продукт, для биосинтеза которого требуется целый ряд отдельных реакций, образуется быстро и эффективно. Промежуточные соединения переносятся молекулой ацилпереносщего белка (АПБ), связывающего их с остатком 4-фосфопантотеновой кислоты. В данном случае биосинтез отличается от  $\beta$ -окисления жирных кислот, где ацильная группа связана с коферментом А.

Последовательность биосинтетических реакций начинается от ацетил-СоА, который в результате карбоксилирования на биотинсодержащем ферменте превращается в малонил-СоА. Малонил-СоА и ацетил-СоА переносятся к концевой *сульфгидрильной* группе простетической группы АПБ. Ацетоацетил-S-АПБ образуется конденсацией малонил-S-АПБ и ацетил-S-АПБ (с одновременным выделением  $\text{CO}_2$ ) и постепенно гидрируется, дегидратируется и восстанавливается опять в бутирил-СоА. Повторение этого процесса приводит к образованию пальмитиновой кислоты.



Процесс наращивания углеродной цепи жирных кислот протекает либо внутри митохондрий присоединением ацетил-СоА к ацил-СоА, либо в эндоплазматическом ретикулуме, где цепь удлиняется при помощи малонил-СоА.

*Главные различия между биосинтезом жирных кислот и их  $\beta$ -окислением:* а) синтез происходит в цитоплазме, а окисление - в митохондриях; б) функции переносчика в синтезе выполняет АПБ, при  $\beta$ -окислении - HS-СоА; в) синтез происходит через промежуточное образование малонил-СоА; г) в биосинтезе только NADPH играет роль кофермента, в  $\beta$ -окислении участвуют как NAD<sup>+</sup>, так и FAD.

*Синтез нейтральных жиров* происходит за счет этерификации глицеро-1-фосфата двумя активированными жирными кислотами. Фосфатная группа образованной фосфатидной кислоты отщепляется фосфатазами, что приводит к образованию диацилглицерина, который далее реагирует с другой активированной жирной кислотой, образуя триацилглицерин. Триацилглицерины составляют энергетическое депо организма. Они обладают очень высокой теплотой окисления, равной 37,6 кДж/моль. Жиры локализованы в жировых клетках (адипоцитах) и характеризуются высокой скоростью метаболизма. Их превращение непосредственно регулируется гормонами, в частности инсулином и адреналином.

*Липопротеиды* служат для транспорта липидов в организме. Липопротеиды образуются в результате ассоциации фосфолипидов и белков в различных весовых соотношениях. Это соотношение ответственно за различие физических и химических свойств. Оно наиболее часто выражается с помощью плотности (плотность повышается с повышением содержания белка).

*Синтез фосфолипидов*, как и синтез нейтральных жиров, происходит через образование общего промежуточного соединения, L-фосфатидной кислоты, которая реагирует с СТР с образованием CDP-диацилглицерина. Данное соединение является исходным для синтеза фосфатидилинозита, фосфатидилглицерина и дифосфатидилглицерина. 1,2-Диацилглицерин, реагирующий с холином или этаноламином в виде производных CDP, является также предшественником фосфатидилхолина и фосфатидилэтанолamina. Главной функцией фосфолипидов является их участие в образовании мембран и механизме мембранной проницаемости, а также транспорт жиров в организме. Превращения фосфолипидов происходят с высокой скоростью. Биологический полупериод жизни фосфолипидов плазмы составляет примерно 24 ч, в то время как тот же период жизни фосфолипидов в мембранах в зависимости от типа клеток колеблется от нескольких часов до нескольких суток.

Сфинголипиды образуются в принципе по тому же пути, что и фосфолипиды. Непредельный аминоксирит сфингозин синтезируется конденсацией пальмитоил-СоА с серином с последующим дегидрированием флавопротеидами. Затем образуется важное промежуточное соединение *церамид*, при взаимодействии сфингозина с ацил-СоА. Углеводные компоненты включаются в молекулы гликолипидов в виде UDP-производных под действием специфических гликозилтрансфераз.

*Биосинтез стероидов и изопреноидов* также начинается с ацетил-СоА, который в результате конденсации превращается в ацетоацетил-СоА. Затем конденсацией с другой молекулой ацетил-СоА полученное соединение превращается в  $\beta$ -окси- $\beta$ -метилглутарил-СоА, из которого образуется мевалоновая кислота - одно из важнейших промежуточных соединений. Постепенное фосфорилирование и декарбоксилирование последнего приводят в конце концов к изопентилпирофосфату (активному изопрену). Это соединение представляет собой первичный строительный элемент, из которого ступенчатой конденсацией (количество атомов углерода возрастает все время на 5) образуются изопреноиды. Например, при синтезе холестерина происходят следующие реакции: изопентилпирофосфат (5C)  $\rightarrow$  геранилпирофосфат (10C)  $\rightarrow$  фарнезилпирофосфат (15C)  $\rightarrow$  сквален. После перегруппировки фарнезилпирофосфата (15C) в производное неролидола (15C) обе молекулы конденсируются по типу «голова к голове», давая углеводород сквалена (30C). Пространственная организация молекулы сквалена, сходная со структурой циклопентапергидрофенантрена, задается поверхностью специфического фермента, также катализирующего дальнейшие превращения сквалена: циклизацию, деметилирование и изомеризацию, приводящих через промежуточное образование ланостерина к получению холестерина. Последний является исходным материалом для биосинтеза стероидных гормонов, желчных кислот и витамина D.

*Биосинтез стероидных гормонов* начинается с прогестерона, образующегося из холестерина укорачиванием боковой цепи и изменениями в углеродном скелете (дегидрирование, изомеризация).

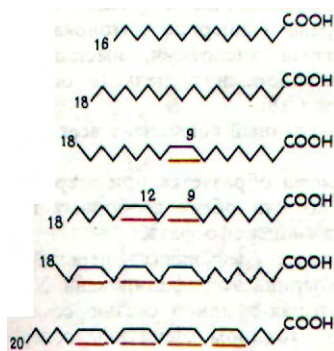
*Адренокортиковые гормоны* (кортизол, алдостерон) образуются из прогестерона за счет постепенного введения оксигрупп (катализируемого специфическими гидроксилазами в сочетании с цитохромом P-450 и NADPH).

*Половые гормоны* (тестостерон, эстрадиол) также образуются в результате превращений прогестерона.

*Желчные кислоты* образуются из холестерина в результате постепенного гидроксирования по С7- и С12-атомам и эпимеризации по С3-атому; так холестановая структура превращается в копростановую. Для повышения растворимости желчных кислот их сопрягают с глицином (образуется гликохолевая кислота) или таурином (образуется таурохолевая кислота). Эти кислоты при выделении с желчью в двенадцатиперстную кишку способствуют эмульгированию жиров, а также повышают активность липаз.

*Мевалоновая кислота* является важным промежуточным соединением в биосинтезе изопреноидов (терпенов), включая витамины А и К, убихинон, фитол и ряд других соединений.

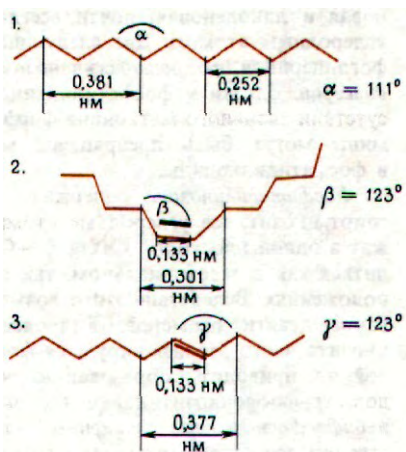
Кислота	Число атомов углерода	Положение двойной связи
пальмитиновая	16	—
стеариновая	18	—
олеиновая	18	9
линолевая	18	9, 12
линолиновая	18	9, 12, 15
арахидоновая	20	5, 8, 11, 14



## ЖИРНЫЕ КИСЛОТЫ

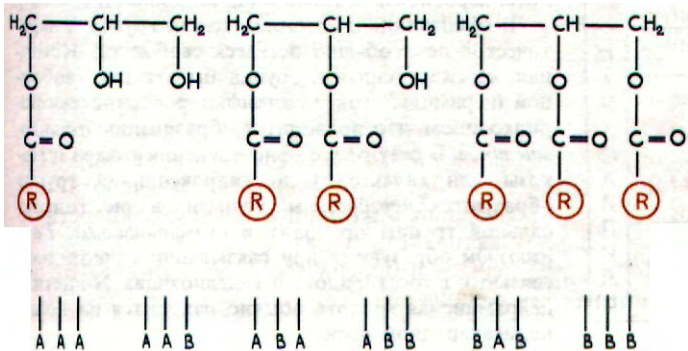
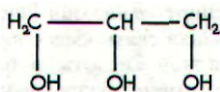
Жирные кислоты в природных жирах почти всегда содержат четное число атомов углерода. Основными компонентами являются кислоты с 16 (пальмитиновая) и 18 (стеариновая) углеродными атомами. Кроме насыщенных кислот в жирах присутствуют также ненасыщенные жирные кислоты (например, олеиновая кислота с двойной связью между C9 и C10, обозначаемой как  $\Delta^9$ ). Наличие двойной связи является причиной существования пространственной изомерии. *транс*-Изомер олеиновой кислоты называется элаидиновой кислотой. Линолевая кислота содержит две двойные связи ( $\Delta^{9,12}$ ), линоленовая кислота - три двойные связи ( $\Delta^{9,12,15}$ ) и арахидоновая кислота - четыре двойные связи ( $\Delta^{5,8,11,14}$ ).

## ВАЛЕНТНЫЕ УГЛЫ И РАССТОЯНИЯ МЕЖДУ УГЛЕРОДНЫМИ АТОМАМИ В ЖИРНЫХ КИСЛОТАХ



1. Насыщенная цепь
2. Ненасыщенные соединения с двойной связью, имеющие *цис*-конфигурацию
3. Ненасыщенные соединения с двойной связью, имеющие *транс*-конфигурацию

Насыщенные и ненасыщенные жирные кислоты значительно различаются по своей конфигурации. В насыщенных жирных кислотах углеводородная часть молекулы может существовать в виде бесконечного числа конформаций благодаря тому, что каждая связь углеродного скелета молекулы имеет полную свободу вращения. Жирные кислоты неупругого характера в углеводородной цепи имеют жесткий изгиб из-за отсутствия вращения вокруг двойной связи. В природных жирных кислотах, имеющих *цис*-конфигурацию относительно двойных связей, угол изгиба цепи составляет приблизительно 30% тогда как конфигурация кислот, обладающих *транс*-конфигурацией, почти не отличается от конформации насыщенных углеводородных цепей. *цис*-Изомеры менее устойчивы, чем *транс*-изомеры. Эти структурные особенности ненасыщенных жирных кислот имеют важное значение в биологии, особенно для мембран.



## ЭФИРЫ ГЛИЦЕРИНА

Глицерин, имея три спиртовые группы, может превращаться в ацилглицерины (старое название моноглицериды, диглицериды и триглицериды). Триацилглицерины, как правило, содержат две или три различные жирные кислоты. Триглицерин с двумя кислотами (A, B) может существовать в виде шести различных пространственных изомеров. Если с глицерином связаны три различные кислоты, возможно образование восемнадцати изомеров.

Такой расчет числа изомеров не учитывает различия между двумя углеродными атомами глицерина, первым и третьим, связанными с первичными спиртовыми группами. Принимая во внимание абсолютную конфигурацию, обозначают номером 1 атом углерода, находящийся спереди на проекции Фишера, в которой вторичная гидроксильная группа лежит слева от вертикально расположенной цепи углеродных атомов. В этом случае *sn* (стереоспецифическая нумерация) записывается перед названием соединения.

## ЛИПИДЫ НА ОСНОВЕ ГЛИЦЕРИНА. КЛАССИФИКАЦИЯ ФОСФАТИДОВ

*Нейтральные жиры* (моно-, ди- и триацилглицерины) являются эфирами глицерина с монокарбоновыми алифатическими кислотами, имеющими неразветвленную углеводородную цепь (в основном кислоты с С16 и С18).

$\alpha$ -Глицерофосфат - главный компонент всех глицерофосфатидов.

*Фосфатидная кислота* образуется при этерификации жирными кислотами обеих свободных гидроксильных групп  $\alpha$ -глицерофосфата.

В *фосфатидилхолинах* (лецитинах) первичная спиртовая группа глицерина этерифицирована фосфорной кислотой, которая эфирной связью соединена с аминокислотой - холином. Лецитины содержат все обычные кислоты нейтральных жиров.

Предельные жирные кислоты (пальмитиновая, стеариновая) химически связаны с гидроксильной группой  $\alpha$ -углеродного атома, а непредельные кислоты (олеиновая и линоленовая) почти всегда связаны с  $\beta$ -углеродным атомом. Две следующих группы фосфоглицеринов, *фосфатидилэтаноламин* и *фосфатидилсерин*, близки к фосфатидилхолинам. В присутствии активного метионина фосфатидилэтаноламины могут быть превращены метилированием в фосфатидилхолины.

*Фосфатидилинозит* содержит шестиосновный спирт инозит, все углеродные атомы которого лежат в одной плоскости. Связи С—ОН могут находиться как в экваториальном, так и в аксиальном положениях. Вследствие этого возможно существование девяти изомеров. Гидроксильные группы инозита часто этерифицируются фосфорной кислотой, что приводит к образованию дифосфоинозитидов, трифосфоинозитидов и т.д. *Фосфатидиловые* и *дифосфатидиловые глицерины* содержат соответственно две и три молекулы глицерина, связанные с остатками фосфорной кислоты.

## СФИНГОЛИПИДЫ

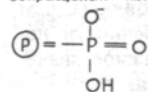
В состав сфинголипидов вместо глицерина входит аминокислотный спирт *сфингозин* (число углеродных атомов 18, двойная связь имеет транс-конфигурацию). Остаток жирной кислоты в большинстве случаев связан через аминогруппу сфингозина. Часто в состав сфинголипидов входят жирные кислоты с 24 атомами углерода (предельная лигноцеровая кислота, нервонная кислота с одной двойной связью).

В сфинголипидах гидроксильная группа алифатической цепи обычно остается свободной. Конечная же гидроксильная группа бывает как свободной (церамиды), так и этерифицированной фосфорилхолином, что приводит к образованию *сфингомиелинов*. В результате присоединения сахара (глюкозы или галактозы) по гидроксильной группе образуются *цереброзиды*. Сульфирование гидроксильной группы приводит к *сульфолипидам*. *Ганглиозиды* образуются при связывании гликозидной связью олигосахаридов; в ганглиозиде N-ацетилнейрамина кислота обычно находится на конце полисахаридной цепи.

$\text{H}_2\text{C}-\overset{\text{H}}{\text{C}}-\text{CH}_2$  (ГЛИЦЕРИН)

Ф О С Ф О Г Л И Ц Е Р И Д Ы	ж.к. ж.к. ж.к.	нейтральные жиры
	ж.к. ж.к. (P)	фосфатидная кислота
	ж.к. ж.к. (P)	фосфатидилхолины (лецитины) холин: $\text{—O—CH}_2\text{—CH}_2\text{—N}^+\text{(CH}_3\text{)}_3$
	ж.к. ж.к. (P)	фосфатидилэтаноламины (кефалины) этаноламин: $\text{—O—CH}_2\text{—CH}_2\text{—NH}_3^+$
	ж.к. ж.к. (P)	фосфатидилсерины (кефалины) серин: $\text{—O—CH}_2\text{—CH(NH}_3^+\text{)COO}^-$
	ж.к. ж.к. (P)	фосфатидилинозиты (инозитиды) инозит:
	ж.к. ж.к. (P)	фосфатидилглицерины глицерин: $\text{H}_2\text{C—CH(OH)—CH}_2$
	ж.к. ж.к. (P)	дифосфатидилглицерины (кардиолипиды) 
	ж.к. ж.к. (P)	плазмалогены этаноламин: $\text{—O—CH}_2\text{—CH}_2\text{—NH}_2$ холин: $\text{—O—CH}_2\text{—CH}_2\text{—N}^+\text{(CH}_3\text{)}_3$

Сокращения: ж.к.— жирная кислота



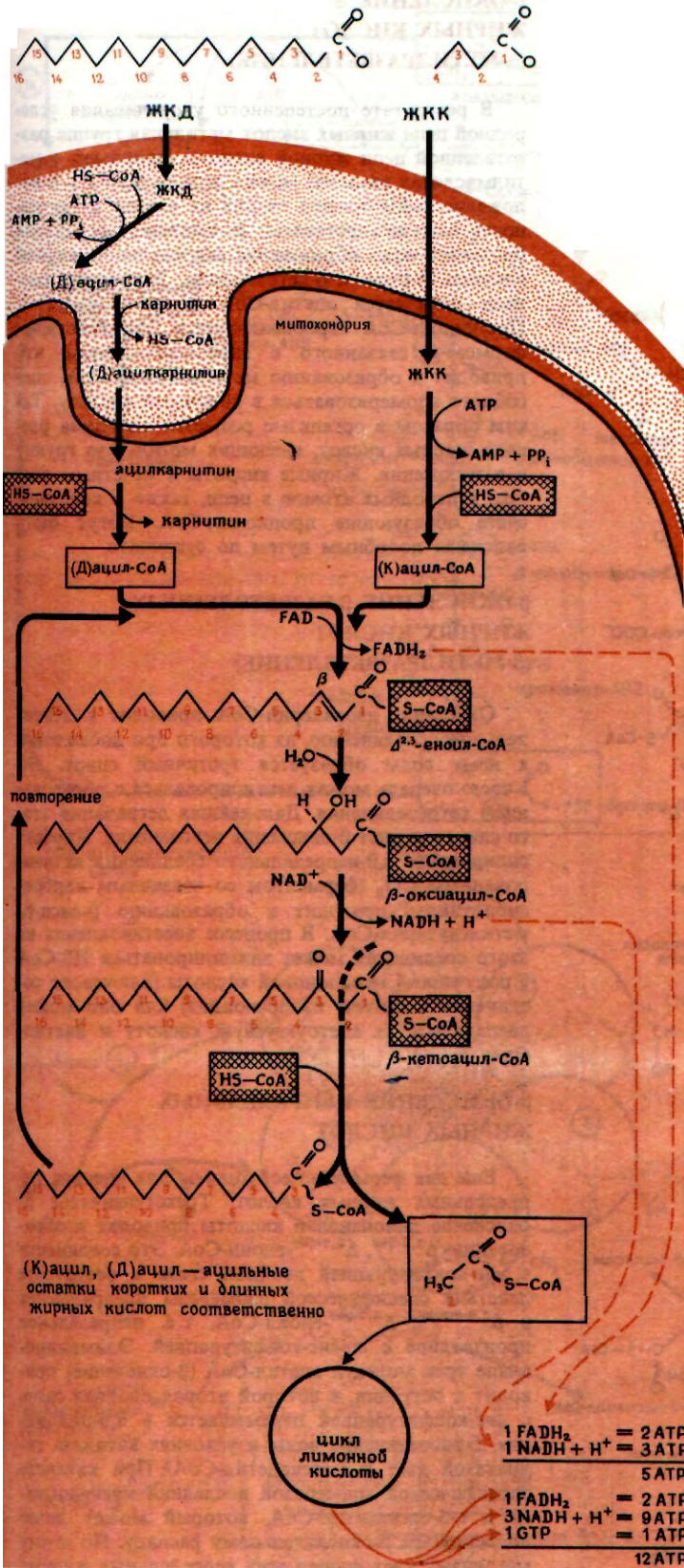
(СФИНГОЗИН)  
 $\text{O—CH}_2\text{—NH—CH(OH)—CH=CH—CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—CH}_3$

С Ф И Н Г О Л И П И Д Ы	(H)	ж.к.	церамиды	Г Л И К О Л И П И Д Ы
	(P) холин	ж.к.	сфингомиелины	
	Gal или Glc	ж.к.	цереброзиды	
	олигосахаридная цепь: Gal, Glc, GalNAc, NAc-нейраминановая кислота	ж.к.	ганглиозиды	
	сульфосахара: Glc—SO <sub>3</sub> H, Gal—SO <sub>3</sub> H	ж.к.	сульфолипиды	

Сокращение: ж.к.— жирная кислота



## β-ОКИСЛЕНИЕ ЖИРНЫХ КИСЛОТ



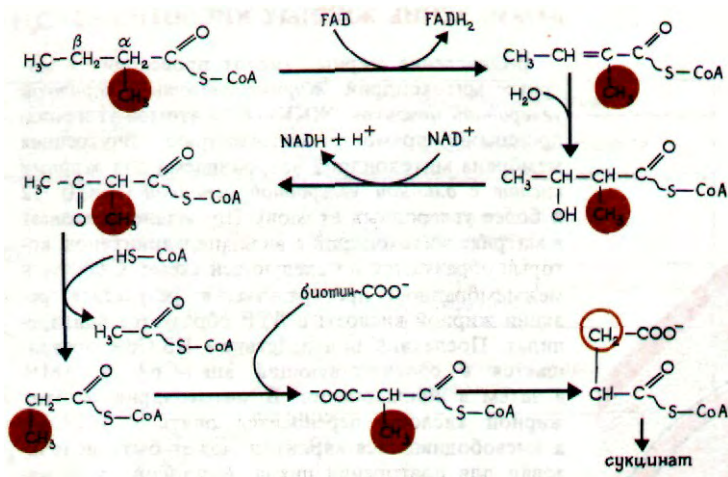
β-Окисление жирных кислот происходит в матриксе митохондрий. Жирные кислоты с короткой углеродной цепочкой (ЖКК) (4-10 атомов углерода) проникают прямо в митохондрию. Внутренняя мембрана митохондрий непроницаема для жирных кислот с длинной углеродной цепочкой (ЖКД) (12 и более углеродных атомов). Последние попадают в матрикс митохондрий в виде ацилкарнитинов, которые образуются по следующей схеме. Сначала в межмембранном пространстве в результате реакции жирной кислоты с АТР образуется ациладезилат. Последний под действием HS-CoA превращается в соответствующий ацил-СоА и АМР, а затем в ацилкарнитин. В митохондрии остаток жирной кислоты переносится опять к HS-CoA, а высвободившийся карнитин может быть использован для повторения цикла. Ацил-СоА, содержащий остатки кислот с длинной углеродной цепью, далее дегидрируется флавопротеиндегидрогеназой, в результате чего образуются β-ненасыщенные жирные кислоты, связанные с СоА. Присоединение воды к этим непредельным ацил-СоА ведет к получению β-оксиацил-СоА.

Вторичная гидроксильная группа β-оксиацил-СоА окисляется в кетогруппу дегидрогеназой, функционирующей в присутствии NAD<sup>+</sup>. Образованный тиоэфир очень лабилен. Ацетил-СоА появляется в результате расщепления β-кетокислоты в присутствии второй молекулы HS-CoA и β-кетотилазы. Жирная кислота, связанная с СоА, высвобождается и снова подвергается действию упомянутого выше фермента. При каждом новом повторении этого процесса молекула жирной кислоты укорачивается на два углеродных атома, которые идут на образование одной ацетильной группы в ацетил-СоА (в результате восемь молекул ацетил-СоА образуются из одной молекулы жирной кислоты C<sub>16</sub>).

### Энергетический выход

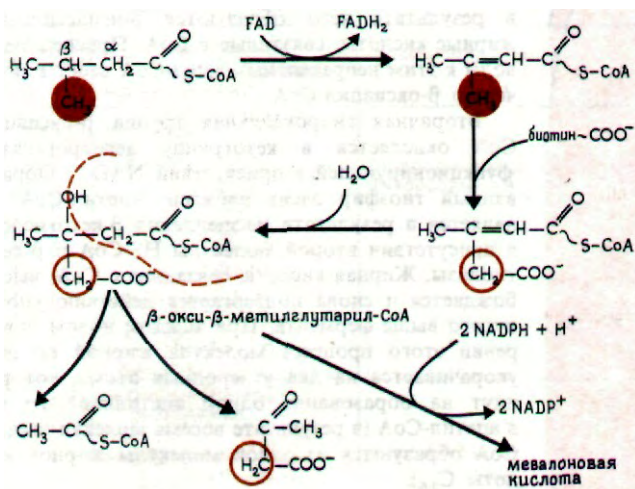
1 молекула NADH, 1 молекула FADH<sub>2</sub> и 1 молекула ацетил-СоА получают при укорачивании жирной кислоты на один двухуглеродный фрагмент. Ацетил-СоА далее превращается в цикле лимонной кислоты с образованием 1 молекулы GTP, 3 молекул NADH и 1 молекулы FADH<sub>2</sub>. С учетом окисления этих восстановленных коферментов в дыхательной цепи общий выход АТР составляет 17 молекул на каждый фрагмент из двух углеродных атомов.

## β-ОКИСЛЕНИЕ α-РАЗВЕТВЛЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ (α-МЕТИЛРАЗВЕТВЛЕНИЕ)



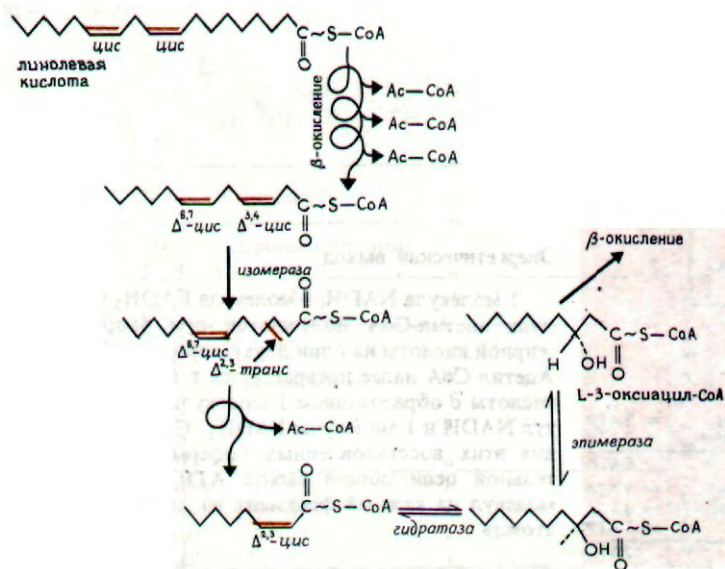
В результате постепенного укорачивания углеродной цепи жирных кислот метильная группа разветвленной цепи жирной кислоты (например, α-метилмасляная кислота) может перемещаться в β-положение. α-Метильная группа не влияет на активность ацилдегидрогеназы; дальнейшая деградация протекает через образование непредельной жирной кислоты, β-окси- и β-кетокислоты. В процессе распада появляется ацетил-CoA и пропионил-CoA. Пропионил-CoA карбоксилируется под действием фермента, связанного с карбоксибиотином, что приводит к образованию метилмалонил-CoA, способного изомеризоваться в яблочную кислоту. Таким образом в организме решается проблема распада жирных кислот, имеющих метильную группу в α-положении. Жирные кислоты с нечетным числом углеродных атомов в цепи, также в конечном счете образующие пропионил-CoA, могут быть окислены подобным путем до сукцината.

## β-ОКИСЛЕНИЕ β-РАЗВЕТВЛЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ (β-МЕТИЛРАЗВЕТВЛЕНИЕ)



Окисление изовалерил-CoA приводит к непредельному соединению, из которого при добавлении к нему воды образуется третичный спирт. Он в свою очередь может дегидрироваться с образованием кетосоединения. Дальнейшая деградация этого спирта за счет β-окисления невозможна. Карбоксилирование α,β-непредельного соединения активированным CO<sub>2</sub> (ферментом со связанным карбоксибиотином) приводит к образованию β-окси-β-метилглутарил-CoA. В процессе восстановления из этого соединения может элиминироваться HS-CoA с получением мевалоновой кислоты (ключевого соединения в синтезе изопреноидов) или оно может распадаться на ацетоксусную кислоту и ацетил-CoA.

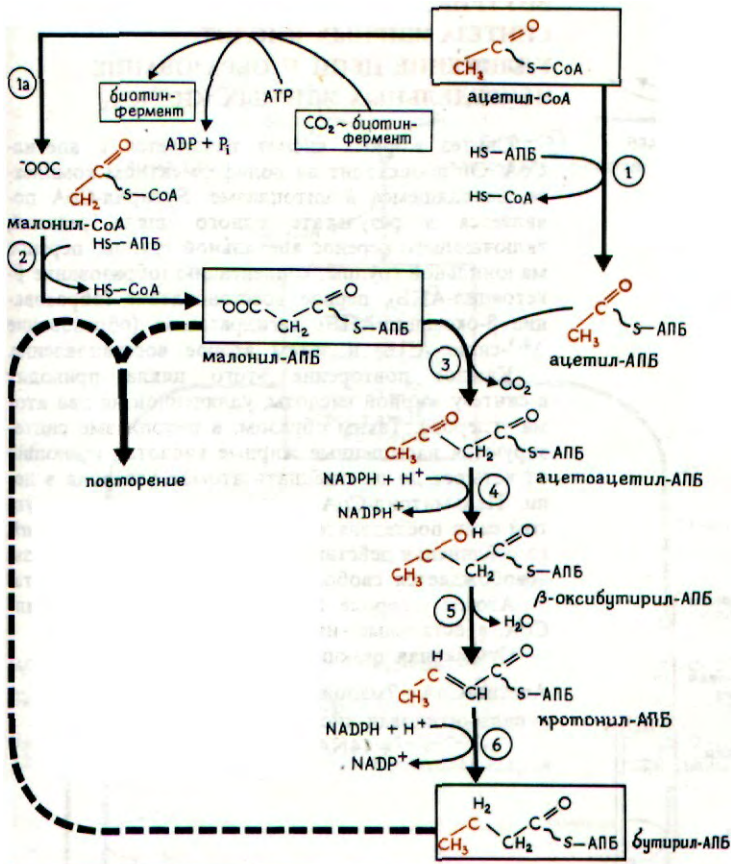
## β-ОКИСЛЕНИЕ НЕПРЕДЕЛЬНЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ



Еще два фермента необходимы для распада непредельных жирных кислот. Трехступенчатое β-окисление линоленовой кислоты приводит к образованию Δ<sup>3,4</sup>-цис, Δ<sup>6,7</sup>-цис-еноил-CoA. Это соединение с цис-конфигурацией двойной связи в результате действия специфической изомеразы превращается в Δ<sup>2,3</sup>-транс, Δ<sup>6,7</sup>-цис-еноил-CoA, т.е. непредельное производное с транс-конфигурацией. Элиминирование трех молекул ацетил-CoA (β-окисление) приводит к ситуации, в которой вторая двойная связь с цис-конфигурацией перемещается в α,β-положение. Присоединение воды в условиях катализа гидратазой дает D-3-оксиацетил-CoA. При катализе специфической эпимеразой последний превращается в L-3-оксиацетил-CoA, который может далее подвергаться β-окислительному распаду. По этому механизму идет распад всех непредельных жирных кислот.

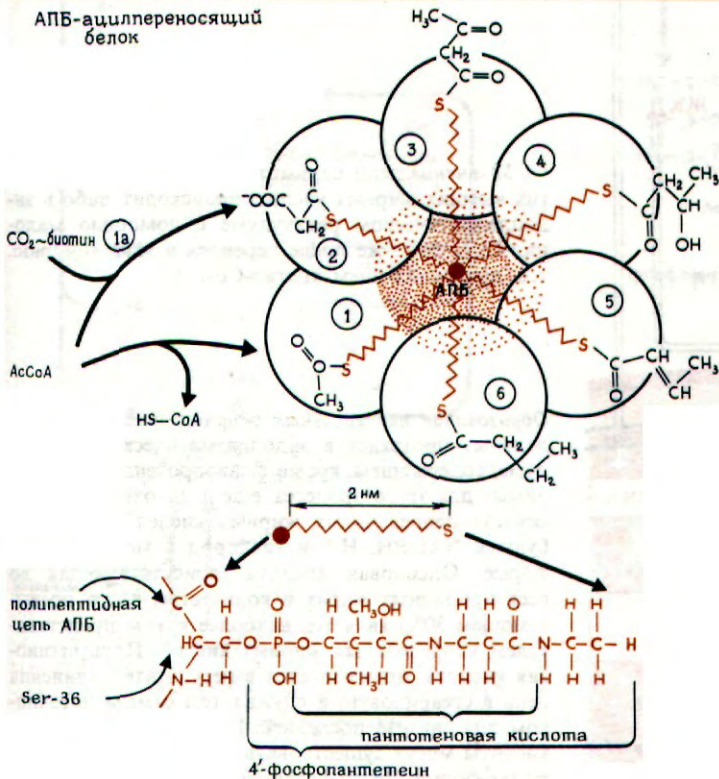


## ОТДЕЛЬНЫЕ ЭТАПЫ СИНТЕЗА ЖИРНЫХ КИСЛОТ



Ацетил-СоА является исходным веществом для синтеза жирных кислот. Он реагирует с активированной формой оксида углерода (IV) в виде карбоксибиотина с образованием малонил-СоА. Синтез начинается с переноса ацетильной группы ацетил-СоА и малонильной группы малонил-СоА на сульфгидрильную группу ацетилпереносящего белка (АПБ). Полученное производное конденсируется с малонил-S-СоА таким образом, что атомы углерода ацетильной группы, связанной ранее с белком, становятся 3-м и 4-м атомами в ацетоацетильной группе. Выделяющийся  $\text{CO}_2$  образуется из углерода, который был введен ранее в виде карбоксибиотина. Реакция конденсации ацетил-S-СоА с малонил-S-СоА является высоко экзергонической, т.е. смещение равновесия вправо, в сторону синтеза, является термодинамически выгодным.

$\beta$ -Кетоацил-АПБ-редуктаза, связанная с NADPH превращает L-стереоизомер ацетоацетил-S-АПБ в  $\beta$ -D-стереоизомерную форму оксибутирил-АПБ, дегидратация которого приводит к образованию  $\alpha, \beta$ -ненасыщенного кротонил-S-АПБ. Восстановлением последнего получается бутирил-S-АПБ. Эта реакция отличается от соответствующей обратной реакции ( $\beta$ -окисления жирных кислот) природой участвующего кофермента. Синтез идет в присутствии NADPH вместо FAD в случае  $\beta$ -окисления. Так как NADPH имеет больший отрицательный потенциал, чем FAD, биосинтез преобладает над распадом. Первый из серии циклов заканчивается образованием бутирил-S-АПБ; в каждом цикле молекула малонил-S-АПБ связывается с концевым углеродным атомом растущей цепи жирной кислоты, с одновременным высвобождением  $\text{CO}_2$  и HS-АПБ. Свободная пальмитиновая кислота, освобождающаяся из пальмитил-S-АПБ под действием гидролитической деацилазы, является конечным продуктом семи последовательных циклов.



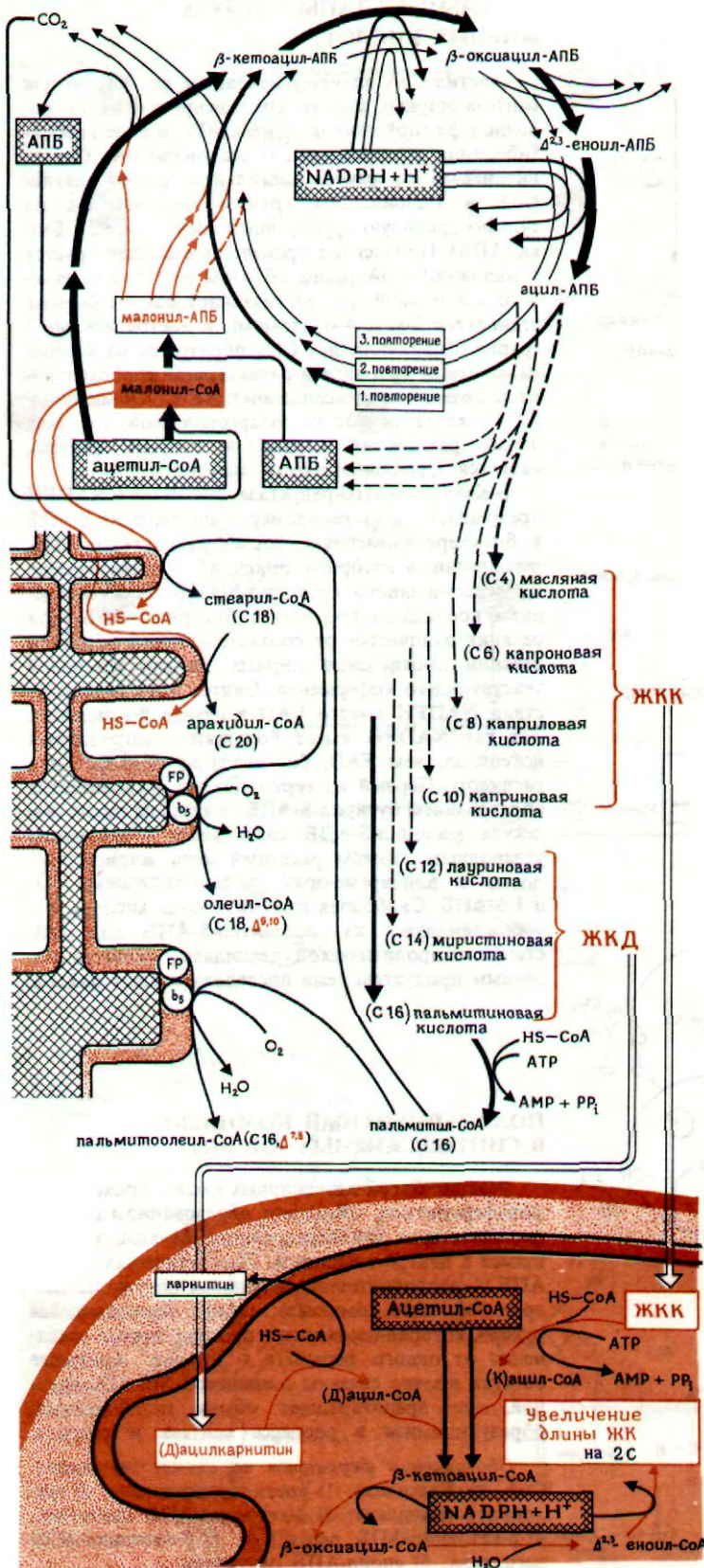
## ПОЛИФЕРМЕНТНЫЙ КОМПЛЕКС В СИНТЕСЕ ЖИРНЫХ КИСЛОТ

Реакции биосинтеза жирных кислот проходят на полиферментном комплексе, образованном шестью ферментами и ацилпереносящим белком, находящимся в центре комплекса. Простетическая группа АПБ (4-фосфопантетеин), торчащая наружу из центральной части комплекса, служит «вращающейся рукой», которая перемещает промежуточные соединения от одного фермента к другому. Ацильные остатки прочно связаны с концевой SH-АПБ-группой, что предотвращает обмен метаболитами, образующимися в процессе синтеза и распада.

Обозначения ферментов на схеме: 1а) ацетил-СоА-карбоксилаза; 1) ацетилтрансацилаза; 2) малонилтрансацилаза; 3)  $\beta$ -кетоацил-АПБ-синтетаза; 4)  $\beta$ -кетоацил-АПБ-редуктаза; 5)  $\beta$ -оксиацил-АПБ-дегидраза; 6) еноил-АПБ-редуктаза.



**ВНУТРИКЛЕТОЧНАЯ ЛОКАЛИЗАЦИЯ СИНТЕЗА ЖИРНЫХ КИСЛОТ, УДЛИНЕНИЕ ЦЕПИ И ОБРАЗОВАНИЕ НЕПРЕДЕЛЬНЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ**

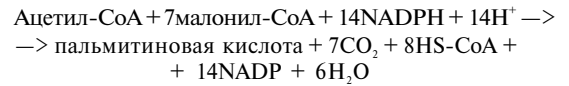


Синтез жирных кислот начинается с ацетил-СоА. Он происходит на полиферментном комплексе, находящемся в цитоплазме. Бутирил-СоА является в результате одного цикла реакций, включающего перенос ацетильной группы, перенос малонильной группы, конденсацию (образование  $\beta$ -кетоацил-АПБ), первое восстановление (образование  $\beta$ -оксиацил-АПБ), дегидратацию (образование  $\Delta^{2,3}$ -еноил-АПБ) и затем второе восстановление.

Каждое повторение этого цикла приводит к синтезу жирной кислоты, удлиненной на два атома углерода. Таким образом, в цитоплазме синтезируются насыщенные жирные кислоты, имеющие от четырех до шестнадцати атомов углерода в цепи. Пальмитоил-СоА является конечным продуктом семи последовательных циклов. Из полученного соединения действием специфической деацилазы освобождается свободная пальмитиновая кислота.

Атомы углерода 16 и 15 переходят от ацетил-СоА, а остальные - из малонил-СоА.

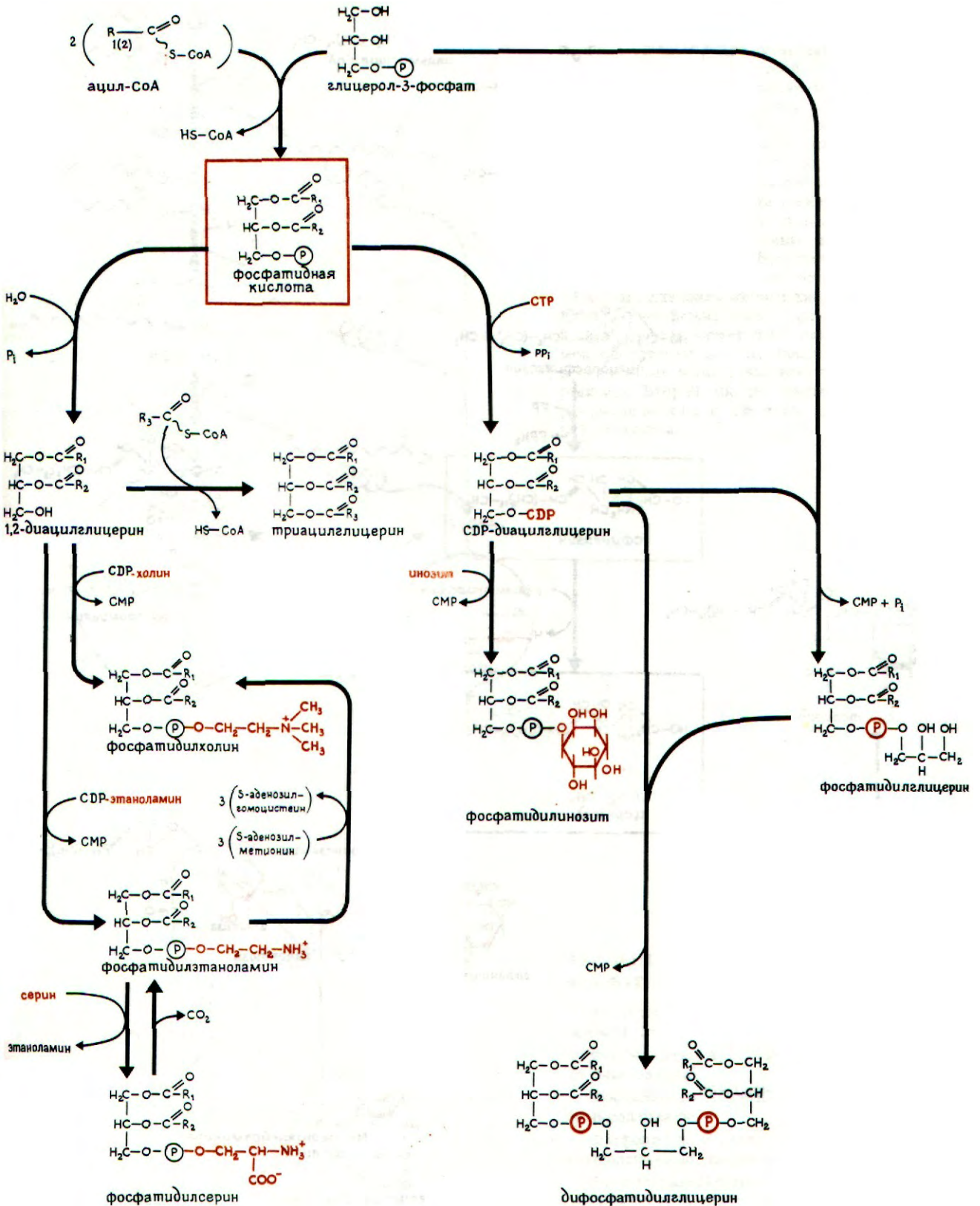
Суммарная реакция имеет следующий вид:



Удлинение цепи пальмитиновой кислоты (и других высших жирных кислот) происходит либо в эндоплазматическом ретикулуме с помощью малонил-СоА, либо же после переноса в митохондрию, т.е. присоединением ацетил-СоА.

Образование непредельных жирных кислот из предельных протекает в эндоплазматическом ретикулуме, содержащем, кроме флавопротеидов, необходимых для этого процесса, еще и цитохром  $b_5$ . Для синтеза непредельных жирных кислот также требуются NADPH,  $\text{H}^+$  и кислород в молекулярной форме. Олеиновая кислота (присутствующая во всех природных жирах в количестве, часто превышающем 30%) является наиболее ярким представителем непредельных жирных кислот. Пальмитиновая кислота, превращается в результате удлинения цепи в стеариновую и служит тем самым источником для синтеза последней. Непредельные жирные кислоты могут существовать в изомерной *цис*- или *транс*-форме. *Транс*-форма олеиновой кислоты называется элаидиновой кислотой.

# БИОСИНТЕЗ НЕЙТРАЛЬНЫХ ЖИРОВ И ФОСФОЛИПИДОВ

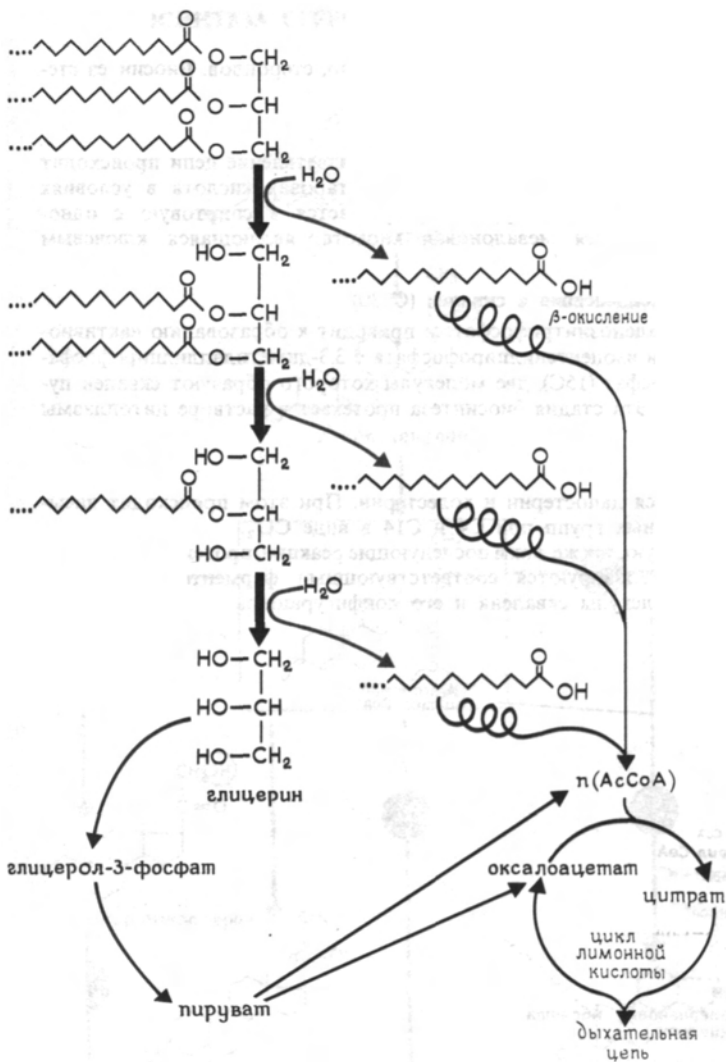






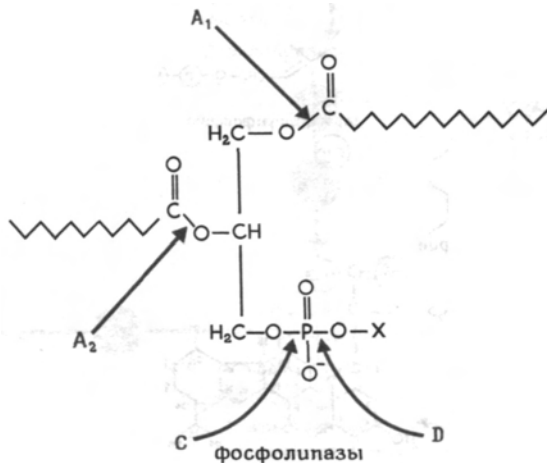


## РАСПАД НЕЙТРАЛЬНЫХ ЖИРОВ



происходит гидролитически под действием *липаз*. Липазы в значительных количествах присутствуют в поджелудочной железе и в слизистой кишечника. Липазы наиболее активны в присутствии желчных кислот или их солей, а также белкового кофактора, называемого колипазой. Колипаза (молекулярная масса 10000) связывает липазу в присутствии солей желчных кислот и, таким образом, смещает pH-оптимум действия фермента с 9 до 6.

Липазы поджелудочной железы отщепляют жирные кислоты только у  $\alpha$  и  $\alpha'$  атомов ацилглицеринов, а липазы кишечника также и у  $\beta$ -атома. При помощи этих ферментов из нейтральных жиров образуются диацилглицерины и моноацилглицерины. При длительной обработке жиров липазами может отщепиться и третий остаток жирной кислоты. Выделившиеся жирные кислоты распадаются далее за счет  $\beta$ -окисления до ацетил-CoA, который в свою очередь может быть окислен в цикле лимонной кислоты или же после транспортировки в цитоплазму может участвовать в синтетических реакциях. Второй продукт распада жиров - глицерин распадается в процессе последовательных реакций гликолиза.



## ФЕРМЕНТАТИВНАЯ ДЕГРАДАЦИЯ ФОСФАТИДОВ

Фосфолипазы делятся на четыре группы в зависимости от того, какие связи они гидролизуют.

Фосфолипаза A<sub>1</sub> отщепляет жирные кислоты по  $\alpha$ -положению.

Фосфолипаза A<sub>2</sub> отщепляет жирные кислоты по  $\beta$ -положению.

Фосфолипаза C отщепляет фосфорилированные азотсодержащие спирты от фосфолипидов.

Фосфолипаза D разрушает фосфолипиды до азотсодержащего спирта и фосфатидной кислоты.

## СИНТЕЗ СТЕРОИДОВ

Ацетил-СоА является исходным соединением для синтеза изопреноидов и, следовательно, стероидов. Биосинтез стероидового скелета подразделяется на три части.

### 1. Синтез мевалоновой кислоты

Две молекулы активированной уксусной кислоты объединяются в ацетоацетил-СоА. Разветвление цепи происходит при конденсации со следующей молекулой ацетил-СоА. Полученная β-окси-β-метилглутаровая кислота в условиях восстановления отщепляет HS-CoA, в результате чего карбонильная группа превращается в спиртовую с одновременным окислением двух молекул NADPH. Так образуется мевалоновая кислота, являющаяся ключевым соединением для синтеза изопреноидов.

### 2. Образование активного изопрена и его последовательная конденсация в сквален (C30)

Последовательное фосфорилирование мевалоновой кислоты аденозинтрифосфатом приводит к образованию «активного изопрена», изопентенилпирофосфата (5C). При конденсации изопентенилпирофосфата с 3,3-диметилаллилпирофосфатом образуются геранилпирофосфат (10C) и фарнезилпирофосфат (15C), две молекулы которого образуют сквален путем восстановительной конденсации в присутствии NADPH. Эта стадия биосинтеза протекает в растворе цитоплазмы в отсутствие кислорода.

### 3. Превращение сквалена в холестерин

На стадии окисления происходит циклизация и образуются ланостерин и холестерин. При этом происходит насыщение двойных связей и окислительное отщепление метильных групп при C4 и C14 в виде CO<sub>2</sub>.

Циклизация сквалена в структуру, напоминающую стероидную, так же, как и последующие реакции, протекает на поверхности эндоплазматического ретикулума. Эти реакции катализируются соответствующими ферментами, которые непосредственно определяют пространственное строение молекулы сквалена и его конфигурацию.

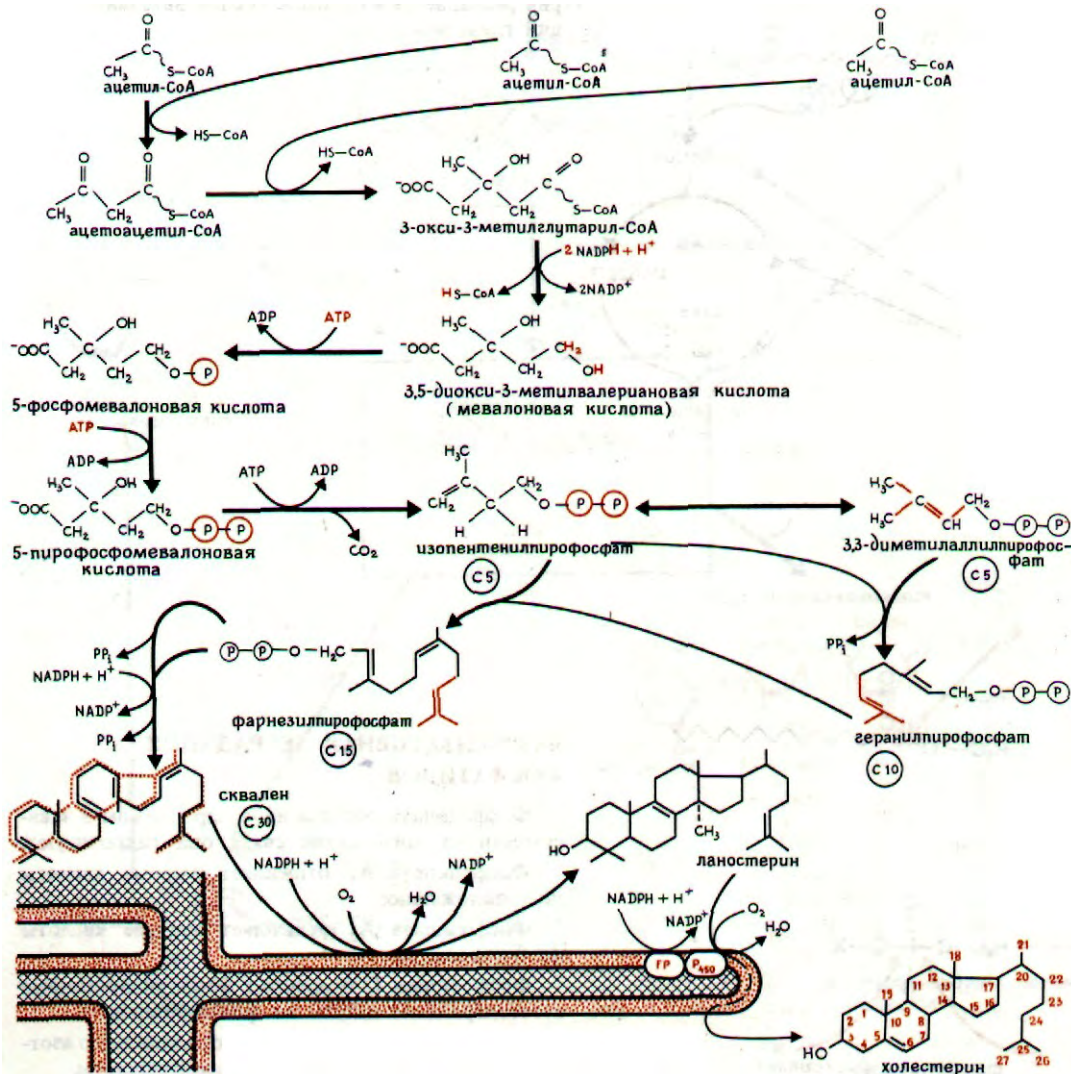
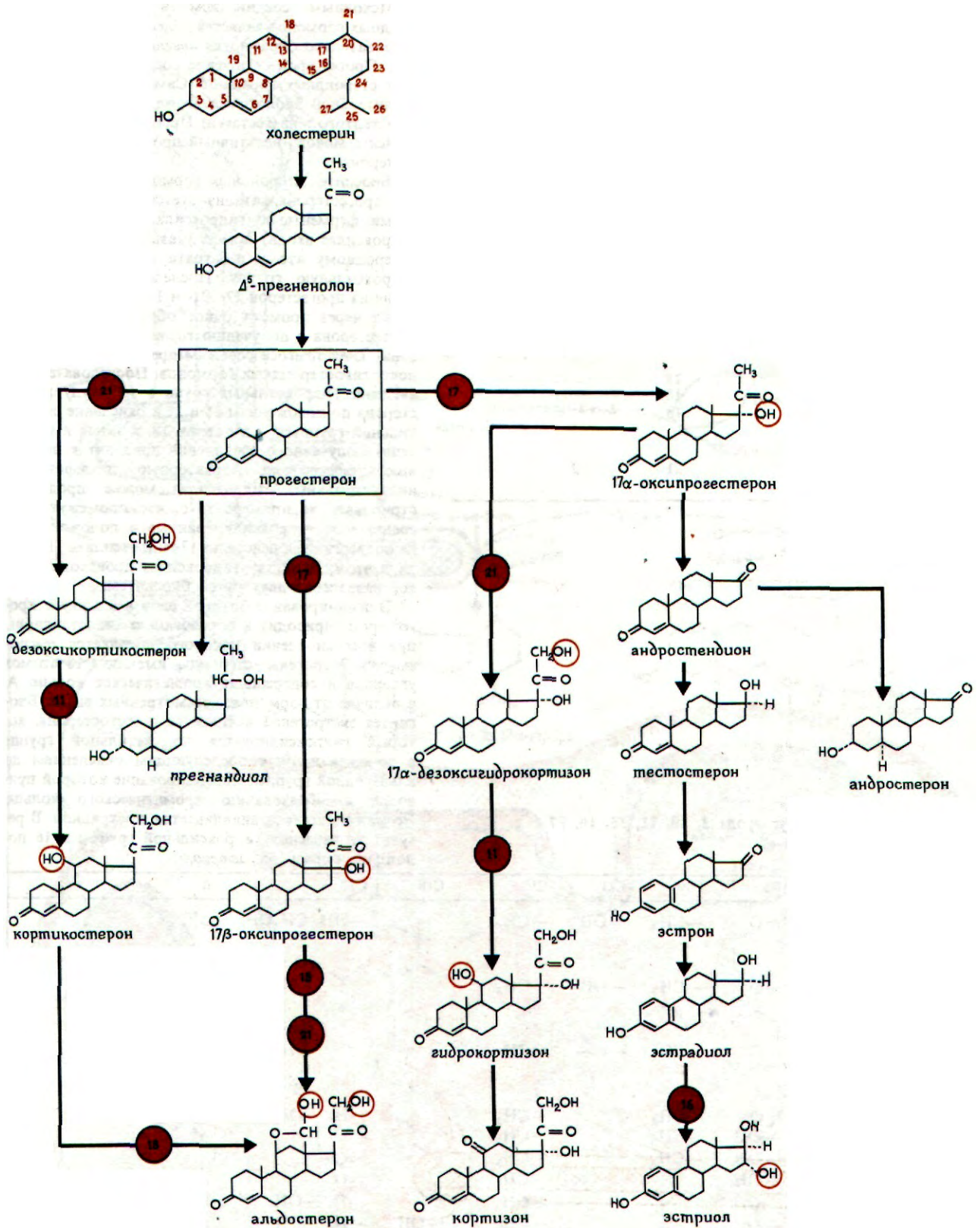


СХЕМА БИОСИНТЕЗА СТЕРОИДНЫХ ГОРМОНОВ





## БИОСИНТЕЗ СТЕРОИДНЫХ ГОРМОНОВ

Стероидные гормоны	Число атомов углерода	
	общее	в боковой цепи
<i>Адренкортикальные гормоны</i>		
Кортикоиды		
кортизол	21	2
кортикостерон	21	2
альдостерон	21	
<i>Мужские половые гормоны</i>		
Андрогены		
тестостерон	19	—
андростендион	19	—
андростерон	19	—
<i>Женские половые гормоны</i>		
Эстрогены		
эстрон	18	
эстрадиол	18	
эстриол	18	
Гестагены		
прогестерон	21	2

Исходным соединением в биосинтезе стероидных гормонов является холестерин. Из него последовательно образуются *прегненолон* и *прогестерон*. Прогестерон - ключевое соединение в синтезе всех стероидных гормонов. Сам по себе обладает значительной биологической активностью как гормон желтого тела (гестаген). Прегнандиол, выделяющийся с мочой, - неактивный продукт распада прогестерона.

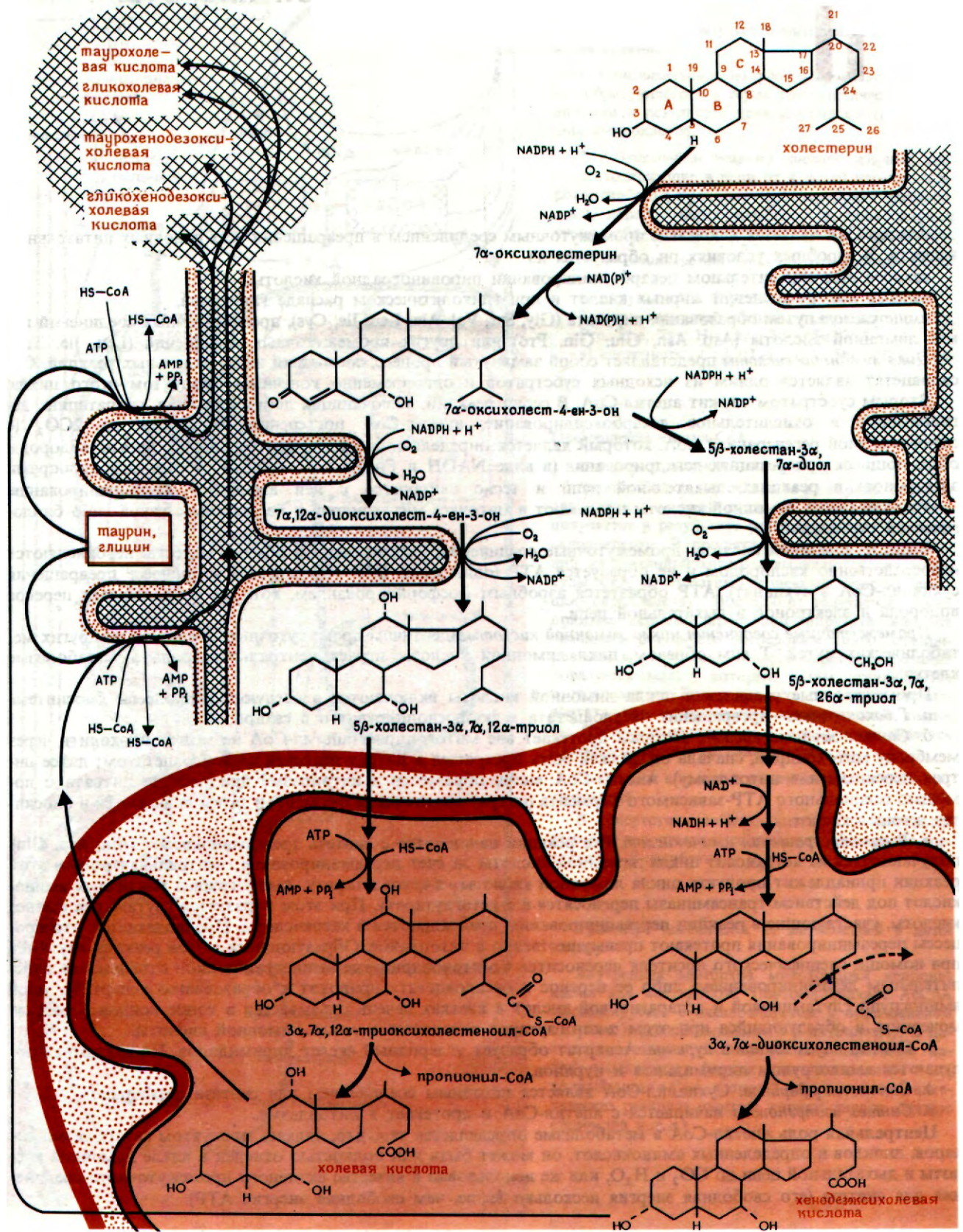
Биосинтез стероидных гормонов, начинающийся с прогестерона, катализируется стереоспецифическими ферментами (гидроксилазами). В название гидроксилаз входит номер, указывающий к какому углеродному атому субстрата они присоединяют гидроксильную группу. Последовательность действия на прогестерон 17-, 21- и 11-гидроксилаз приводит через промежуточное образование 17-оксипрогестерона к получению *кортизона* (гидрокортизона), являющегося главным представителем адренкортикостероидных гормонов. Последовательное введение гидроксильных групп в молекулу прогестерона по положениям 21 и 11 и окисление его метильной группы в положении 18, а затем и циклизация полученного соединения приводят к получению *альдостерона*. Характерную специфичность индивидуальных гидроксилаз можно продемонстрировать на примере того, что промежуточные соединения, гидроксильные в положении 21, не подвергаются действию 17-гидроксилазы. Благодаря этому свойству гидроксилаз происходит четкое разделение двух путей биосинтеза.

Элиминирование боковой цепи в молекуле прогестерона приводит к образованию андростендиона, при восстановлении которого получается *тестостерон*. Эстрогены - стероиды, имеющие 18 атомов углерода и содержащие ароматическое кольцо А, в отличие от гормонов, рассмотренных выше. Биосинтез эстрогенов начинается с тестостерона, который гидроксильруется по метильной группе в положении 19, с последующим окислением до альдегидной группы, элиминирование которой приводит к образованию ароматического кольца. *Эстрон* легко восстанавливается в эстрадиол. В результате введения гидроксильной группы в 16 положение образуется *эстриол*.

Заместители при атомах углерода 3, 10, 11, 13, 16, 17 и положение двойных связей

Гормон	C3	C10	C11	C13	C16	C17	$\Delta$
Кортизол	=O	-CH <sub>3</sub>	-OH	-CH <sub>3</sub>		-OH, CH <sub>2</sub> OH	$\Delta^{4,5}$
Кортикостерон	=O	-CH <sub>3</sub>	-OH	-CH <sub>3</sub>		-C=O CH <sub>2</sub> OH	$\Delta^{4,5}$
Альдостерон	=O	-CH <sub>3</sub>	-O-	-CH-OH		-C=O CH <sub>2</sub> OH	$\Delta^{4,5}$
Тестостерон	=O	-CH <sub>3</sub>		-CH <sub>3</sub>		-H, -OH	$\Delta^{4,5}$
Андростендион	-OH	-CH <sub>3</sub>		-CH <sub>3</sub>		=O	$\Delta^{4,5}$
Андростерон	-OH	-CH <sub>3</sub>		-CH <sub>3</sub>		=O	
Эстрон	-OH			-CH <sub>3</sub>		=O	$\Delta^{1,2}, \Delta^{3,4}, \Delta^{5,10}$
Эстрадиол	-OH			-CH <sub>3</sub>		-H, -OH	$\Delta^{1,2}, \Delta^{3,4}, \Delta^{5,10}$
Эстриол	-OH			-CH <sub>3</sub>	-OH	-H, -OH	$\Delta^{1,2}, \Delta^{3,4}, \Delta^{5,10}$
Прогестерон	=O	-CH <sub>3</sub>		-CH <sub>3</sub>		-CH <sub>3</sub> -C=O	$\Delta^{4,5}$







# VII

Ацетил-СоА является ключевым промежуточным соединением в превращении всех основных питательных веществ. В аэробных условиях он образуется из

*сахаров* при окислительном декарбоксилировании пировиноградной кислоты,

*липидов* при  $\beta$ -окислении жирных кислот и при гликолитическом распаде глицерина,

*аминокислот* путем образования пирувата (Gly, Ser, Val, Ala, Leu, Ile, Cys), промежуточных соединений цикла лимонной кислоты (Asp, Asn, Glu, Gln, Pro) или других промежуточных соединений (Leu, Ile, Trp).

*Цикл лимонной кислоты* представляет собой замкнутый процесс, состоящий из 10 отдельных реакций. Оксалоацетат является одним из исходных субстратов и одновременно конечным продуктом этого цикла.

Вторым субстратом служит ацетил-СоА. В серии реакций, включающих дегидрирование, гидратацию, дегидратацию и окислительное декарбоксилирование, ацетил-СоА постепенно окисляется до  $2\text{CO}_2$  (с одновременной регенерацией СоА, который является определяющим коферментом цикла). Атомы водорода, образующиеся при реакциях дегидрирования (в виде  $\text{NADH}$  и  $\text{FADH}_2$ ), становятся субстратами (донорами электронов) в реакциях дыхательной цепи и тесно связанного с ней аэробного фосфорилирования.

Реакции цикла лимонной кислоты протекают в матриксе митохондрии и не связаны с какой-либо биологической структурой.

В цикле лимонной кислоты промежуточные соединения, участвующие в обмене веществ, не окисляются непосредственно кислородом и не образуются АТФ (один моль GTP генерируется в процессе превращения сукцинил-СоА в сукцинат). АТФ образуется аэробным фосфорилированием, которое сопровождает перенос водорода и электронов в дыхательной цепи.

*Промежуточные соединения цикла лимонной кислоты* идентичны промежуточным соединениям других метаболических путей. Таким образом, цикл лимонной кислоты играет центральную роль в метаболизме клетки.

Промежуточные соединения цикла лимонной кислоты включаются в следующие процессы биосинтеза.

*а. Глюконеогенез* - превращение оксалоацетата в фосфоенолпируват и в сахара.

*б. Синтез жирных кислот*, который протекает вне митохондрий (ацетил-СоА не может проходить через мембрану митохондрий, сначала он должен быть превращен в цитрат реакцией с оксалоацетатом; далее цитрат переносится в цитоплазму). Ацетил-СоА вновь образуется в цитоплазме при распаде цитрата с помощью специального АТФ-зависимого фермента (цитрат-омыляющий фермент) и затем включается в биосинтез жирных кислот.

*в. Взаимопревращения аминокислот*. Все реакции начинаются с синтеза трех аминокислот (Ala, Asp, Glu), получающихся из кетокислот цикла лимонной кислоты за счет переаминирования; центральная роль в этой реакции принадлежит продукту цикла лимонной кислоты -  $\alpha$ -кетоглутарату. Аминогруппы различных аминокислот под действием трансаминазы переносятся к  $\alpha$ -кетоглутарату. При этом образуется глутамат, а аминокислоты, участвующие в реакции переаминирования, превращаются в кетокислоты. Предполагается, что процессы переаминирования протекают преимущественно в цитоплазме. Образующийся в этой реакции глутамат при помощи специфического носителя переносится в митохондрии, где аминокислотная группа либо отщепляется окислительным дезаминированием, либо ее перенос к оксалоацетату приводит к образованию аспартата. Азот аминокислот глутаминовой и аспарагиновой кислот в клетках печени оказывается в конце концов в составе мочевины, а образующийся при этом  $\alpha$ -кетоглутарат окисляется в цикле лимонной кислоты.

*г. Синтез пиримидинов и пуринов*. Аспартат образует углеродный скелет пиримидинов. Из глутамина получают аминокислоты пиримидинов и пуринов.

*д. Синтез порфиринов*. Сукцинил-СоА является исходным соединением для синтеза порфиринов.

*е. Синтез изопреноидов* начинается с ацетил-СоА и протекает в цитоплазме.

Центральная роль ацетил-СоА в метаболизме определяется тем, что, являясь продуктом катаболизма сахаров, липидов и определенных аминокислот, он может быть или полностью окислен в цикле лимонной кислоты и дыхательной цепи до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ , или же использован в качестве активного промежуточного соединения для синтеза (его свободная энергия несколько выше, чем свободная энергия АТФ).



## АЦЕТИЛ-СОА И ЕГО МЕТАБОЛИЗМ

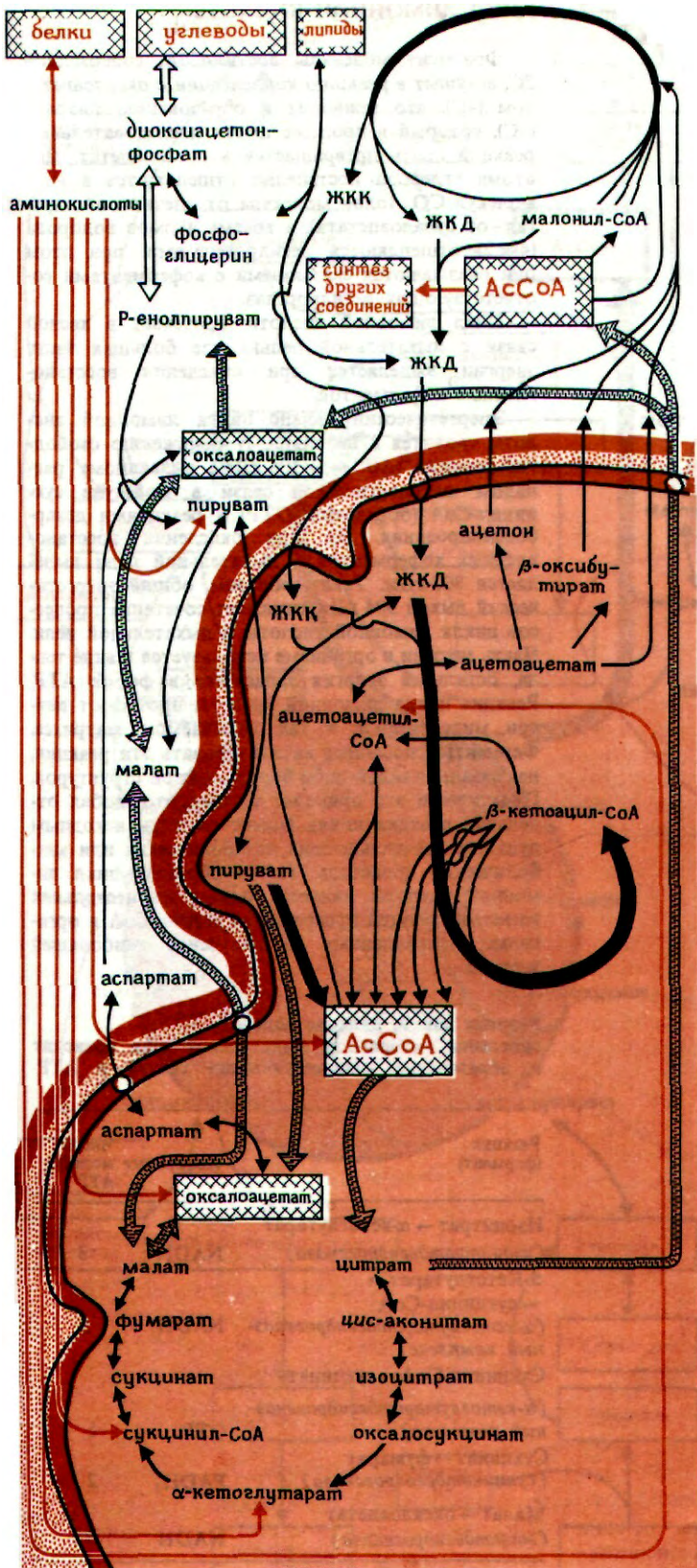
Ацетил-СоА образуется в митохондриях следующими путями:

1. Окислительным декарбоксилированием пирувата, образующегося в серии гликолитических реакций или в результате превращения соответствующих аминокислот.

2.  $\beta$ -Окислением жирных кислот: жирные кислоты, содержащие в цепи от 4 до 10 атомов углерода, свободно проходят через мембрану митохондрий, перенос через мембрану высших жирных кислот облегчается соединением их с карнитином.

3. Из аминокислот через промежуточные соединения:

- пируват (Ala, Gly, Ser, Cys, Thr),
- цикл лимонной кислоты (Asp, Asn, Glu, Gln, Pro, Phe, Tyr, His, Arg, Met, Ile, Val),
- ацетоацетил-СоА (Leu, Lys, Phe, Tyr, Trp).



### Превращения ацетил-СоА

#### 1. В цикле лимонной кислоты

Ацетил-СоА является одним из первых субстратов цикла лимонной кислоты. Лимонная кислота получается в результате реакции ацетил-СоА с оксалоацетатом. В процессе циклических превращений из лимонной кислоты выделяются две молекулы  $\text{CO}_2$ , и образуется конечный продукт реакции - оксалоацетат. Последний получается также прямым карбоксилированием пирувата или же вначале в результате последовательного дегидрирования и восстановительного карбоксилирования образуется малат, который затем превращается в оксалоацетат. Еще один путь получения оксалоацетата - переаминирование аспарагиновой кислоты. Превращение пирувата в оксалоацетат является ключевым моментом глюконеогенеза.

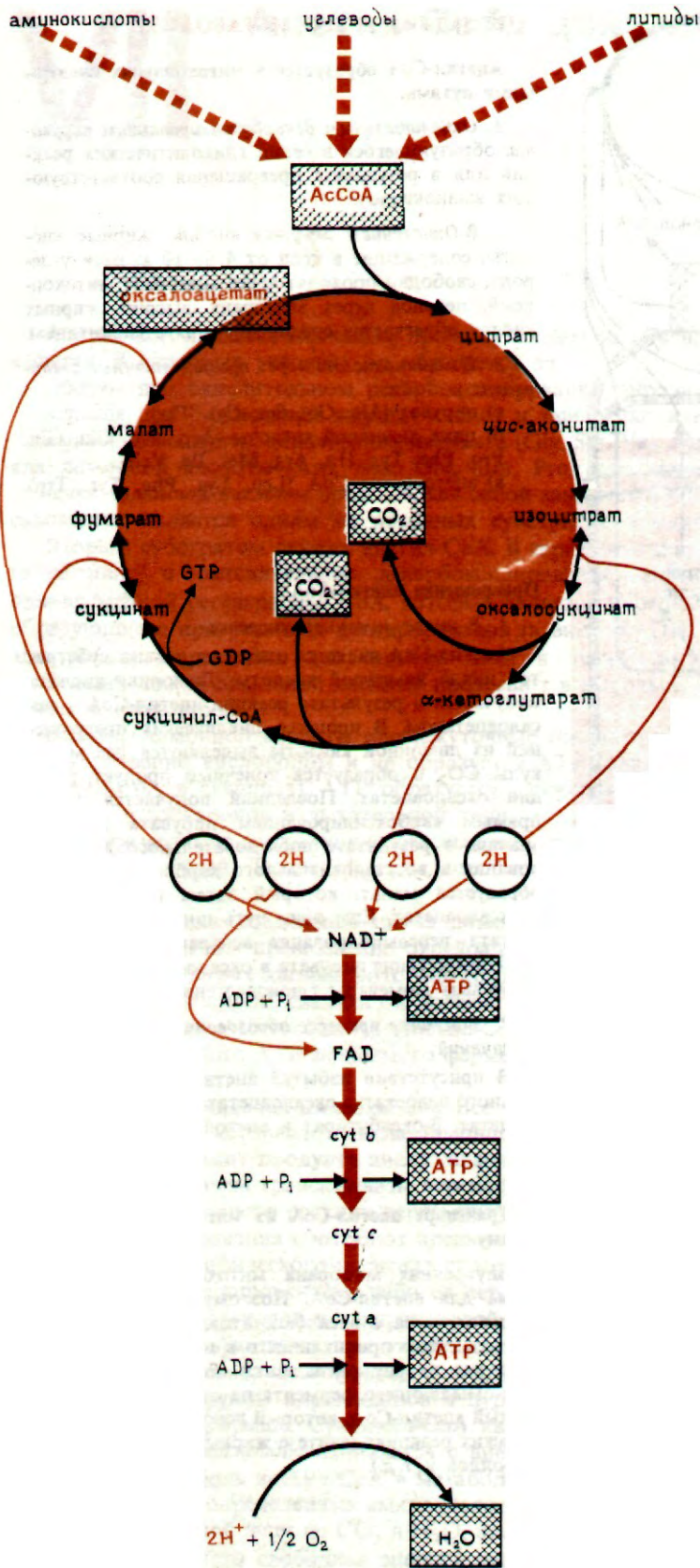
#### 2. Участие в процессе образования карбонильных соединений

В присутствии избытка ацетил-СоА и относительного недостатка оксалоацетата образуются ацетоацетат,  $\beta$ -оксибутират и ацетон.

### Транспорт ацетил-СоА из митохондрий в цитоплазму

Внутренняя мембрана митохондрий непроницаема для ацетил-СоА. Поэтому вначале АсСоА конденсируется с оксалоацетатом с образованием цитрата, легко проникающего в цитоплазму. В цитоплазме цитрат распадается под действием цитрат-омыляющего фермента на оксалоацетат и исходный ацетил-СоА, который используется в синтетических реакциях (синтезе жирных кислот, синтезе стероидов и т.д.).





## ЦИКЛ ЛИМОННОЙ КИСЛОТЫ

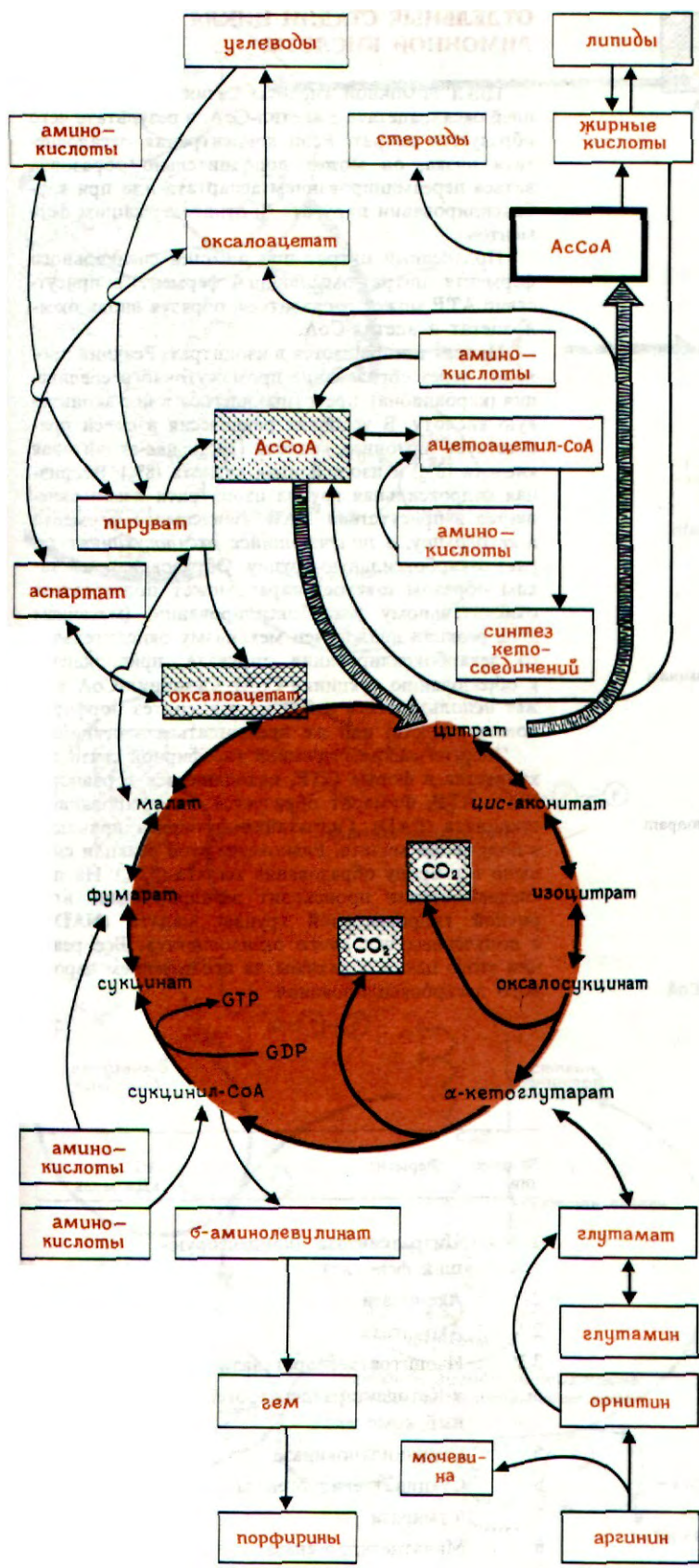
Фрагмент молекулы ацетил-СоА, содержащий 2С, вступает в реакцию конденсации с оксалоацетатом (4С), что приводит к образованию цитрата (6С), который в процессе шести последовательных реакций опять превращается в оксалоацетат. Два атома углерода постепенно отщепляются в виде молекул  $\text{CO}_2$  (одна молекула от ацетил-СоА, другая - от оксалоацетата), а восемь атомов водорода ( $4 \times 2$ ) отщепляются дегидрогеназами, при этом они оказываются связанными с коферментами соответствующих дегидрогеназ.

Цикл лимонной кислоты протекает в тесной связи с дыхательной цепью, где большая часть энергии выделяется при окислении восстановленных коферментов.

Энергетический баланс цикла лимонной кислоты сводится к небольшому понижению свободной энергии ( $\Delta G^\circ = -104 \text{ кДж}$ ), вызванному распадом макроэргической связи в молекуле сукцинил-СоА (образуется GTP) и реакциями декарбоксилирования. Но при окислении восстановленных коферментов в дыхательной цепи выделяется 800 кДж. Таким образом, общий энергетический выход 904 кДж отражает сочетание процессов цикла лимонной кислоты и дыхательной цепи. Часть энергии в организме используется в виде тепла, остальная энергия запасается в форме АТФ. Реакции цикла лимонной кислоты протекают внутри митохондрий, в так называемом матриксе. Ферменты, способные катализировать эти реакции, не связаны с какой-либо биологической структурой. Практически это приводит к тому, что любая отдельная реакция цикла может служить исходным пунктом для дальнейших катаболических или анаболических процессов. Таким образом, цикл лимонной кислоты является одним из нескольких возможных путей превращения ацетил-СоА в организме, направленных на получение наибольшей энергии.

**Реакции цикла, дающие водород, окисление которого в дыхательной цепи приводит к образованию макроэргических связей в АТФ**

Реакция (фермент)	Кофермент	Число молекул АТФ
Изоцитрат $\rightarrow$ $\alpha$ -кетоглутарат (изоцитратдегидрогеназа)	NADH	3
$\alpha$ -Кетоглутарат $\rightarrow$ $\rightarrow$ сукцинил-СоА ( $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназ- ный комплекс)	NADH	3
Сукцинил-СоА $\rightarrow$ сукцинат ( $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназ- ный комплекс)	GTP	1
Сукцинат $\rightarrow$ фумарат (сукцинатдегидрогеназа)	$\text{FADH}_2$	2
Малат $\rightarrow$ оксалоацетат (малатдегидрогеназа)	NADH	3
Всего		12



## РЕАКЦИИ СИНТЕЗА, НАЧИНАЮЩИЕСЯ С ПРОМЕЖУТОЧНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ЦИКЛА

### ЛИМОННОЙ КИСЛОТЫ И АЦЕТИЛ-СоА

Соединения, участвующие в цикле лимонной кислоты, образуют пул промежуточных веществ, дающих начало обратимым процессам в организме. Эти процессы метаболизма связывают в единое целое различные реакции распада и синтеза. С этой точки зрения отдельные реакции цикла лимонной кислоты занимают центральное место в метаболизме.

Наиболее важные пути метаболизма промежуточных соединений цикла лимонной кислоты представлены на схеме.

*α-Кетоглутарат* является самым важным акцептором аминогрупп в реакциях переаминирования. Этот процесс приводит к получению глутамата, из которого могут образовываться глутамин или  $\gamma$ -аминомасляная кислота (последняя может превратиться в полуальдегид яблочной кислоты, который далее окисляется в яблочную кислоту). Глутамин также может выступать в качестве предшественника в синтезе пролина, орнитина, цитрулина, аргинина и других метаболитов.

*Оксалоацетат* является ключевым соединением для процесса глюконеогенеза. Из него последовательными реакциями (через фосфоенолпируват) получают сахара. В этом случае каждый второй атом углерода жирных кислот может входить в молекулу сахара. Полный синтез сахаров только из липидов в организме млекопитающих невозможен, так как при превращениях ацетил-СоА в цикле лимонной кислоты один атом углерода отщепляется в виде  $\text{CO}_2$ . Млекопитающие не способны синтезировать сахара из ацетил-СоА.

Обратимое переаминирование оксалоацетата приводит к образованию аспарагиновой кислоты, способной служить исходным соединением для получения пиримидиновых нуклеотидов или некоторых аминокислот.

*Сукцинил-СоА* может образовывать с глицином  $\delta$ -аминолевулиновую кислоту, которая конденсируется в порфобилиноген - основное соединение, используемое в синтезе порфириновых структур.

*Фумарат* является одним из продуктов разложения ароматических аминокислот, он также образуется из аспарагиновой кислоты в цикле мочевины.

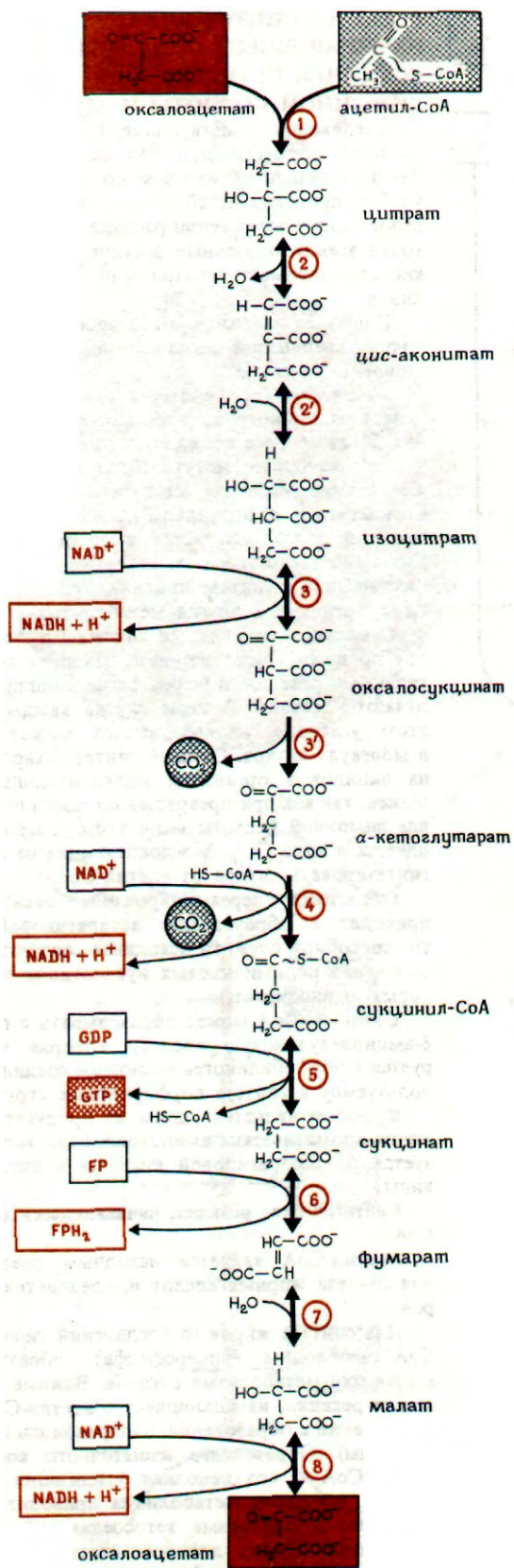
### Синтетические реакции, начинающиеся с ацетил-СоА.

Ацетил-СоА является исходным соединением для синтеза жирных кислот и, следовательно, жиров.

Для синтеза жиров из соединений типа ацетил-СоА необходим глицерофосфат, образующийся в процессе метаболизма сахаров. Важные синтетические реакции, начинающиеся с ацетил-СоА, приводят также к образованию изопреноидов (включая стероиды). Образование избыточного количества ацетил-СоА и его неполная утилизация в нарушенных процессах метаболизма приводит к накоплению в организме кетосоединений. Ацетил-СоА также служит донором ацильной группы в синтезе различных эфиров, например ацетилхолина, ацетилглюкозамина и т.д.



## ОТДЕЛЬНЫЕ СТАДИИ ЦИКЛА ЛИМОННОЙ КИСЛОТЫ



Цикл лимонной кислоты начинается конденсацией оксалоацетата с ацетил-СоА, в результате чего образуется цитрат. Если концентрация оксалоацетата низка, он может дополнительно образовываться переаминированием аспартата или при карбоксилировании пирувата биотинсодержащим ферментом.

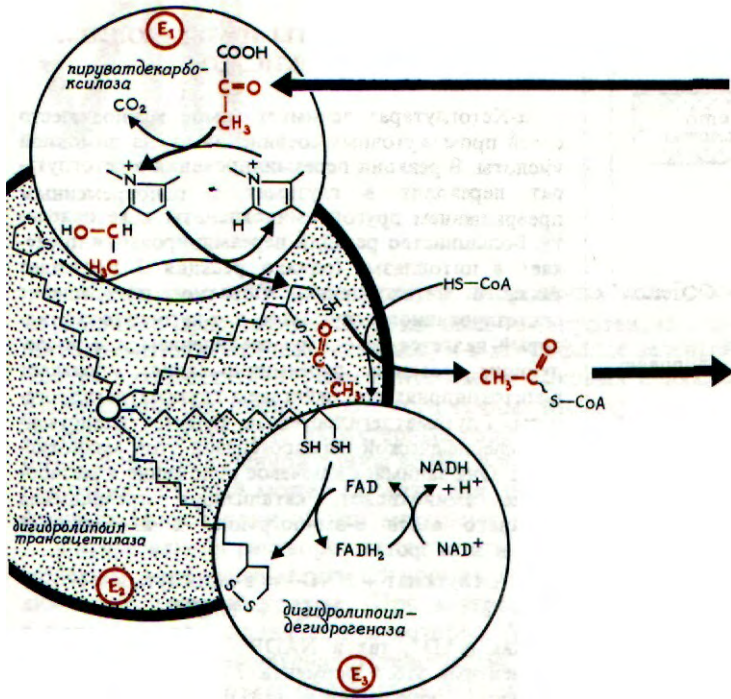
Полученный цитрат при помощи специального фермента (цитрат-омыляющий фермент) в присутствии АТР может распадаться, образуя вновь оксалоацетат и ацетил-СоА.

Цитрат превращается в изоцитрат. Реакция проходит через образование промежуточного соединения (карбаниона), превращающегося в цис-аконитовую кислоту. В условиях равновесия в смеси присутствует лимонная кислота (39%), цис-аконитовая кислота (3%) и изолимонная кислота (8%). Вторичная гидроксильная группа изоцитрата легко окисляется в присутствии NAD<sup>+</sup>-зависимого фермента в кетогруппу, а получающийся оксалосуццинат теряет α-карбоксильную группу. Образовавшийся таким образом α-кетоглутарат может подвергаться окислительному декарбоксилированию (механизм этой реакции аналогичен механизму окислительного декарбоксилирования пирувата, приводящему к образованию суццинил-СоА). Суццинил-СоА может использоваться в биосинтезе (синтез порфиринового скелета) или же превращаться в суццинат.

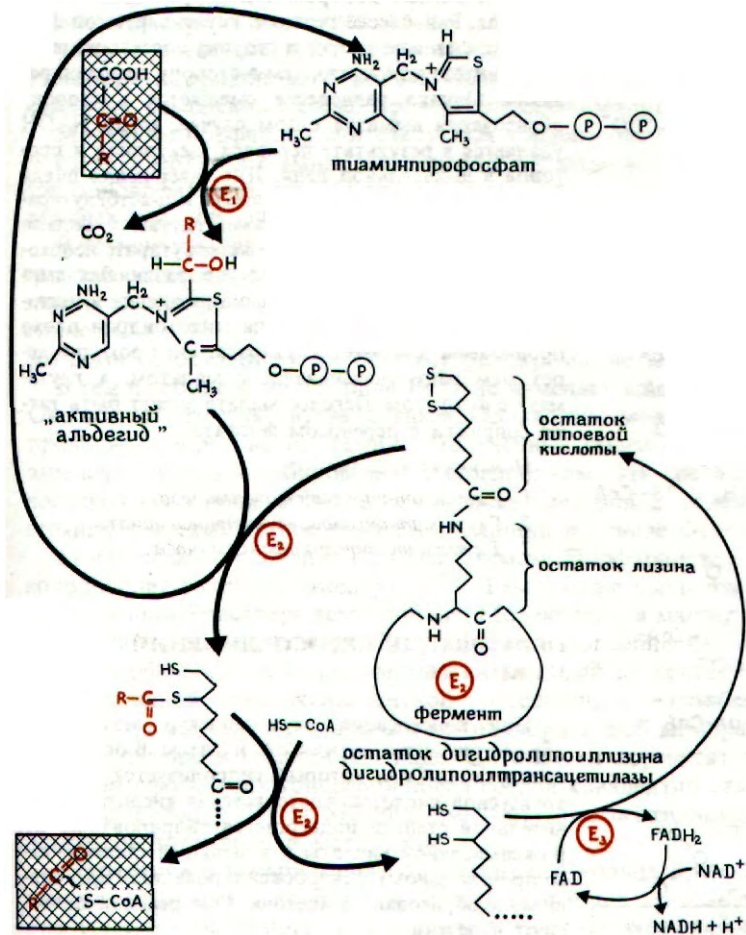
Энергия макроэргической тиоэфирной связи сохраняется в форме GTP, находящегося в равновесии с АТР. Фумарат образуется дегидрированием суццината (FAD). Гидратация фумарата приводит к получению малата. Равновесие этой реакции смещено в сторону образования малата (82%). На последней стадии происходит дегидрирование вторичной гидроксильной группы малата (NAD<sup>+</sup>) с получением исходного оксалоацетата. Все реакции этого цикла обратимы, за исключением аэробного декарбоксилирования.

№ реакции	Фермент	ΔG <sup>0</sup> , кДж/моль
1	Цитратсинтаза (конденсирующий фермент)	-38,01
2	Аконитаза	+ 8,54
2'	Аконитаза	+ 6,65
3,3'	Изоцитратдегидрогеназа	-7,11
4	α-Кетоглутаратдегидрогеназный комплекс	-36,92
5	Суццинилтиокиназа	-8,87
6	Суццинатдегидрогеназа	0
7	Фумараза	-3,68
8	Малатдегидрогеназа	+ 28,00

## МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ПИРУВАТДЕГИДРОГЕНАЗНОГО КОМПЛЕКСА



Молекулы пирувата легко проникают из цитоплазмы в митохондрии, что обусловлено градиентом концентрации. Превращение пирувата в ацетил-СоА катализируется пируватдегидрогеназным комплексом - полиферментной системой, состоящей из трех различных ферментов и пяти коферментов, в которой пируват декарбоксилируется и окисляется. Сначала происходит отщепление оксида углерода(IV) и образование «активного ацетальдегида». Он связывается с С<sub>2</sub>-атомом тиазольного кольца тиаминпирофосфата. Далее эта группа переносится к липоевой кислоте, в которой при этом происходит разрыв дисульфидной связи, и превращается в CH<sub>3</sub>CO и H. Эта стадия дегидрирования приводит к образованию ацетила, который связан макроэргической связью с липоевой кислотой по тиольной группе. Этот ацетил легко отщепляется из полученного соединения и, реагируя с HS-CoA, образует ацетил-СоА. Восстановленный кофермент в дигидролипоилтрансацетилазе легко окисляется флавиносодержащим ферментом - дигидролипоилдегидрогеназой. Пируватдегидрогеназный комплекс существует в активной и неактивной формах. Образование активной формы стимулируется инсулином, недостаток кислорода (гипоксия) приводит к образованию неактивной формы. Таким образом, активность пируватдегидрогеназного комплекса строго регулируется. Кроме пируватдегидрогеназы за превращения пирувата в цитоплазме ответственны также пируваткарбоксилаза и лактатдегидрогеназа.



## АЭРОБНОЕ ДЕКАРБОКСИЛИРОВАНИЕ α-КЕТОГЛУТАРАТА

Этот процесс подобен окислительному декарбоксилированию пирувата. Окислительное декарбоксилирование α-кетоглутарата приводит к образованию сукцината. Этот процесс необратим и катализируется полиферментной системой, состоящей из трех ферментов.

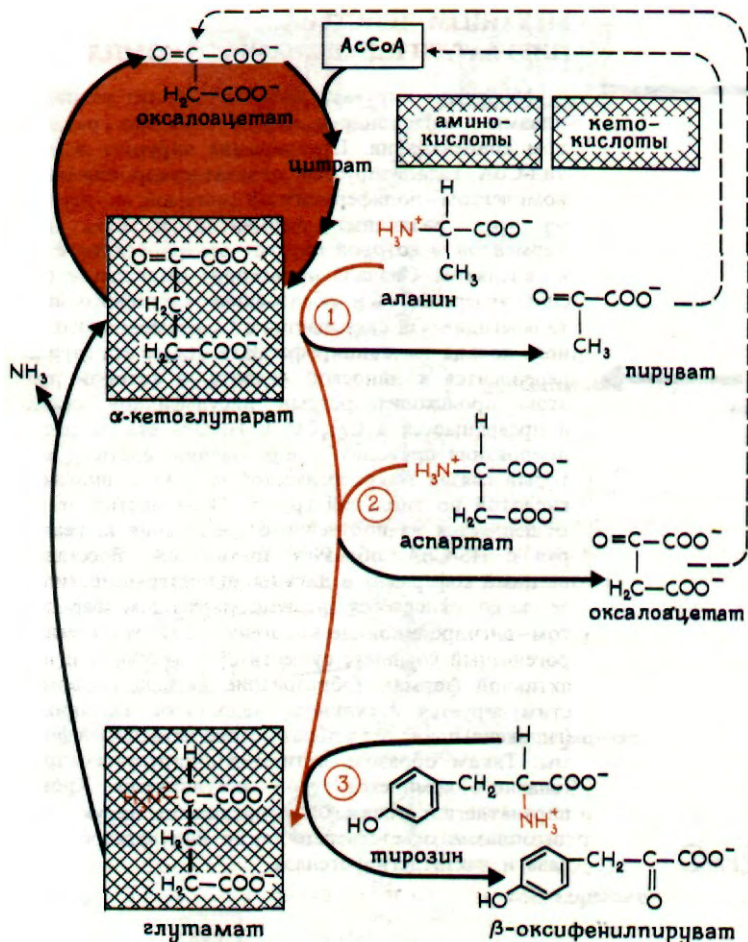
**E<sub>1</sub>. α-Кетоглутаратдекарбоксилаза** (простетическая группа - тиаминпирофосфат) катализирует декарбоксилирование α-кетоглутарата до полуальдегида яблочной кислоты (связанного с тиазольным кольцом кофермента).

**E<sub>2</sub>. Дигидролипоилтрансацетилаза** (простетическая группа - липоевая кислота) катализирует перенос сукцинильного остатка к липоевой кислоте, в которой дисульфидная связь раскрывается, затем сукцинильный остаток перемещается к коферменту А.

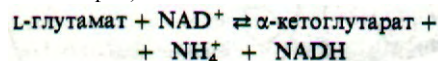
**E<sub>3</sub>. Дигидролипоилдегидрогеназа** окисляет дигидролипоевую кислоту в липоевую кислоту. Фермент содержит флавиновый кофермент, с помощью которого водород переносится к NAD<sup>+</sup>, чей окислительно-восстановительный потенциал значительно более отрицателен, чем потенциал других известных флавопротеидов, поэтому он может переносить водород к NAD<sup>+</sup> (образующийся при этом NADH окисляется в дыхательной цепи).



## ЦИКЛ ЛИМОННОЙ КИСЛОТЫ И МЕТАБОЛИЗМ НЕКОТОРЫХ АМИНОКИСЛОТ



$\alpha$ -Кетоглутарат занимает самое важное место среди промежуточных соединений цикла лимонной кислоты. В реакции переаминирования  $\alpha$ -кетоглутарат переходит в глутамат с одновременным превращением другой аминокислоты в кетокислоту. Большинство реакций переаминирования протекает в цитоплазме (однако реакция 2 протекает также в митохондриях). Обратное превращение синтезированного глутамата в  $\alpha$ -кетоглутарат, который является исходным соединением для последующих реакций переаминирования, протекает в митохондриях под действием глутаматдегидрогеназы. Глутаматдегидрогеназа является единственной специфической дегидрогеназой этой аминокислоты. Она занимает ключевое положение в метаболизме аминокислот, катализируя превращение аминного азота  $\alpha$ -аминогруппы в аммонийный азот и наоборот;

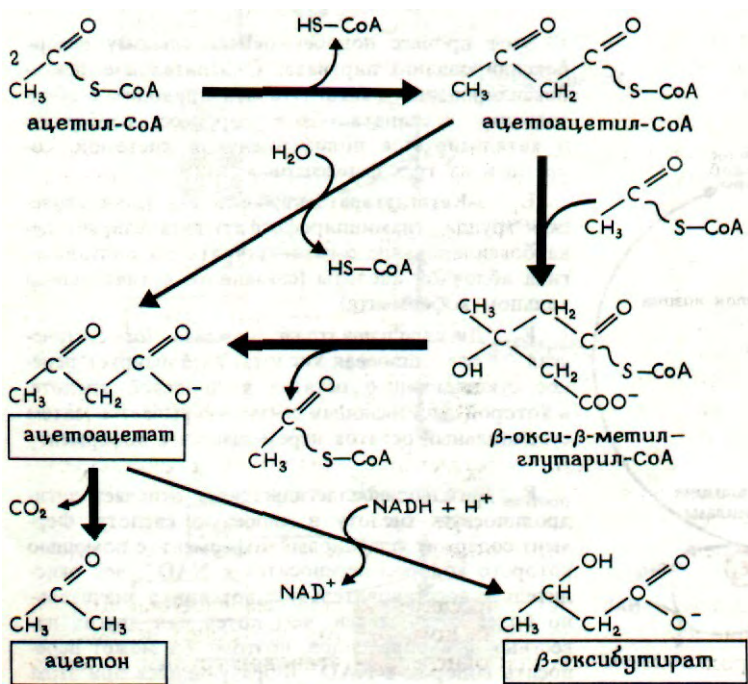


Как  $\text{NAD}^+$ , так и  $\text{NADP}^+$  могут служить коферментами этого фермента. Когда в качестве кофермента используется  $\text{NADP}^+$ , образующийся  $\text{NADPH}$  служит донором водорода в дальнейших синтезах. Равновесие реакции, катализируемой ферментом, смещено скорее в сторону восстановительного синтеза глутамата, чем в сторону дезаминирования. Однако равновесие смещается в сторону образования аммиака в том случае, когда  $\text{NADH}$  удаляется в результате переноса электронов и протонов в дыхательной цепи. Для завершения цикла взаимных превращений глутамата и  $\alpha$ -кетоглутарата образующийся в цитоплазме глутамат должен попасть в митохондрии, а  $\alpha$ -кетоглутарат, необходимый для удаления аминогрупп различных аминокислот в реакциях переаминирования, - в цитоплазму. Внутренняя мембрана митохондрии плохо проницаема для  $\alpha$ -кетоглутарата. Он проходит через мембрану, обмениваясь с малаатом, а глутамат - с фосфатом. Перенос малаата может быть также сопряжен с переносом фосфата.

Пояснения к схеме

1. Глутамат-пируваттрансаминаза
2. Глутамат-оксалоацетаттрансаминаза
3. Глутамат-тирозинтрансаминаза

## ОБРАЗОВАНИЕ КЕТСОЕДИНЕНИЙ ИЗ АЦЕТИЛ-СОА



При конденсации двух молекул ацетил-СОА образуется ацетоацетил-СОА и затем  $\beta$ -окси- $\beta$ -метилглутарил-СОА, который гидролизует до ацетоуксусной кислоты. Ацетоуксусная кислота в значительной степени подвергается гидрированию до  $\beta$ -оксимасляной кислоты и в меньшей степени - самопроизвольному декарбоксилированию, приводящему к образованию ацетона. Обе реакции протекают в печени.



## Порфирины

# VIII

*Порфирины* состоят из четырех пиррольных колец, соединенных метановыми группами. Производные порфиринов присутствуют в различных гемопротеидах (гемоглобин, миоглобин), гемсодержащих ферментах (цитохромы, пероксидаза, каталаза) и в хлорофилле зеленых растений. Порфирины подразделяются и обозначаются в соответствии с заместителями в боковых цепях, связанных с пиррольными кольцами; наибольшее распространение имеют протопорфирины. Молекула порфирина содержит систему сопряженных двойных связей, определяющую характерные свойства этого соединения. Растворы порфирина избирательно поглощают свет определенной длины волны в видимой области и имеют очень четкий и характерный максимум поглощения, который может служить для идентификации индивидуальных производных. Все производные порфиринов имеют один общий максимум поглощения при длине волны в области 400 нм.

*Флуоресценция* растворов является другим свойством, вызванным наличием сопряженных двойных связей; молекула порфирина может поглощать квант света и, таким образом, переносить электроны на более высокий энергетический уровень. При возвращении электронов на исходный уровень часть энергии излучается в виде фотонов, длина волны которых больше длины волны возбуждающего света.

*Высокая температурная устойчивость* молекул порфирина также вытекает из их структурных особенностей. Порфирин может образовывать хелаты с ионами металлов. Протопорфирин образует четырехвалентные комплексы с  $Fe^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Co^{2+}$  и  $Cu^{2+}$ . Хелатный комплекс протопорфирина с  $Fe^{2+}$  называется *протогемом* (или *гемом*), подобный комплекс с  $Fe^{3+}$  называется *гемином* или *гематинном*. Порфирин в составе гема имеет плоское строение, две координационные связи железа перпендикулярны плоскости порфиринового кольца. Когда появляются группы в пятом и шестом координационных положениях комплекса железа, происходит образование гемохрома или гемохромогена.

Молекулы порфирина синтезируются конденсацией четырех молекул *порфобилиногена*, который образуется из двух молекул  $\delta$ -аминолевулиновой кислоты, возникающей при конденсации сукцинил-СоА с глицином при одновременном декарбоксилировании. Боковые цепи пиррольных колец получаются в серии последовательных реакций декарбоксилирования и окисления, зависящих от структуры порфирина.

В гемопротеидах (*гемоглобин*, *миоглобин*) пятое координационное положение  $Fe^{2+}$  занято имидазольной группой остатка гистидина белка. В гемах шестое положение либо не занято (восстановленная форма), либо занято кислородом (окисленная форма) или другими соединениями, способными к такому же взаимодействию (СО,  $CN^{\cdot}$ ). Практически во всех *цитохромах* пятая и шестая связи  $Fe^{2+}$  и  $Fe^{3+}$  заняты аминокислотными остатками белка, поэтому цитохромы не могут связывать кислород.

В гемоглобине и миоглобине  $Fe^{2+}$  не изменяет валентность в процессе связывания или отдачи кислорода. Оно всегда остается двухвалентным. Однако оно может быть окислено до  $Fe^{3+}$  действием окислителей, что приводит к образованию гемина. Полученные таким образом соединения из гемоглобина и миоглобина называются метгемоглобином и метмиоглобином. Эти соединения не могут функционировать в качестве переносчиков кислорода. В процессе переноса электронов железо цитохромов переходит из двухвалентного состояния в трехвалентное - процесс, лежащий в основе функционирования цитохромов.

*Гемоглобин* - соединение глобина с гемом, Порфириновое кольцо ковалентно связано с белком по пятому координационному положению  $Fe^{2+}$ . Гем может быть выделен экстракцией некоторыми растворителями подкисленного раствора гемоглобина. Молекулярная масса гемоглобина 67000, он состоит из четырех субъединиц, попарно идентичных, В организме гемоглобин находится в эритроцитах.

*Миоглобин* - красный пигмент мышц, сходный по составу с гемоглобином. Миоглобин состоит из одной полипептидной цепи, эквивалентной субъединице гемоглобина.

*Цитохромы* - прочно связаны с митохондриальной мембраной. За исключением цитохрома *c*, они не могут быть получены в гомогенном виде. Цитохромы переносят электроны.

В *цитохроме c* протопорфириновая группа ковалентно связана с белком через две винильные группы пиррольных колец с двумя SH-группами цистеина пептидной цепи. Пятое и шестое положение  $Fe^{2+}$  заняты остатками гистидина и метионина.

Деградация и превращения порфиринового кольца происходят в процессе распада гемоглобина, который вначале распадается до белка и гема. Дальнейшие превращения обоих компонентов протекают независимо. Разрушение гема начинается с распада тетрапиррольного кольца при окислении метиновой группы до альдегидной, с образованием линейного тетрапиррола, из которого получают желчные пигменты.





Порфирины	A	B	C	D	E	F
Уро-	4					
Копро-		4				
Прото-		2	2			
Этио-				4		
Гемато-		2			2	
Мезо-		2		2		
Дейтеро-		2				2

## ТИПЫ ПОРФИРИНОВ

Каждый пиррольный цикл порфирина имеет две боковые цепи, которые могут отличаться в разных циклах. Типы этих боковых цепей и различные замещенные пиррольные кольца обозначены в таблице буквами А-Е.

Индивидуальные типы порфиринов обозначаются в соответствии с типом и числом боковых цепей (идентичных) в пиррольных кольцах. Так, в состав протопорфина входят два пиррольных кольца типа В и два типа С. Однако такая схема не указывает, в какой последовательности эти пиррольные кольца соединены друг с другом. Когда порфирин содержит два различных заместителя в пиррольных кольцах, могут образовываться четыре изомерных типа порфиринов (уропорфирины I-IV).

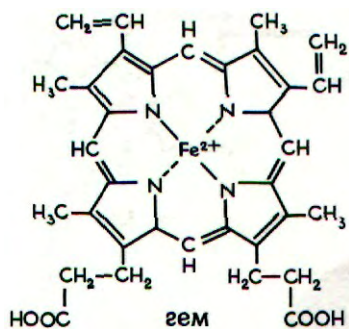
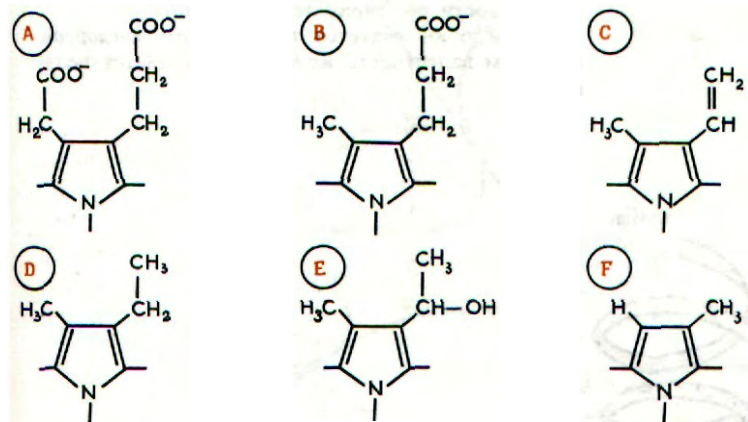
Если порфирин имеет три типа различных заместителей, образующихся из первоначально существующих двух ацетильных и пропионильного остатков, он может существовать в виде 15 различных изомеров (уропорфирины I-XV). Все природные порфирины получаются из уропорфина III. Порфирин в геме является протопорфирином IX.

## ВАЛЕНТНОСТЬ ЖЕЛЕЗА В ГЕМЕ

В гемоглобине и миоглобине, функция которых состоит в переносе кислорода, железо, связанное в геме, не изменяет свою валентность, всегда оставаясь *двухвалентным*. Железо может быть окислено до *трехвалентного* такими окислителями, как оксиды азота, нитриты, нитробензол (*in vivo*) и феррицианид (*in vitro*).

Продукт окисления называется метгемоглобином, или соответственно метмиоглобином. Эти соединения не способны к обратимому переносу кислорода.

С другой стороны, в цитохромах, переносящих электроны, изменение валентности железа является нормальным процессом, связанным с переносом электронов.



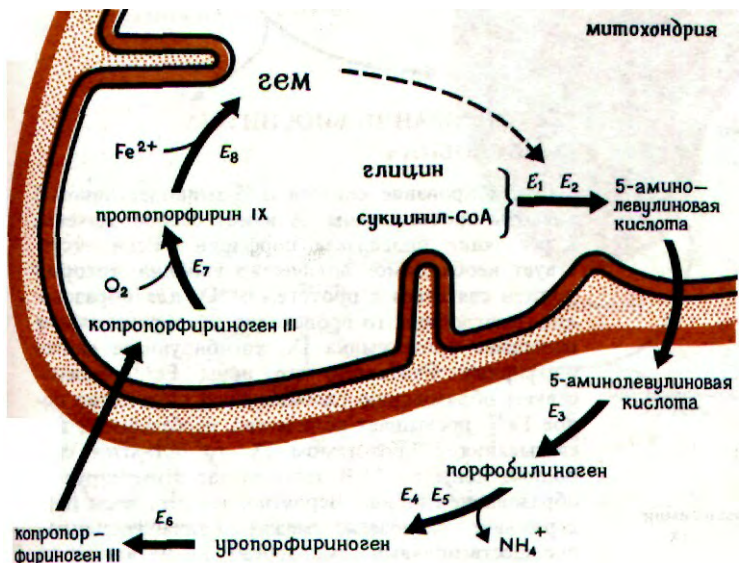
## ЛОКАЛИЗАЦИЯ СИНТЕЗА ГЕМА

Ферменты, участвующие в биосинтезе гема, были выделены из печени, костного мозга, слизистой кишечника, ядросодержащих эритроцитов и почек. Образование порфобилиногена из δ-аминолевулиновой кислоты и дальнейшие реакции, ведущие к копропорфириногену, протекают в *цитоплазме*. Синтез δ-аминолевулиновой кислоты, так же, как окисление и декарбоксилирование копропорфириногена и включение железа в молекулу, протекает в *митохондриях*.

### Пояснения к схеме

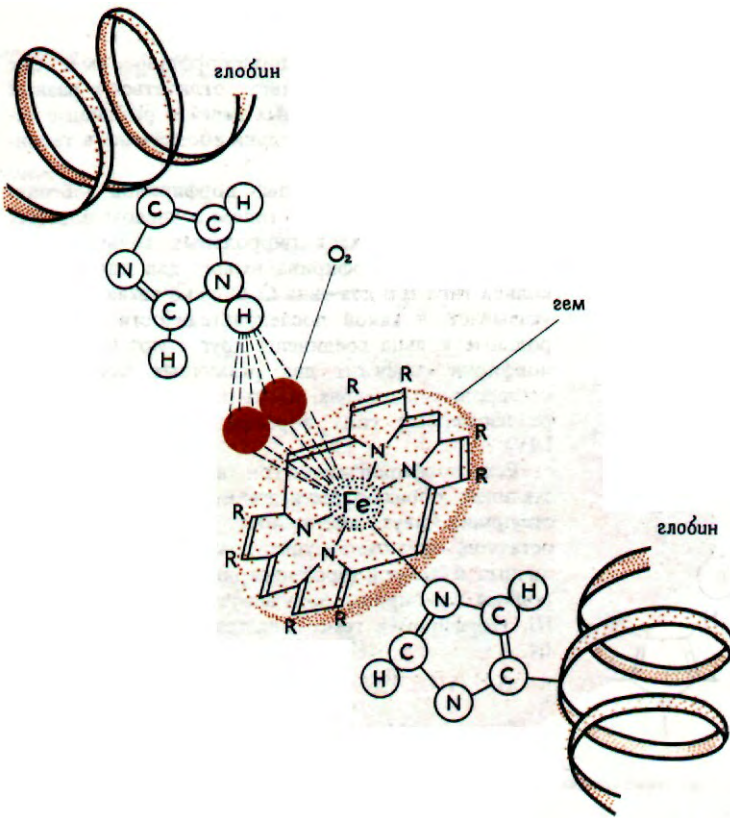
Необходимые ферменты:

- E<sub>1</sub> - пиридоксальфосфат,
- E<sub>2</sub> - δ-аминолевулинат-синтаза,
- E<sub>3</sub> - порфобилиногенсинтаза,
- E<sub>4</sub> - уропорфириноген-синтаза,
- E<sub>5</sub> - уропорфириноген-косинтаза,
- E<sub>6</sub> - уропорфириноген-декарбоксилаза,
- E<sub>7</sub> - копропорфириногеноксидаза,
- E<sub>8</sub> - феррохелатаза.



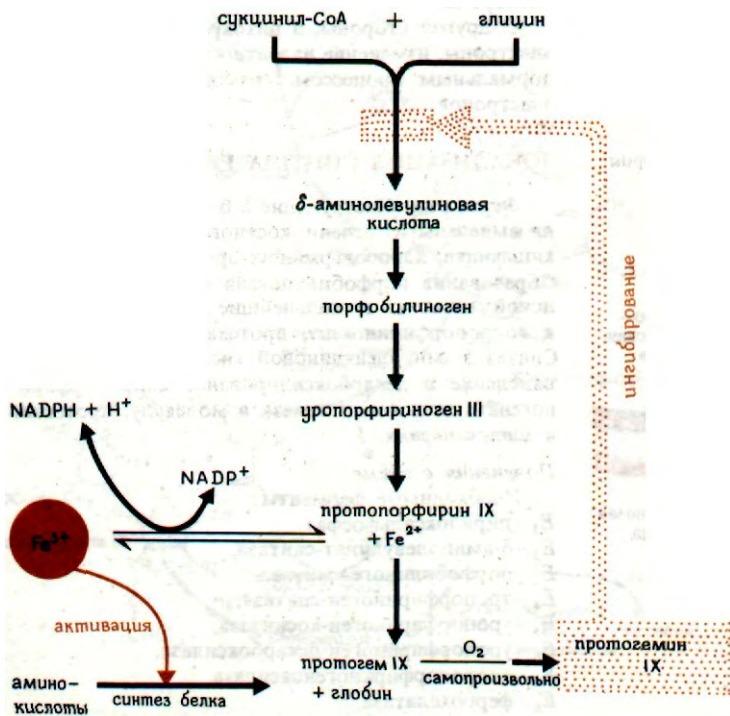


## СТРУКТУРА И ФУНКЦИЯ ГЕМОГЛОБИНА



Железо связано с четырьмя пиррольными циклами порфирина четырьмя координационными связями. Пятое положение занято имидазольной группой гистидинового остатка молекулы белка. Шестое положение либо остается незамещенным (восстановленная форма, Hb), либо занято кислородом (окисленная форма, HbO<sub>2</sub>) или другими лигандами, которые могут быть связаны аналогично кислороду (CO, HCN). Пятая и шестая координационные связи железа расположены перпендикулярно плоскости порфиринового кольца.

Гемоглобин является *переносчиком кислорода*, при этом валентность железа Fe<sup>2+</sup> остается неизменной.



## РЕГУЛИРОВАНИЕ БИОСИНТЕЗА ГЕМОГЛОБИНА

Ингибирование синтазы δ-аминолевулиновой кислоты протогемом IX имеет особое значение в регуляции биосинтеза порфирина. Если отсутствует необходимое количество глобина, который должен связаться с протогемом IX для образования гемоглобина, то происходит самопроизвольное окисление протогемина IX, ингибирующее синтез порфирина. Считается, что ионы Fe<sup>3+</sup> способствуют образованию глобина. Если количество ионов Fe<sup>3+</sup> превышает количества, необходимые для связывания с протогемом IX, то остаются свободные ионы Fe<sup>3+</sup>. В этом случае стимулируется образование глобина. Вероятно, эта регуляция поддерживает равновесие между индивидуальными предшественниками гемоглобина, но не влияет на количество функционирующего гемоглобина.

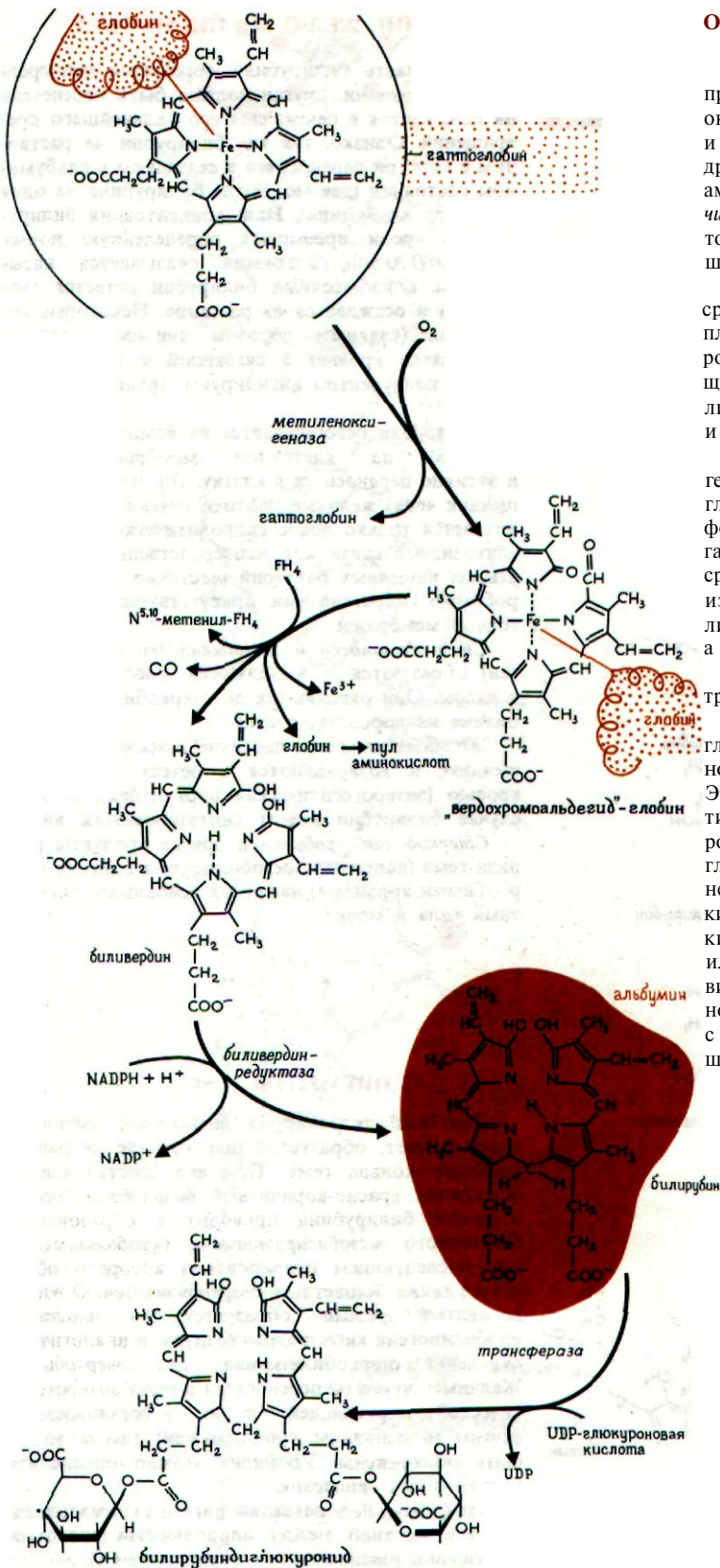
## ОБМЕН ГЕМОГЛОБИНА

Гемоглобин освобождается (около 8-9 г в день при разрушении эритроцитов (время их жизни около 4 мес.). Оба компонента гемоглобина (белок и гем) превращаются далее независимо друг от друга. Глобин протеолитически гидролизуется до аминокислот, а гем превращается в пигменты желчи. Другие гемсодержащие белки (миоглобин, цитохромы, пероксидазы, каталазы и т.д.) разрушаются аналогичным образом.

Гемоглобин, освобожденный из эритроцитов, сразу же связывается с гаптоглобином, белком плазмы крови ( $\alpha_2$ -глобулин), одна молекула которого может связывать две молекулы Hb. Образующийся комплекс адсорбируется ретикулоэндотелиальной системой из циркулирующей в печени и других органах крови.

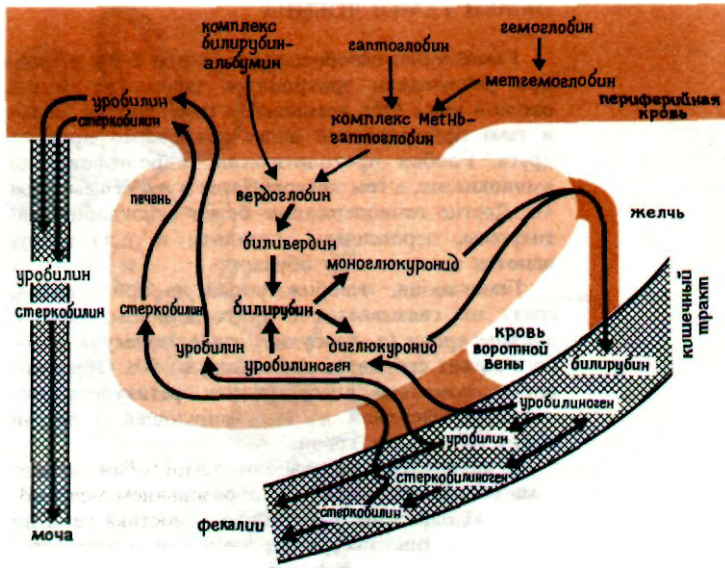
В комплексе гаптоглобин-гемоглобин железо окисляется до  $Fe^{3+}$  (с образованием метгемоглобина), окисление  $\alpha$ -метинового мостика гема до формила происходит после того, как отщепляется гаптоглобин. При открытии порфиринового цикла сродство  $Fe^{3+}$  и глобина к тетрапиррольному производному понижается и молекула распадается на линейное производное тетрапиррола *биливердин*, а также глобин и железо.

Биливердин восстанавливается NADPH по центральному метиновому мостику, давая *билирубин*. Билирубин образует гликозидную связь с UDP-глюкуроновой кислотой через два остатка пропионовой кислоты центральных пиррольных колец. Этот процесс протекает в эндоплазматическом ретикулуме и катализируется UDP-билирубин-глюкуронидтрансферазой. Образуется водорастворимый глюкуронид билирубина. Будучи объемистым, он не может проходить обратно через мембрану клетки печени. Часть билирубина связывается с серной кислотой под действием PAPS, а также с глюкозой или ксилозой. Таким образом, его молекула становится водорастворимой, и в этой форме она переносится в желчные протоки печени. Вместе с желчью она попадает в кишечник, где превращается далее.





## ВЫДЕЛЕНИЕ ЖЕЛЧНЫХ ПИГМЕНТОВ



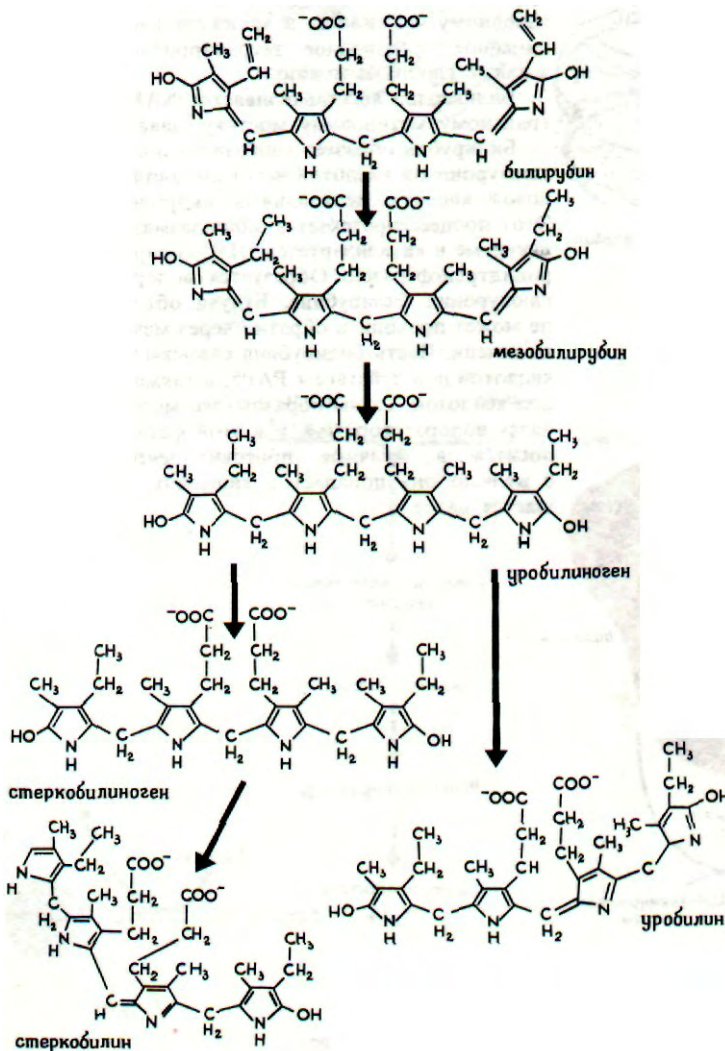
Одна часть билирубина образуется непосредственно в печени, другая должна быть перенесена из ЭС-клеток в печень для его дальнейшего превращения. Однако, так как билирубин не растворим в воде, он переносится в связанном с альбумином состоянии (две молекулы билирубина на одну молекулу альбумина). Если концентрация билирубина в крови превышает определенную норму (30-35 мг/100 мл), альбумин оказывается насыщенным, а избыточный билирубин остается свободным и осажается из раствора. Некоторые соединения (главным образом анионы), которые переносятся кровью в связанной с альбумином форме, конкурентно ингибируют транспорт билирубина.

Билирубин освобождается из комплекса с альбумином на клеточной мембране печени и активно переносится в клетку. Он попадает в кишечник через желчные протоки печени и восстанавливается только после гидролитического распада гликозидной связи или непосредственно под действием кишечных бактерий (частично также анаэробными гидрогеназами, присутствующими в клеточной мембране).

Стеркобилиноген и мезобилиноген (уробилиноген) образуются и выделяются вместе с мочой и калом. Они окисляются до стеркобилина и уробилина кислородом воздуха.

Желчные пигменты частично всасываются в кишечнике и возвращаются в печень с венозной кровью (энтерогапатическая циркуляция). В этом случае билирубин может синтезироваться вновь.

Стеркобилин, уробилин и другие продукты распада гема (например, мезобилифуцин с двумя пиррольными кольцами) являются основными пигментами кала и мочи.



## ЖЕЛЧНЫЕ ПИГМЕНТЫ

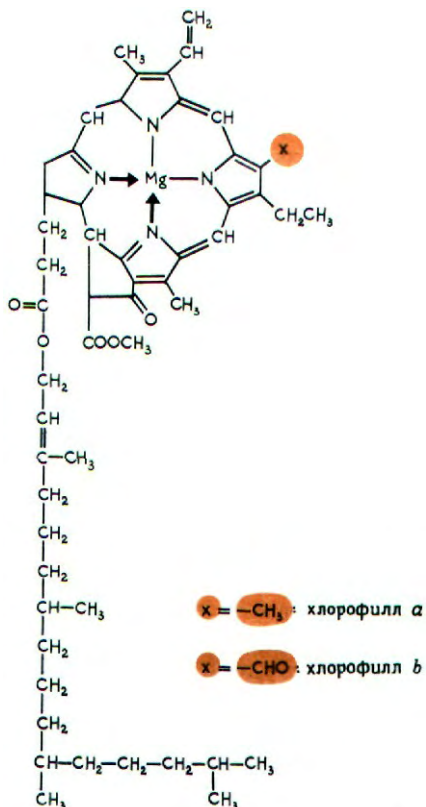
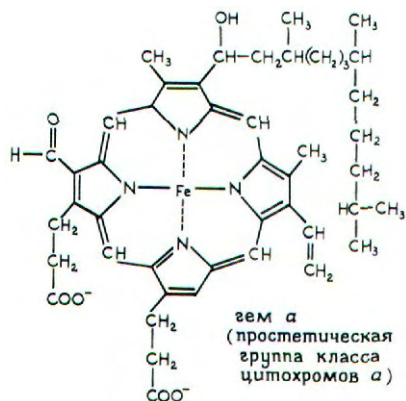
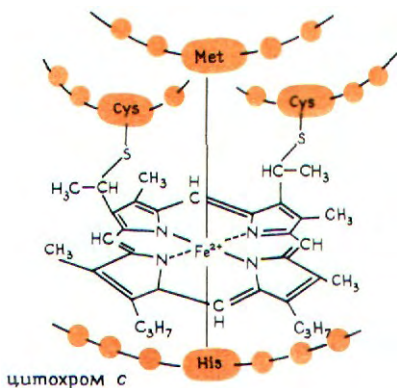
Линейный тетрапиррол *биливердин*, имеющий зеленый цвет, образуется при распаде тетрапиррольного кольца гема. При его восстановлении образуется красно-коричневый *билирубин*. Восстановление билирубина приводит к образованию бесцветного *мезобилирубиногена* (*уробилиногена*), при последующем гидрировании которого образуется также бесцветный *стеркобилиноген*. Оранжево-желтый *уробилин* образуется при окислении уробилиногена кислородом воздуха, а аналогичное окисление стеркобилиногена дает *стеркобилин*. Желчные пигменты переносятся в мочу энтерогапатической циркуляцией, и их восстановленные формы (в основном уробилиноген) там и могут быть обнаружены. Уробилин можно определить только после окисления.

Суффикс -оген в названии пигмента показывает, что все мостики между пиррольными кольцами образованы метиленовыми группами  $-CH_2-$ .

Суффикс -ин показывает, что некоторые мостики дегидрированы до метиновых групп  $-CH=$ .



## ДРУГИЕ ФОРМЫ ПОРФИРИНОВ



*Цитохромы* переносят электроны от дегидрогеназ к кислороду. Они разделяются на три главные группы *a*, *b* и *c* в соответствии со спектрами поглощения восстановленной формы в видимой области спектра.

Большинство цитохромов (за исключением цитохрома *c*) прочно связаны с митохондриальной мембраной и не могут быть получены в растворимом и в гомогенном состоянии. Только цитохром *c* можно выделить из митохондрий путем экстракции растворами солей.

Аминокислотная последовательность цитохрома *c* сейчас известна. Протопорфириновая группа с железом ковалентно связана с белком через сульфидные мостики с двумя молекулами цистеина. Связь образуется присоединением -SH-группы к винильной группе протопорфина. Это единственный случай гемопротейда, в котором гем ковалентно связан с белком. Пятая и шестая координационные связи железа связаны с гистидином и метионином, защищая таким образом железо от взаимодействия с кислородом, CO и даже HCN.

В состав *комплекса цитохромов a + a<sub>3</sub>* (цитохромоксидаза) входит протопорфин А (цитогемин), содержащий формильную группу вместо -CH<sub>3</sub> в положении 8, и 15-углеродную цепь изопреноида вместо винильной группы в положении 5. Пятая координационная связь железа занята аминогруппой аминсахара. Комплекс цитохромоксидазы состоит из шести идентичных субъединиц, каждая из которых содержит одну молекулу цитогемина и один атом меди.

*Хлорофилл* представляет собой зеленый растительный пигмент, содержащий Mg<sup>2+</sup>, координационно связанный в центре тетрапиррольного кольца. Он имеет единственную боковую цепь, образованную спиртом фитолом. Хлорофилл может поглощать видимый свет и использовать его энергию для химических реакций (фотолиз воды, выделение кислорода, биосинтез сахаров).

# IX

Клетка - это основная элементарная единица живого объекта. Термин *живой объект* включает обычно все объекты, способные с *метаболизму* и *воспроизведению* себе подобных.

Для поддержания этих двух основных функций в процессе эволюции в клетке возникли определенные структуры, названные *клеточными органеллами*. Они обеспечивают координированное и регулируемое протекание основных реакционных процессов, необходимых для постоянного проявления жизненных функций.

Для существования живого организма важны следующие клеточные органеллы: *ядро, митохондрии, эндоплазматический ретикулум, рибосомы, лизосомы* и *микротельца*. *Клеточные мембраны*, не только отделяют живой организм (клетку) от окружающей среды, но участвуют в образовании определенных отсеков клетки (функциональных подразделений). Они служат структурным элементом всех клеточных органелл и принимают участие в функционировании большинства из них. Масса мембран может достигать 80% массы клетки. Неструктурированная, коллоидная масса, заполняющая внутриклеточное пространство, называется *цитозолем*.

Иногда клетка содержит морфологически различимые гранулы, в которых находятся продукты клеточной активности, либо запасные продукты (гликоген, капли жира), либо продукты, которые должны быть транспортированы из клетки (проферменты).

Независимо живущие клетки (одноклеточные организмы) обычно содержат все перечисленные выше структуры, и, кроме того, у них есть клеточная стенка и в ряде случаев *сократительный аппарат* (реснички и жгутики).

В многоклеточных организмах существует различие функций, основанное на дифференциации структур. Так, в дифференцированных клетках высших организмов наблюдаются различия в количестве клеточных органелл (иногда и различия в их тонкой структуре, например в числе крист в митохондриях клеток печени и сердечной мышцы), а также в различном их распределении внутри клетки (например, аккумуляция митохондрий в клетке, в которой происходят эндергонические процессы).

Наружная часть плазматической мембраны включает сложные химические структуры (белки, гликопротеины) и называется *гликокаликсом*. Эти структуры служат для узнавания клетками данного вида друг друга и распознавания клеток других видов. Если эти структуры входят в состав специально дифференцированных клеток высших организмов, они служат антигенами и вызывают образование различных специфических антител.

Даже в органах клетки обычно не находятся в тесном контакте. Это объясняется наличием отрицательных зарядов на поверхности клетки, которые взаимно отталкиваются. В результате между клетками образуются узкие пространства, сумма которых в целом органе или организме обозначается как *межклеточное пространство*. Аналогично сумма всех компонентов внутри клетки (например, ядра, митохондрии и т.д.) называется *внутриклеточным пространством*.

С функциональной точки зрения не может быть живых организмов (или даже клеток или их органелл) с неограниченным временем их существования.

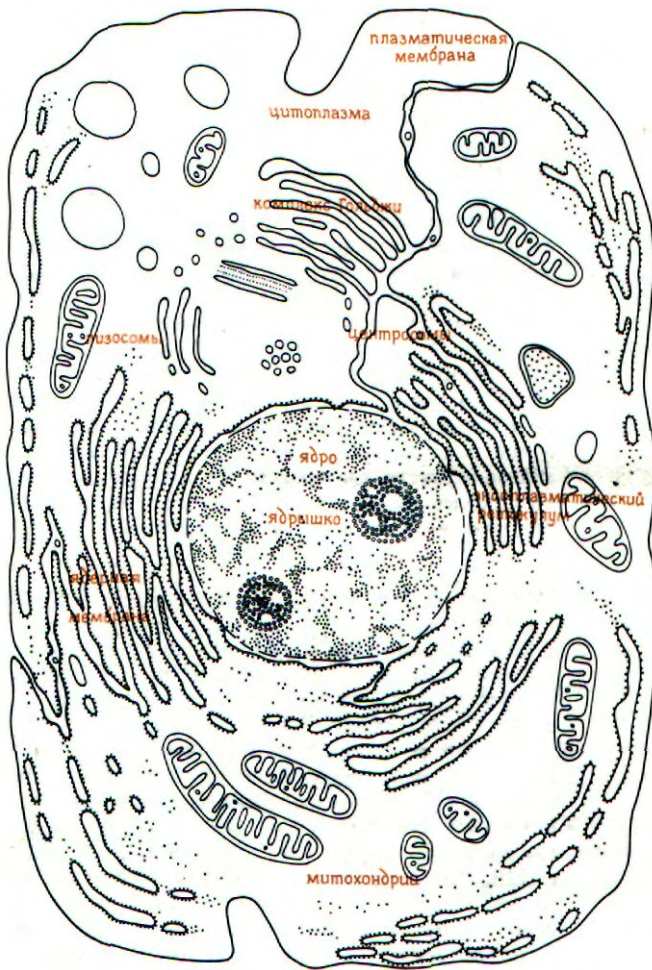
Начиная с процесса деления, все клетки проходят так называемый *жизненный цикл*, в конце которого либо происходит деление с появлением новой клетки, либо наступает смерть. Продолжительность этого цикла видоспецифична и колеблется, согласно современным представлениям, от нескольких часов до десятков лет. В течение жизненного цикла клетка проходит определенные фазы, продолжающиеся различное время, зависящее от типа клетки, и характеризующиеся строго специфическими метаболическими процессами. Эти фазы обозначаются  $G_1$ ,  $S$ ,  $G_2$  и т.д. Клетки, которые не делятся дальше и погибают после определенного времени (например, клетки серого вещества мозга), постоянно находятся в  $G_1$ -фазе. К этой группе клеток принадлежат так называемые дифференцированные клетки.

То, что часть молекул ДНК в ядре связана с гистонами, рассматривалось ранее как молекулярная основа *дифференцировки*. Эта точка зрения была отвергнута после того, как было показано, что гистоны играют определяющую роль в образовании сверхспирали, в фибриллах которой они являются частью дезоксирибонуклеопротеидов и освобождаются только в процессе репликации ДНК.

В соответствии с современными представлениями процесс клеточной дифференцировки является непрерывным, он полностью необратим вследствие функционального блокирования генов. Предполагается, что этот процесс должен управляться продуктами генов, ответственных за строение и сроки синтеза.

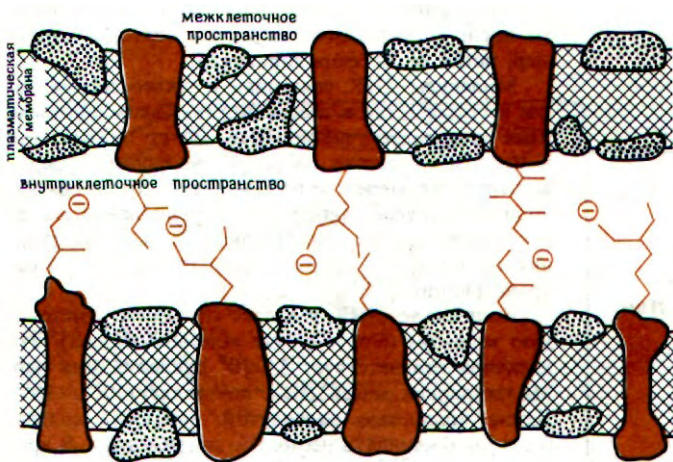
## ОПИСАНИЕ ТИПИЧНОЙ КЛЕТКИ

**Ядро**, окруженное двойной мембраной с порами, локализуется в середине клетки. Внутри ядер видны темные ядрышки. Наружная мембрана ядра является частью эндоплазматического ретикулума, ассоциированного с комплексом *Гольджи*. Рибосомы расположены на поверхности *эндоплазматического ретикулума*. Овальные структуры, окруженные двойной мембраной, внутренняя часть которых образует кристы, - это *митохондрии*. *Лизосомы* окружены одним мембранным слоем. Они содержат гидролитические ферменты, большинство из которых находится в неактивном состоянии в виде проферментов. В одноклеточных организмах они ответственны за переваривание веществ, попадающих в клетку. В высших организмах лизосомы участвуют в процессах деградации клеток, прекративших выполнять свои функции. *Микросомы (пероксисомы)* имеют меньший размер, нежели лизосомы. Они содержат оксидазы, катализирующие окисление соединений, которые являются чужеродными для клетки и поэтому должны быть выведены из нее (например, лекарства, ароматические соединения и т.д.). Клетка окружена *плазматической мембраной*, которая построена так, что в определенных местах появляется возможность прямого переноса соединений из внеклеточного пространства к ядру. Пространство между органеллами, заполненное коллоидной суспензией, богатой белками (ферментами), называется *цитозолем*.

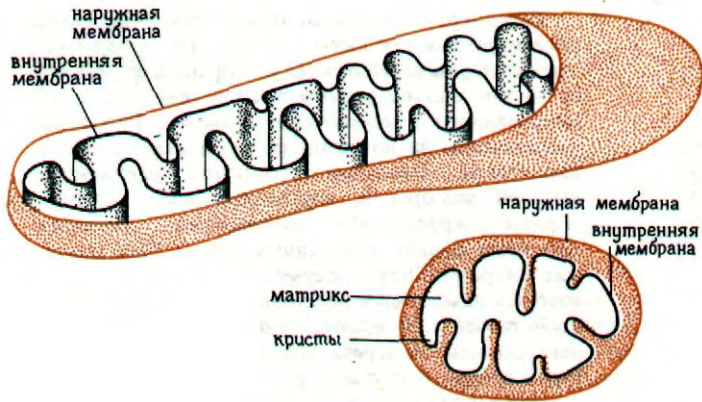


## ПЛАЗМАТИЧЕСКАЯ МЕМБРАНА

Плазматическая мембрана образуется белками (периферическими и интегральными), погруженными в бислой липидов. *Интегральные белки* имеют гликопротеиновую природу. Их N-концевая часть является частью внутреннего фосфолипидного слоя, в который проникает часть пептидной цепи, богатой неполярными аминокислотами (в спиральной конформации), а боковые цепи их вступают в многочисленные гидрофобные контакты с алифатическими цепями фосфолипидов. Олигосахаридные цепи, содержащие обычно GlcNAc, Man, Gal, Fuc и N-ацетилнейраминовою кислоту, могут быть связаны с пептидной цепью интегрального белка на наружной поверхности плазматической мембраны. N-ацетилнейраминовая кислота обычно стоит на конце олигосахаридной цепи и обуславливает ее отрицательный заряд. Олигосахариды придают поверхности клетки особые свойства, позволяющие узнавать клетки того же органа или клетки другого вида (антигенность, контактное ингибирование). Олигосахариды на поверхности клетки образуют слой, называемый *гликокаликсом*. Структуры, локализованные на поверхности клетки, препятствуют тесному контакту между клетками. Это приводит к тому, что между клетками появляется более или менее узкое пространство, заполненное жидкостью. Общее название таких мест в органе или организме - межклеточное пространство. Сумма всех объемов внутри клеток называется *внутриклеточным пространством*.

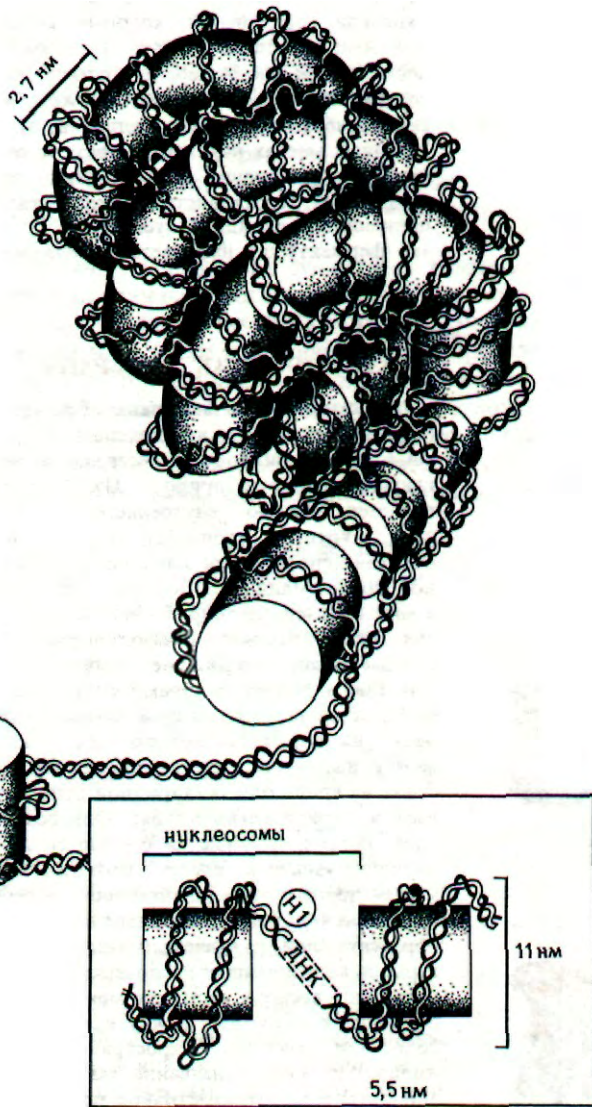






## МИТОХОНДРИЯ

Это место образования АТФ. Энергия, требуемая для его синтеза, появляется в результате постепенного окисления в дыхательной цепи водородсодержащих субстратов (сахаров, липидов, аминокислот) под действием кислорода. Декарбоксилирование в цикле лимонной кислоты приводит к образованию  $\text{CO}_2$ , результатом окисления является образование  $\text{H}_2\text{O}$ . Ферменты, обеспечивающие перенос электронов, являются частью внутренней мембраны митохондрий. Кислород проникает в митохондрии за счет диффузии. Продукт деятельности митохондрий (АТФ) переносится за счет процессов транслокации из места его образования во внутримитохондриальное пространство, где он и используется. Для того чтобы обеспечить быстрый перенос АТФ, митохондрии локализируются вблизи структур, где происходят процессы, идущие с потреблением энергии (например, вблизи элементов, участвующих в процессе сокращения).



## ИНТЕРФАЗНОЕ ЯДРО И ХРОСОМОСЫ

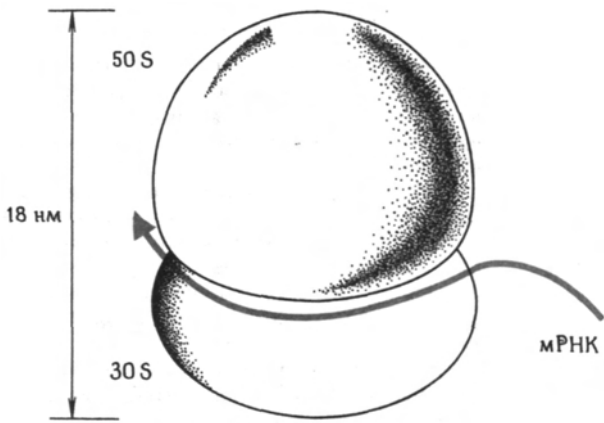
Интерфазное ядро наполнено веществом, называемым хроматином. Наряду с ДНК в хроматине присутствуют два типа белков: основные белки-гистоны и негистоновые белки (имеющие, как правило, кислый характер). Хроматин состоит из повторяющихся структурных элементов - нуклеосом (или  $\nu$ -тел). Ядро нуклеосомы образовано четырьмя типами гистонов, дающих октамер, содержащий по две молекулы каждого из гистонов H3, H4, H2A и H2B. Молекулы гистонов связаны друг с другом за счет гидрофобных взаимодействий, а их N-концевые последовательности (главным образом положительно заряженные) расположены на поверхности октамера. Это в свою очередь обеспечивает взаимодействие октамера с двойной спиралью ДНК. Связанный таким образом фрагмент ДНК содержит в зависимости от биологического объекта 154-241 пару оснований. Расстояние между двумя нуклеосомами лежит в пределах 9-14 нм, а находящаяся в этом районе ДНК связана с гистонами H1. Генетическая информация, содержащаяся в данном районе ДНК, становится доступной только после модификации молекулы гистона (например, после ее фосфорилирования).

Молекулы ДНК, связанные с нуклеосомами, далее свертываются в сверхспираль. Таким образом, даже удаленные участки ДНК могут оказываться в тесном соседстве, образуя, например, прерывистые гены. Перед делением клетки хроматин находится в таком наиболее конденсированном виде и образует *хромосомы*. Предполагается, что функция негистоновых белков проявляется в процессе транскрипции.

Количество ДНК в клетке составляет постоянную величину (6 пг в клетке млекопитающих). Эта величина соответствует  $5,5 \cdot 10^9$  нуклеотидных пар. Молекулярная масса ДНК составляет  $10^{10} - 10^{11}$ . Длина полностью растянутой молекулы должна была бы составлять несколько сантиметров. В хромосомах же молекулы ДНК находятся в высоко конденсированном виде (44:1), и *in vivo*  $7 \cdot 10^6$  г ДНК соответствуют 1 мкм.

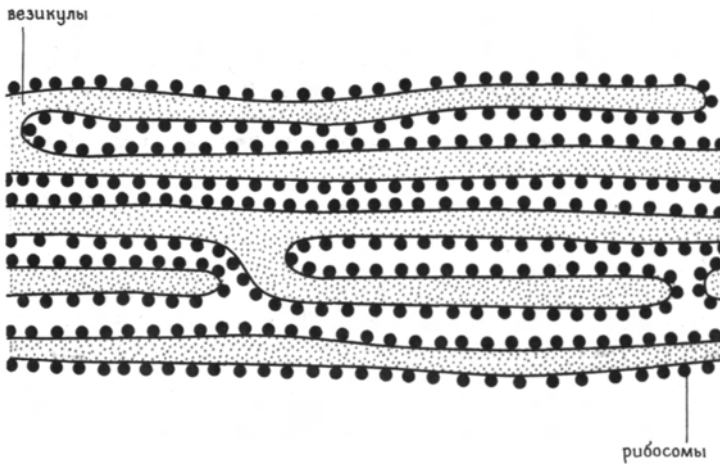
## РИБОСОМЫ, ПОЛИСОМЫ

Рибосомы и полисомы имеют сферическую форму и находятся в цитоплазме либо в свободном, либо в связанном с мембранами эндоплазматического ретикулума виде. Рибосомы состоят из двух субъединиц. В процессе синтеза белка мРНК связывается с малой субъединицей. К одной молекуле мРНК может присоединиться несколько рибосом (не менее 4 и не более 100). Этот комплекс называется *полисомой* (полирибосомой). Рибосомы могут распадаться на субъединицы; этот процесс зависит от концентрации ионов магния. Каждая субъединица построена из молекулы рРНК и определенного набора белков. Число рибосом в бактериальной клетке достигает  $10^4$ , в животной клетке оно составляет около  $10^5$ .



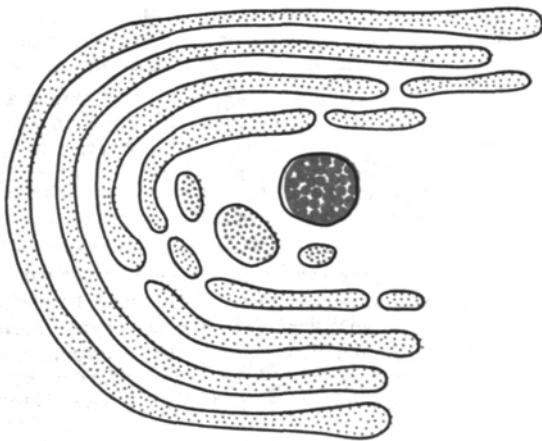
## ЭНДОПЛАЗМАТИЧЕСКИЙ РЕТИКУЛУМ

представляет собой мембранную структуру, расположенную в цитоплазме, вблизи ядра. В электронном микроскопе видны трубочки, называемые цистернами, на наружной поверхности которых могут быть расположены рибосомы. Поэтому эти структуры называются гранулярным, или *шероховатым эндоплазматическим ретикулумом* (ШЭР), в противоположность *гладкому эндоплазматическому ретикулуму* (ГЭР), не имеющему связанных рибосом. Рибосомы прикреплены со стороны цитоплазмы, где идет синтез белка. После завершения белкового синтеза образовавшиеся пептидные цепи проходят через мембрану внутрь цистерны и переносятся в определенные места клетки или в комплекс Гольджи. Согласно существующей точке зрения, те белки, которые должны быть выведены из клетки и, возможно, белковые компоненты мембран, синтезируются в шероховатом эндоплазматическом ретикулуме, а белки, которые используются клеткой, - на свободных рибосомах.



## КОМПЛЕКС ГОЛЬДЖИ

образуется параллельными трубчатыми мембранными системами, которые непосредственно связаны с шероховатым эндоплазматическим ретикулумом. Специфические ферменты, *гликозилтрансферазы*, катализирующие связывание моносахаридов с белками с помощью гликозидных связей (через OH-группы Ser или Thr, реже через амидную группу Asn), являются частью мембран аппарата Гольджи. Моносахариды обычно участвуют в этом процессе в форме производных с UDP или CMP. После присоединения углеводной части белковая молекула может покинуть клетку за счет процесса *экзоцитоза*. Однако раньше, чем это произойдет, белок должен сохраняться в клетке определенное время. Поэтому содержимое вакуолей комплекса Гольджи постепенно концентрируется (вода элиминируется) и белковые продукты (даже в кристаллическом виде) отлагаются в форме гранул.





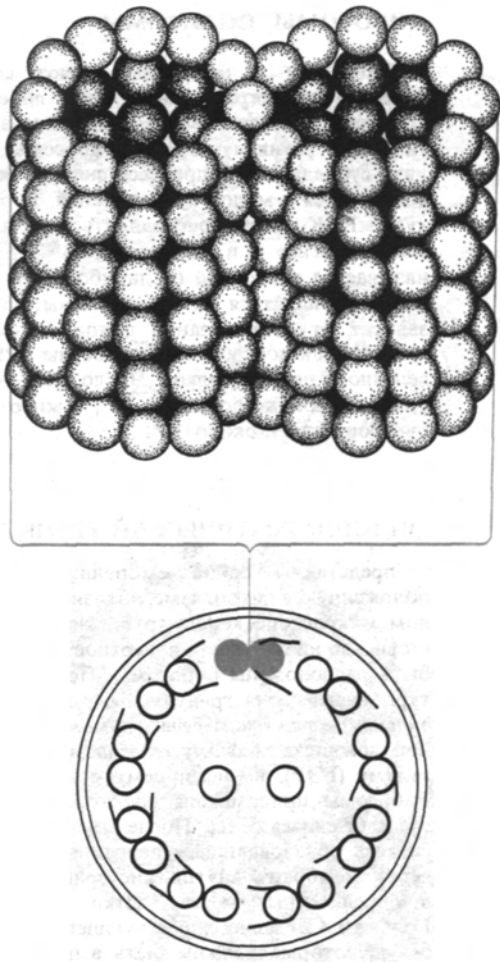
## ДВИГАТЕЛЬНЫЙ АППАРАТ КЛЕТКИ

Как одноклеточные, так и многоклеточные организмы могут быть снабжены расположенными на поверхности ресничками и жгутиками, обеспечивающими движение организма или окружающей его среды.

Эти структуры построены из фибриллярных белков (содержащих глобулярные субъединицы), которые под влиянием макроэргических соединений могут изменять свое пространственное строение (конформацию). Это изменение конформации белковой молекулы координируется и регулируется.

Ультраструктура ресничек и жгутиков одинакова у всех эукариот. Они содержат девять расположенных по окружности пар волокон и одну центральную пару. Каждая нить построена из двенадцати или более протофибрилл. Каждая протофибрилла образована глобулярными субъединицами, имеющими около 4,5 нм в диаметре.

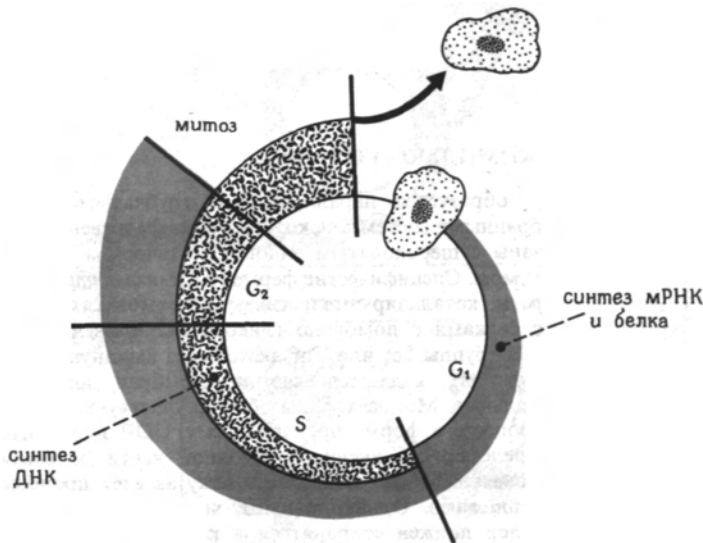
Белки, называемые *динеинами*, были выделены из наружных нитей. Они проявляют АТФазную активность в присутствии АТФ и  $Mg^{2+}$  и изменение их конформации, по-видимому, важно для движения. Цитоплазматические микротрубочки имеют похожую структуру.



## РОСТ И ДЕЛЕНИЕ КЛЕТОК

Делением материнской клетки образуются две дочерние клетки. В течение последующего периода клетки растут и готовятся к дальнейшему делению. Интервал между двумя митозами (*клеточный цикл*) в экспоненциальной фазе роста составляет 10 мин для бактериальной клетки и 24 ч для животной клетки. В течение этого времени клетка проходит несколько фаз роста. В *постмитотической фазе*  $G_1$  клетка синтезирует молекулы РНК и белки (ДНК не синтезируется). Продолжительность этой фазы составляет 30-40% времени всего цикла. Клетки, которые не делятся дальше (например мышечные и глиальные клетки), постоянно находятся в  $G_1$ -фазе. В фазе синтеза (S) происходит полная дупликация ДНК. В меньшей степени идет синтез РНК и белков. Эта фаза занимает 30% времени цикла. Подготовка к митозу происходит в *фазе*  $G_2$ . Детали этого метаболического процесса в настоящее время неизвестны, но ясно, что в это время запасается энергия, необходимая для митоза. РНК и белки продолжают синтезироваться и в это время. Эта фаза продолжается 10-20% времени цикла. *Митоз* занимает 5-10% цикла, и в это время метаболические процессы не происходят.

В клетках HeLa общая продолжительность цикла 23 ч,  $G_1 = 12$  ч,  $S = 5$  ч,  $G_2 = 5$  ч, митоз = 1 ч.





## Клеточные мембраны. Транспорт веществ

# X

Одним из фундаментальных свойств живых систем является их способность к обмену веществами и энергией с окружающей средой. Это приводит к возникновению разности концентраций веществ в внутриклеточном пространстве и внеклеточном пространстве, окружающем живую систему. Эта разность лежит в основе ряда жизненных процессов. Различия в концентрациях может поддерживаться лишь при условии, что клетки отделены от окружающей среды мембранами с различной степенью проницаемости для разных веществ.

Отделение клетки от окружающей среды не единственная функция мембран. Мембраны создают также архитектуру органелл клетки и, следовательно, лежат в основе их физиологических функций. В некоторых случаях мембраны составляют до 80% общей массы сухих компонентов клетки.

Состав мембран зависит от их типа и функции, однако во всех случаях их основными составляющими являются липиды и белки, соотношение между которыми колеблется в пределах от 0,4 до 2,5. Толщина мембран обычно составляет 4-10 нм.

*Белковые компоненты* мембран состоят из молекул с молекулярной массой от 5000 до 250000. *Липидная часть* состоит в основном из фосфолипидов, сфинголипидов и стероидов. В мембранах животных клеток свыше 50% липидных компонентов составляют глицерофосфолипиды (лецитин, кефалин и др.), около трети - холестерин, а остальное - сфинголипиды, гликолипиды и триацилглицерин.

Структурная организация мембран до сих пор до конца не ясна. Электрономикроскопические исследования показывают наличие трех слоев, из которых два внешних поглощают электроны, а третий, внутренний, легко их пропускает. Структура мембран и расположение в них различного рода компонентов описываются рядом моделей.

*Модель элементарной мембраны* представляет мембрану как два белковых слоя различного состава, перемежающихся внутренним слоем липидов. Внешний белковый слой содержит мукопротеиды, а внутренний образуется из глобулярных белков, обладающих ферментативной активностью.

*Модель глобулярных субъединиц* рассматривает мембрану как состоящую из липидных глобул, окруженных белковой оболочкой. При этом образуются почти цилиндрические мицеллы, объединяющиеся в плоские, круглые или трубчатые образования. Между субъединицами могут находиться тончайшие поры, через которые легко проникают низкомолекулярные вещества. Конформационные изменения белков, окружающих эти поры, оказывают существенное влияние на их проницаемость.

Принятая в настоящее время *жидкостно-мозаичная модель* заключается в том, что мембраны образуются из липидного двойного слоя, покрытого *периферическими белками*, которые легко отделяются от липидов. В липидный двойной слой также включаются белки, полностью или частично погруженные в него и получившие название *интегральных белков*. Эти белки имеют двойственную природу, причем спиральные участки, пронизывающие липидный слой, состоят из алифатических (липофильных) аминокислот, в то время как их наружные концы гидрофильны и могут быть связаны с остатками сахаров (терминальный остаток - N-ацетилнейраминавая кислота). Таким образом, они принимают участие в образовании полисахаридной оболочки (*гликокаликса*) некоторых клеток. Кроме того, эти части структур несут отрицательные заряды и могут участвовать в *контактном ингибировании*.

*Основные функции клеточных мембран* заключаются в отделении клеток от межклеточной жидкости, создании внутренней архитектуры клетки, в поддержании градиента концентраций и электрохимического градиента, в осуществлении переноса питательных веществ и продуктов жизнедеятельности, они являются носителями поверхностных антигенов, в них возникают и через них передаются нервные импульсы, а также осуществляются многие другие процессы. Проницаемость мембран для различных веществ зависит как от свойств молекул этих веществ, так и от характеристики мембран. В зависимости от того, требует ли перенос вещества через мембрану затраты дополнительной энергии, эти процессы могут быть разделены на пас-

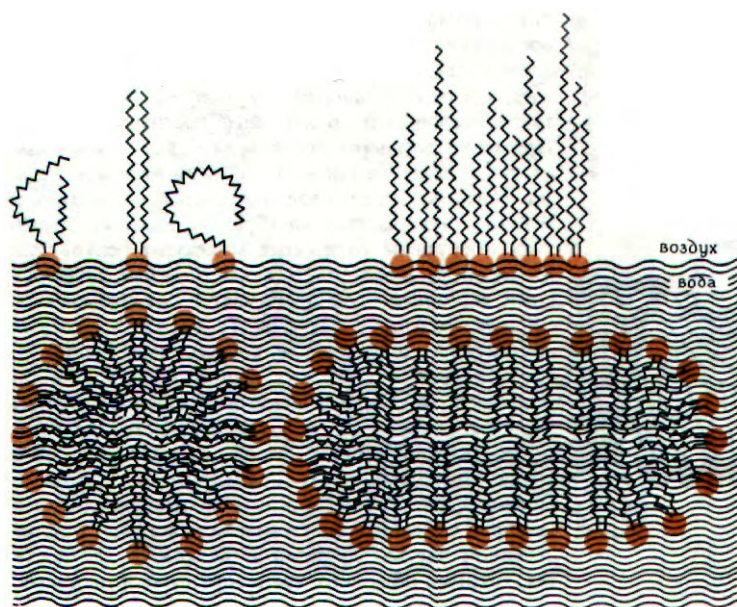
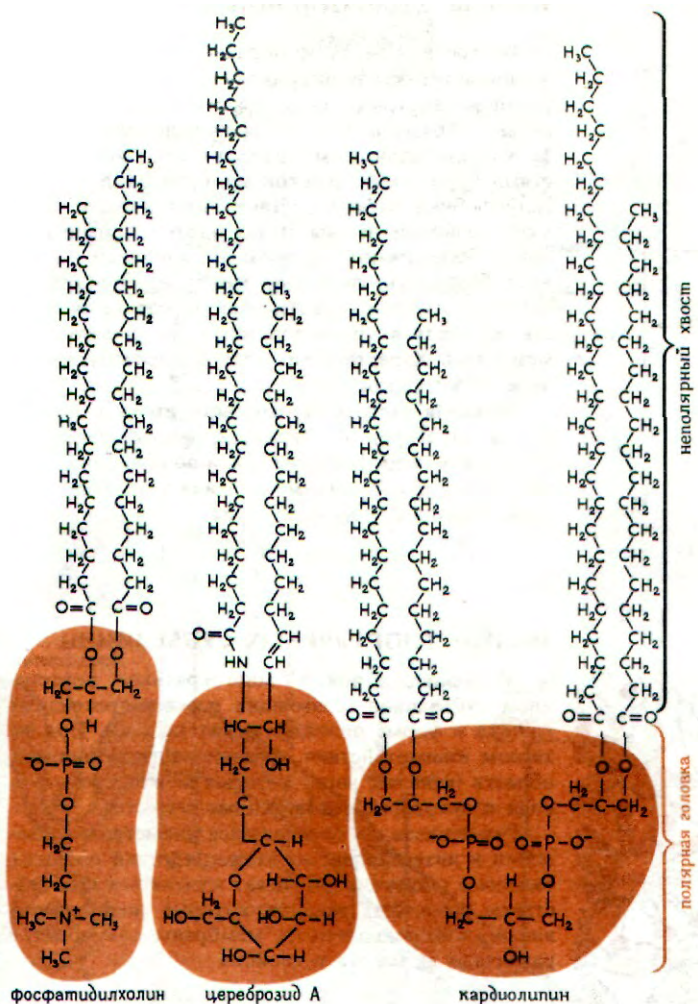
сивные (протекающие спонтанно в результате наличия градиента концентраций или электрохимического потенциала) и активные (требующие затраты энергии метаболизма).

*Пассивный транспорт* протекает главным образом в результате диффузии веществ через поры (вода или другие низкомолекулярные гидрофильные молекулы) или липидные домены мембран (большинство гидрофобных молекул, в том числе многие лекарства).

*Активный транспорт* протекает в сопряжении с экзергоническими реакциями метаболизма, обычно против градиента химического или электрохимического потенциала, причем источником энергии часто бывают АТФ или другие макроэргические соединения. Благодаря этому активному транспорту осуществляется ряд важных жизненных функций. Он позволяет клетке концентрировать питательные вещества, находящиеся во внешней среде в весьма низких концентрациях. Он поддерживает и контролирует оптимальный состав внутриклеточной среды. Активный транспорт (наряду с облегченной диффузией, процессом специфическим, но термодинамически пассивным) осуществляется *системой носителей*, состоящей из белков. Эти белки специфично связывают субстраты, подобно тому как это делают ферменты, и передают их (сами или при взаимодействии с другими белками мембран) на другую сторону мембраны. Подобно ферментам, эти белки и/или носители могут ингибироваться как конкурентно, так и неконкурентно. Активный транспорт отличается от облегченной диффузии тем, что последняя не требует затраты энергии и протекает только до момента установления равновесия концентраций по обе стороны мембраны. Некоторые системы активного транспорта, если их лишить притока энергии, начинают функционировать как системы с облегченной диффузией.

## ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЛИПИДОВ МЕМБРАН

Липиды относятся к дифильным веществам - их молекулы состоят из двух частей с различными физико-химическими свойствами. Одна часть - *головки* молекулы, обычно состоит из глицерина, остатка фосфорной кислоты, аминок спирта, карбоксильной группы жирной кислоты или другой полярной группы (например, группы OH при C<sub>3</sub> холестерина) и является *гидрофильной*. Другая часть молекулы - ее хвост, является гидрофобной и состоит из алифатических цепей жирных кислот или стероидного скелета холестерина. Несмотря на все различия в составе, все эти фосфатиды имеют весьма сходные размеры молекул (длина около 3 нм, диаметр около 0,5 нм) и форму и обладают сходными свойствами - способностью к образованию комплексов с холестерином и к связыванию полярных групп других молекул, таких, как белки и диполи молекул воды.

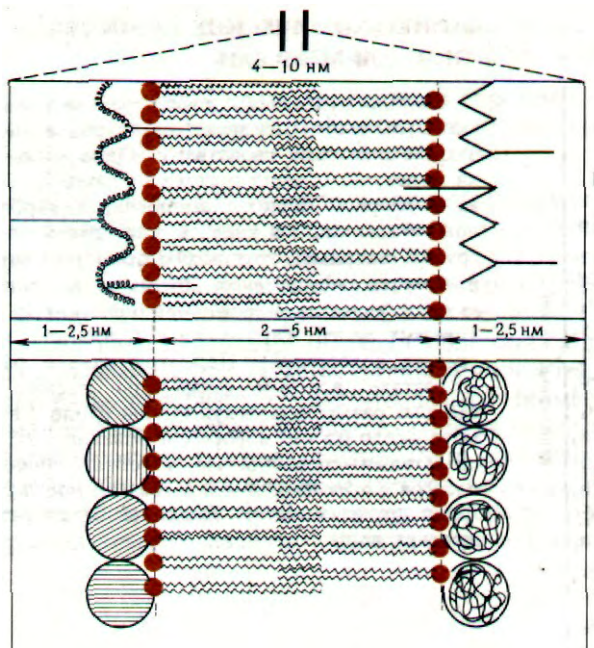


## ОРИЕНТАЦИЯ ФОСФОЛИПИДОВ НА ПОВЕРХНОСТИ РАЗДЕЛА

Полярные липиды способны распространяться по поверхности водных растворов с образованием мономолекулярных слоев. Гидрофобные цепи жирных кислот обращены в сторону воздуха, а гидрофильные части молекул погружены в водную фазу.

В водных растворах полярные липиды могут спонтанно образовывать мицеллы, причем липофильные части молекул ориентируются по направлению друг к другу с образованием гидрофобного ядра, которое защищено от водной фазы оболочкой из гидрофильных частей молекул. Такого рода ориентация фосфолипидов в мицеллах приводит к образованию двуслойных структур с толщиной около 7 нм.





## МОДЕЛЬ ЭЛЕМЕНТАРНОЙ МЕМБРАНЫ

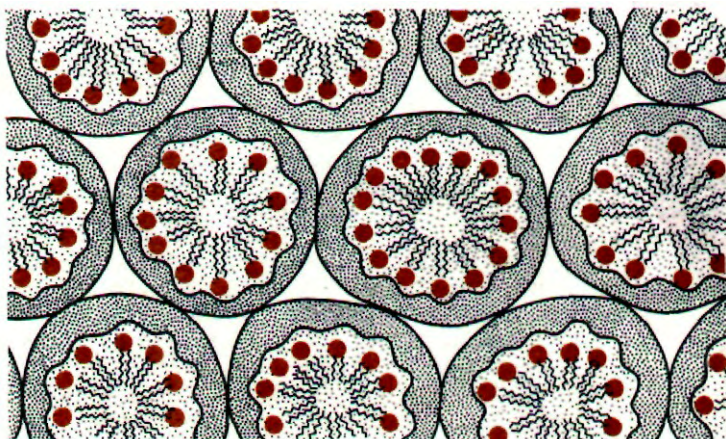
Внутренняя часть мембраны образована двуслойными структурами полярных липидов, ориентированных внутрь своей алифатической неполярной цепью, образующей непрерывную липидную фазу. Между алифатическими цепями и неполярными частями других компонентов мембран наблюдаются гидрофобные взаимодействия. Хотя каждое такое взаимодействие весьма слабо, однако, суммируясь, они обеспечивают прочность липидных слоев и стабильность липидных мембран. Дальнейшая организация липидных мембран определяется свойствами белков, расположенных на поверхности мембраны. Характер этих белков определяется генетическим кодом.

Белковая часть мембран часто имеет  $\beta$ -кративную структуру и связана с фосфолипидными слоями как гидрофобными, так и полярными связями, в которых принимают участие различные ионы и молекулы воды.

## МОДЕЛЬ ГЛОБУЛЯРНЫХ СУБЪЕДИНИЦ

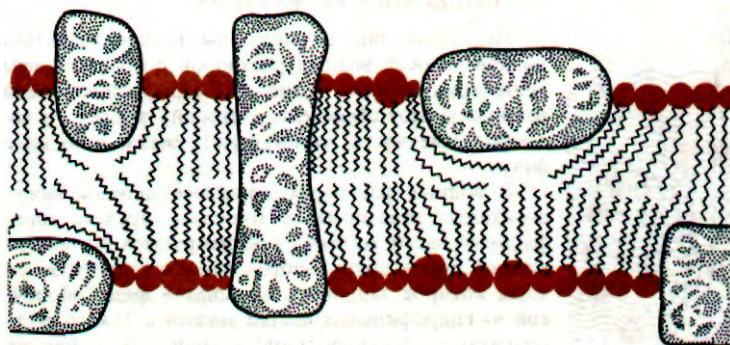
Мембраны строятся многократным повторением субъединиц (состоящих из липопротеидных мицелл в форме цилиндрических колонн). При их тесном взаимодействии образуются гидрофильные области (каналы), через которые может проникать вода и некоторые растворенные вещества.

Размер каналов определяется диаметром субъединиц и интенсивностью взаимодействий соседних белковых оболочек. Он может изменяться под действием различных веществ, которые специфически влияют на проницаемость мембраны для молекул различных размеров и свойств.



## ЖИДКОСТНО-МОЗАИЧНАЯ МОДЕЛЬ

Разнообразные функции мембран нельзя объяснить с помощью какой-либо одной из моделей. Современная модель структуры мембран заключается в следующем. В основе мембранной матрицы лежит *двуслойная липидная структура*, включающая также стероиды и производные полиизопреноидов. Примерно половина поверхности этих двуслойных структур покрыта так называемыми *периферическими белками*, легко отделяющимися от мембран. В некоторых участках мембран в липидную структуру погружены отдельные молекулы белков или их агрегаты (кластеры). Таким образом, непрерывный липидный слой прерывается так называемыми *интегральными белками*. Та их часть, которая контактирует с липидными слоями, имеет спиральное строение и содержит аминокислоты с липофильными белковыми цепями. Полярные группы гидрофильных аминокислот непосредственно взаимодействуют с водной фазой, окружающей мембрану. В водную фазу проникают и олигосахаридные цепи. Таким образом, в некоторых типах мембран связанные белки взаимодействуют с определенной частью липидов и белков, в частности тех, которые обладают транспортными функциями.





## ПЕРЕНОС ВЕЩЕСТВ ЧЕРЕЗ МЕМБРАНЫ

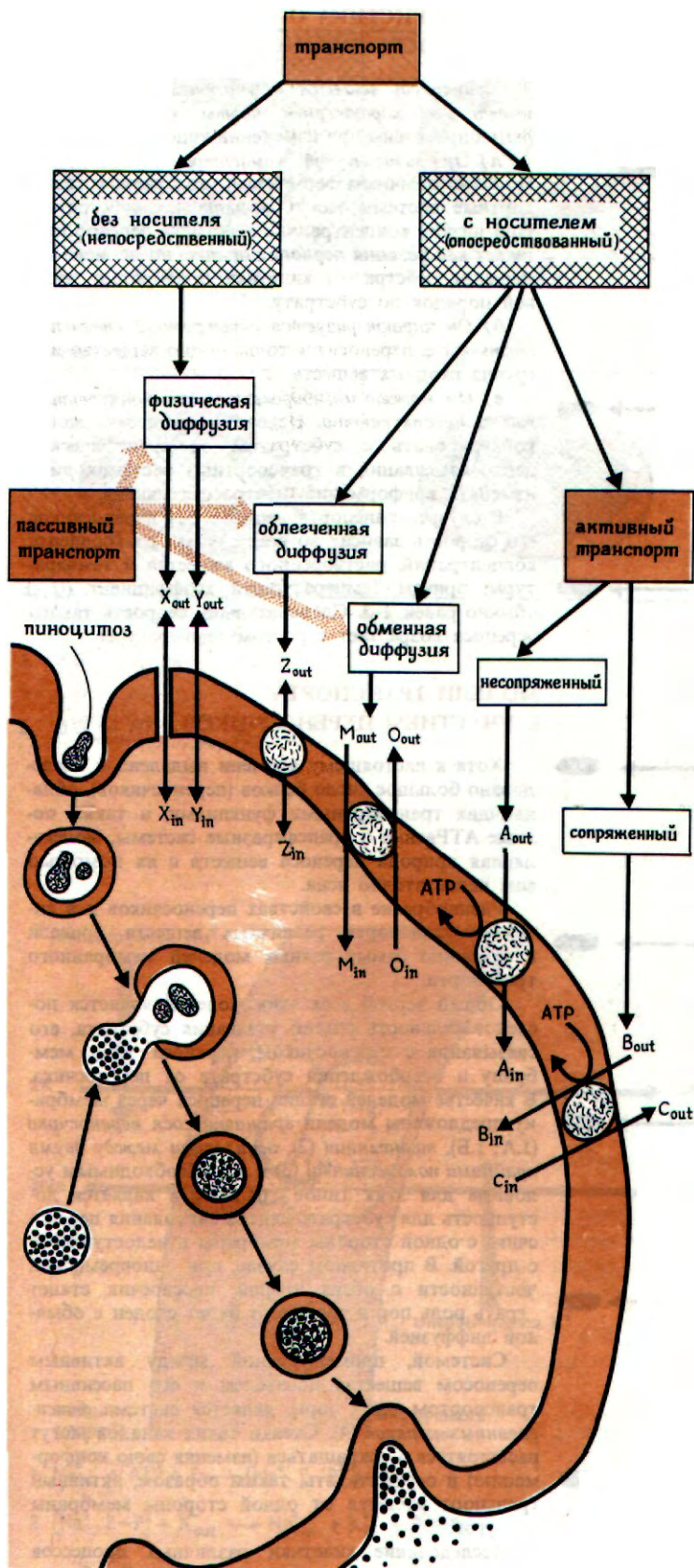
Растворенные вещества проникают через мембраны либо сами, без переносчиков, либо с помощью переносчиков.

Непосредственный (без носителей) транспорт веществ осуществляется через *поры мембран*, т.е. в тех белоксодержащих участках, которые проницаемы для малых молекул (воды, мочевины и др.) и действуют подобно молекулярным ситам, а также непосредственно *через липидную фазу* мембраны. В последнем случае липидная фаза служит растворителем для ряда веществ, обладающих малополярным характером (простые и сложные эфиры, высшие спирты, жирные кислоты и др.). *Перенос веществ без носителей* всегда протекает в направлении *градиента концентрации*, и его скорость зависит от величины этого градиента, константы диффузии, температуры и/или значения коэффициента распределения. Однако большинство веществ проникает через биологические мембраны с помощью специфических транспортных систем, так называемых *переносчиков*. Этот термин относится к специфическим мембранным белкам или функциональным комплексам липопротеидов, которые обладают благодаря своей третичной структуре такими местами (рецепторами), которые способны связывать молекулы субстратов на одной стороне мембраны, переносить их через мембрану и освобождать их по другую сторону мембраны. Простейшим процессом транспорта с помощью переносчика является так называемая *облегченная*, или *опосредованная*, диффузия. В этом процессе носитель облегчает перенос вещества через мембрану в направлении градиента концентраций без затраты энергии. В тех случаях, когда переносчик облегчает перенос какого-либо вещества в одном направлении и одновременно другого - в противоположном без затраты энергии, процесс называется *обменной диффузией*.

Для осуществления процесса *активного транспорта*, дающего возможность переносить вещества от мест с низкой концентрацией в места с высокой концентрацией, требуется не только носитель, но и источник энергии, обычно им является АТФ. Активный транспорт может служить для переноса одного вещества в одном направлении, либо для переноса двух веществ в противоположных (или в том же самом) направлениях, в последнем случае он называется *сопряженным активным транспортом*.

Важным транспортным процессом, особенно при переносе макромолекул через мембраны, является *пиноцитоз*. Он включает выпячивание клеточной мембраны внутрь, отделение образующейся таким образом вакуоли, содержащей макромолекулу, и ее перенос внутрь клетки. Вакуоли обычно связаны с лизосомами, образуя так называемые переваривающие вакуоли, являющиеся местом действия ферментов. Считают, что *экзоцитоз*, процесс, обратный пиноцитозу, лежит в основе молекулярных механизмов выделения высокомолекулярных веществ из клеток.

Аналогичный процесс переноса твердых частиц известен под названием *фагоцитоза*.





## ХАРАКТЕРИСТИКА ОПОСРЕДОВАННОГО И НЕОПосРЕДОВАННОГО ПЕРЕНОСОВ

Транспорт веществ с участием переносчиков имеет три характерные черты, которые могут быть определены при измерении кинетики переноса.

а) Он зависит от концентрации субстрата. Подобно обычным ферментам, мембранные транспортные системы могут насыщаться субстратом. При низких концентрациях субстрата перенос протекает как реакция первого порядка, но по мере насыщения субстратом кинетика приобретает нулевой порядок по субстрату.

б) Он характеризуется субстратной специфичностью, т. е. переносится только одно вещество или группа сходных веществ.

в) Он может ингибироваться как конкурентно, так и неконкурентно. Некоторые вещества могут конкурировать с субстратом за специфический центр связывания в транспортных системах либо изменять конформацию центра связывания.

В случае транспорта веществ без переносчиков его скорость зависит во всех случаях от градиента концентраций, растворенного вещества и температуры, причем температурный коэффициент ( $Q_{10}$ ) обычно равен 2-3. Следовательно, скорость такого переноса возрастает с ростом температуры.

## МОДЕЛИ ТРАНСПОРТА С УЧАСТИЕМ ПЕРЕНОСЧИКОВ

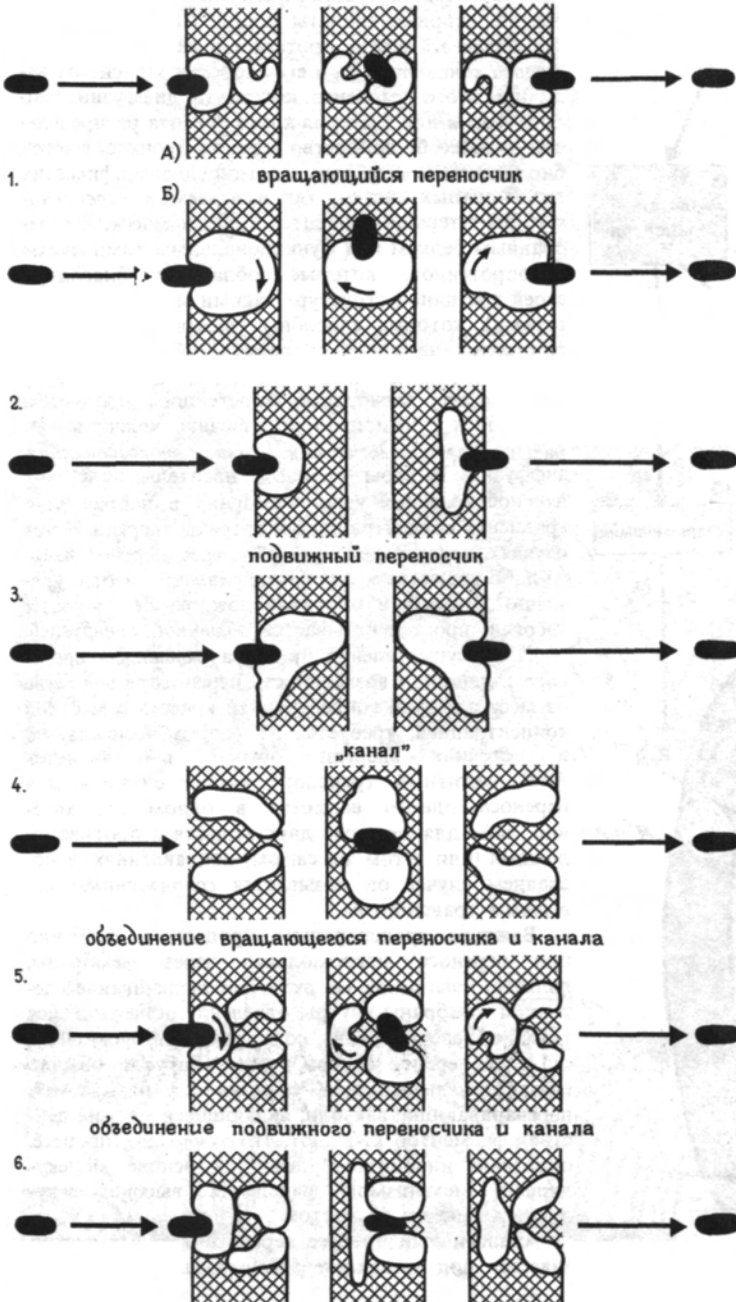
Хотя к настоящему времени выделено и исследовано большое число белков (переносчиков), обладающих транспортными функциями, а также полные АТФазные и трансферазные системы, молекулярная природа переноса веществ с их помощью еще недостаточно ясна.

Разнообразие в свойствах переносчиков и в кинетике транспорта различных веществ привели к созданию самых разных моделей мембранного транспорта.

Общей чертой всех этих моделей является последовательность стадий узнавания субстрата, его связывания с переносчиком, переноса через мембрану и освобождения субстрата от переносчика. В качестве моделей стадии переноса через мембрану предложены модели *вращающегося переносчика* (1А; 1Б), *трансляции* (2), *осцилляции между двумя крайними положениями* (3) и т.д. Необходимым условием для этих типов транспорта является доступность для субстрата центра связывания переносчика с одной стороны мембраны и недоступность с другой. В противном случае, при одновременной доступности с обеих сторон, переносчик станет играть роль пор и транспорт будет сходен с обычной диффузией.

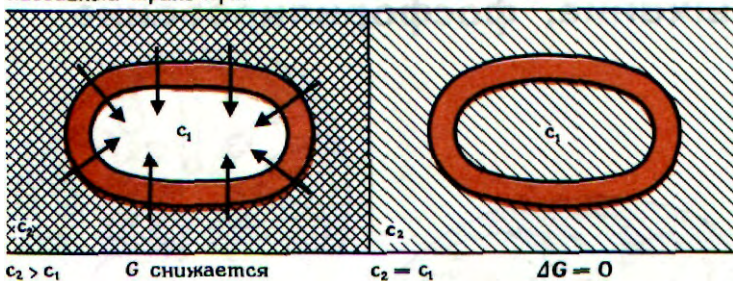
Системой, промежуточной между активным переносом вещества носителем и его пассивным транспортом через поры, является система *фиксированных каналов* (4). Стенки таких каналов могут расширяться и сокращаться (изменяя свою конформацию) и осуществлять, таким образом, активный транспорт молекул от одной стороны мембраны к другой.

Исследование кинетики различных процессов транспорта привело к созданию моделей, объединяющих особенности моделей подвижного переносчика и каналов (5, 6).

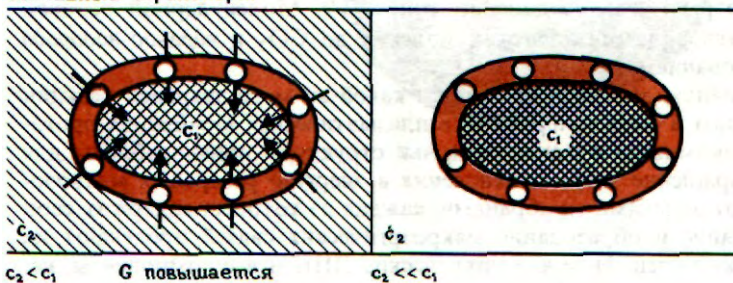




### пассивный транспорт



### активный транспорт



$$1. \Delta G^\circ = RT \ln \frac{c_2}{c_1}$$

$$2. \Delta G^\circ = RT \ln \frac{c_2}{c_1} + ZF\Delta\psi$$

## ЭНЕРГЕТИКА ПАСИВНОГО И АКТИВНОГО ТРАНСПОРТА

Пассивный транспорт растворенного вещества приводит к установлению равенства (равновесия) концентраций по обе стороны мембраны. Таким образом, в результате пассивного транспорта свободная энергия системы падает и при достижении равенства концентраций становится равной нулю.

Активный транспорт не может протекать спонтанно и требует притока внешней энергии, в результате чего в системе совершается осмотическая или электрическая работа. Таким образом, в результате активного транспорта свободная энергия системы возрастает.

Изменение свободной энергии при переходе раствора, содержащего 1 моль растворенного вещества, от низкой концентрации  $c_1$  к более высокой  $c_2$  выражается уравнением (1). Если растворенное вещество несет электрический заряд, то уравнение принимает вид (2), где  $Z$  - заряд иона,  $\psi$  - разность потенциалов по обе стороны мембраны (в В),  $F$  - число Фарадея.

Первый член этого уравнения выражает зависимость свободной энергии от концентрации, а второй - изменение свободной энергии в результате изменения электрического заряда или потенциала. Сумма этих двух членов дает так называемый электрохимический потенциал системы.

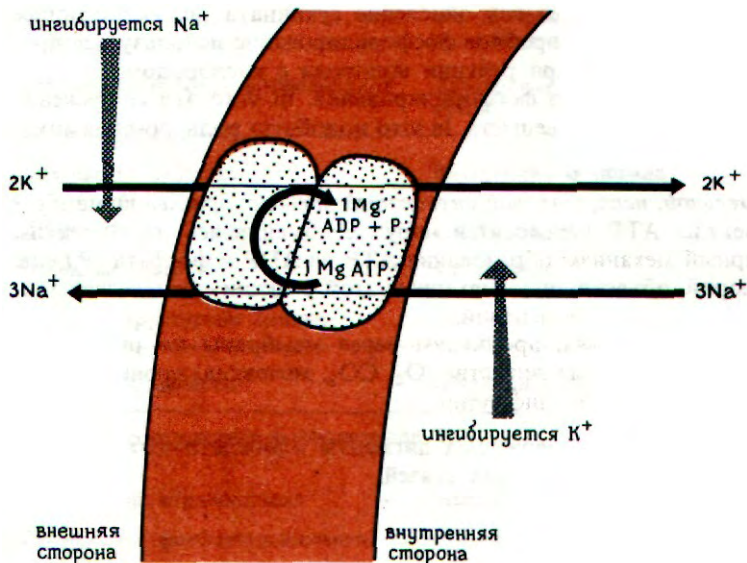
### НАТРИЕВЫЙ НАСОС

Так называемый натриевый насос осуществляет активный транспорт ионов  $\text{Na}^+$  через мембраны. Этот активный транспорт ионов натрия из клетки в наружную среду осуществляется с помощью двух типов «насосов». В первом из них транспорт ионов  $\text{Na}^+$  из клетки сопряжен с транспортом ионов  $\text{K}^+$  внутрь клетки; он получил название *сопряженного нейтрального насоса*.

Во втором типе транспорт ионов  $\text{Na}^+$  не требует обязательного сопряжения с транспортом  $\text{K}^+$ . Поскольку транспорт  $\text{Na}^+$  из клетки без компенсации ионами  $\text{K}^+$  вызывает рост электрохимического потенциала, он получил название *электрогенного*. Такой электрогенный насос ответствен за возникновение трансмембранных потенциалов.

Источником энергии активного транспорта является АТФ или другие формы энергии метаболизма. Одной из наиболее распространенных систем активного транспорта является *Na, K-АТФазная система*, осуществляющая транспорт ионов  $\text{Na}^+$  из клетки и в то же самое время ионов  $\text{K}^+$  в клетку. АТФазные системы локализованы в мембранах и взаимодействуют с ионами натрия, находящимися внутри клетки и ионами калия, находящимися вне клетки.

Источником энергии для сопряжения транспорта двух ионов  $\text{K}^+$  в клетку и трех ионов  $\text{Na}^+$  из клетки является расщепление одного моля АТФ до АДФ и фосфата.



*Клеточное дыхание* - это последовательность реакций, с помощью которых организм использует энергию связей органических молекул для синтеза макроэргических соединений типа АТФ. Молекулярной основой этих процессов является ступенчатое окисление углерода органических молекул до  $\text{CO}_2$  и *перенос водорода* (протоны плюс электроны) к кислороду с образованием молекул воды.

Таким образом, энергия, получаемая при клеточном дыхании, является в какой-то мере энергией реакции водорода с кислородом. Все эти процессы протекают в *митохондриях* (и в плазматических мембранах прокариот). Митохондрии являются относительно автономными органеллами, чьи структуры приспособлены для осуществления такой основной функции, как превращение энергии окисления в энергию резервных макроэргических веществ. Митохондрия окружена двумя отдельными мембранами, каждая из которых содержит свои характерные ферменты. Аэробное фосфорилирование и образование макроэргических связей протекают на внутренней мембране. Митохондрии содержат также специфические циклические ДНК и все компоненты, необходимые для синтеза белков. Это указывает на то, что в далеком прошлом, возможно, митохондриеподобные организмы были способны к независимому существованию.

Образование  $\text{CO}_2$  связано с окислением субстратов в цикле лимонной кислоты внутри митохондрий (в их матриксе), а последовательность реакций переноса водорода и электронов (дыхательная цепь) локализована на внутренней митохондриальной мембране. Эта цепь включает NADH-дегидрогеназы, FADH-дегидрогеназы (флавопротеиды), негемовые железосодержащие белки, кофермент Q и цитохромы b,  $c_1$ , c, a и  $a_3$ .

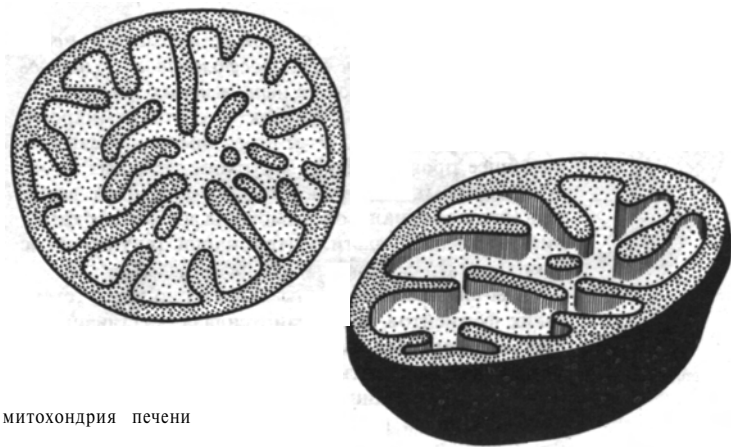
Компоненты дыхательной цепи расположены по степени возрастания их окислительно-восстановительных потенциалов (от отрицательных к положительным величинам). Энергия, выделяющаяся в ходе переноса водорода и электронов в дыхательной цепи, используется для образования АТФ в ходе так называемого *аэробного фосфорилирования*. Для образования одной молекулы АТФ из ADP и фосфата необходима энергия, соответствующая изменению потенциала, равному 0,15 В. Окисление одной молекулы NADH (через флавопротеиды) обеспечивает в среднем синтез трех молекул АТФ, в то время как окисление сукцината (не включающее NADH) дает энергию для образования двух молекул АТФ. На аэробное фосфорилирование используется примерно 40% теоретической величины энергии, выделяющейся при реакции водорода с кислородом.

Реакции дыхательной цепи сопряжены с реакцией аэробного фосфорилирования. *In vitro* это сопряжение может быть нарушено введением 2,4-динитрофенола и сходных веществ, *in vivo* подобную роль, по-видимому, играют тиреоидные гормоны.

*Синтез АТФ* может осуществляться только *цельной, ненарушенной внутренней митохондриальной мембраной*. Образующиеся внутри митохондрии молекулы АТФ переносятся наружу, обмениваясь на молекулы ADP, находящиеся вне митохондрии. Молекулярный механизм образования АТФ из ADP и фосфата ( $\text{P}_i$ ) еще до конца не выяснен, и существует несколько теорий, объясняющих механизм этой реакции - химическая теория, химио-осмотическая теория, теория конформационных изменений.

Вещества, подвергающиеся превращениям в митохондриях, проникают через мембраны по различным специфическим механизмам. Низкомолекулярные и неполярные вещества ( $\text{O}_2$ ,  $\text{CO}_2$ , мочевины) проникают через митохондриальные мембраны свободно, по типу простой диффузии.

*Фотосинтез* - это процесс, протекающий в растениях и в содержащих пигменты одноклеточных организмах, при котором энергия света превращается в энергию химических связей.



митохондрия печени

## МИТОХОНДРИЯ

Митохондрия ограничена двумя отдельными мембранами. *Внешняя мембрана* гладкая, *внутренняя* имеет нерегулярно чередующиеся складки, так называемые митохондриальные *кристы*. Внутренняя часть митохондрий называется *матриксом*.

Каждая из частей митохондрии обладает специфическими свойствами и содержит различные типы ферментов, необходимых для протекающих здесь химических процессов.

Одной из основных функций митохондрии является образование АТФ. Оно протекает внутри митохондрий и катализируется ферментами, локализованными на наружной поверхности внутренней мембраны. Различие числа крист в митохондриях разных клеток связано с количеством синтезируемого АТФ, которое прямо пропорционально числу крист и общей поверхности внутренней митохондриальной мембраны.

### МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ, ФИЗИЧЕСКАЯ И ХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКИ ВНУТРЕННЕЙ И ВНЕШНЕЙ МЕМБРАН МИТОХОНДРИИ КЛЕТОК ПЕЧЕНИ

Морфологические особенности	Внутренняя мембрана	Внешняя мембрана
Толщина	5-7 нм	5-7 нм
Форма	Складчатая	Гладкая
Поверхность	Внешняя поверхность гладкая; внутренняя поверхность состоит из регулярно расположенных фрагментов	Внутренняя поверхность гладкая; внешняя поверхность имеет нерегулярно расположенные каналы
Влияние экстракции фосфолипидов	Двуслойная структура остается незатронутой	Двуслойная структура разрушается
Физические свойства	Внутренняя мембрана	Внешняя мембрана
Плотность	1,192-1,230	1,094-1,122
Проницаемость	Селективная	Даже большие молекулы проникают свободно
Рентгеноструктурные данные		Весьма сходные
Химические свойства	Внутренняя мембрана	Внешняя мембрана
Массовое соотношение фосфолипидов и белков	0,27	0,82
Содержание кардиолипина	Высокое	Низкое
Содержание фосфотидилинозита	Низкое	Высокое
Содержание холестерина	Низкое	Высокое
Убихинон	Присутствует	Отсутствует
Моноаминоксидаза	Отсутствует	Присутствует
Цитохромоксидаза	Присутствует	Отсутствует



## ВНЕШНЯЯ МЕМБРАНА

АТФ-зависимая ацил-СоА-синтетаза  
Система удлинения цепей жирных кислот  
Ферменты метаболизма фосфолипидов и липидов  
Аминоксидаза (флавиносодержащая)  
Кинуренин-3-гидроксилаза  
NADH-дегидрогеназа  
Моноаминоксидаза

## МЕЖМЕМБРАННОЕ ПРОСТРАНСТВО

Аденилаткиназа  
ADP-АТФ-ферменты фосфорилирования, не зависящего от дыхательной цепи

## ВНУТРЕННЯЯ МЕМБРАНА

Цитохромы *b*, *c*<sub>1</sub>, *c*, *a*, *a*<sub>3</sub>  
NADH-дегидрогеназа  
Ферменты фосфорилирования, зависящего от дыхательной цепи (связывающий фактор F<sub>1</sub>)  
Ацил-СоА-трансфераза (взаимодействующая с карнитином)  
Ферментативная система удлинения цепей жирных кислот  
Феррохелатаза  
Ацил-СоА-дегидрогеназа

## МАТРИКС

Цитратсинтаза  
Изоцитратдегидрогеназа  
Фумаратгидролаза  
Аконитатгидролаза  
Малатдегидрогеназа  
Ферменты β-окисления жирных кислот  
δ-Аминолевулатсинтаза  
Ферменты синтеза белков

## ЛОКАЛИЗАЦИЯ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ

Внешняя мембрана содержит *ферменты метаболизма жирных кислот, фосфолипидов и липидов и ферменты, удлиняющие цепи жирных кислот*. Состав этих ферментов близок к составу микросомальных ферментов. Это, по-видимому, указывает на общее происхождение митохондриальных и микросомальных мембран. Главной функцией внешней митохондриальной мембраны является отделение внутренней части митохондрии (в том числе и внутренней мембраны) от цитоплазмы.

Для внешней мембраны характерно присутствие таких ферментов, как аминоксидаза, катализирующая превращения аминов, и кинуренин-3-гидроксилаза. Эти ферменты служат своеобразным маркером при выделении митохондриальных мембран, указывая на их индивидуальность и чистоту.

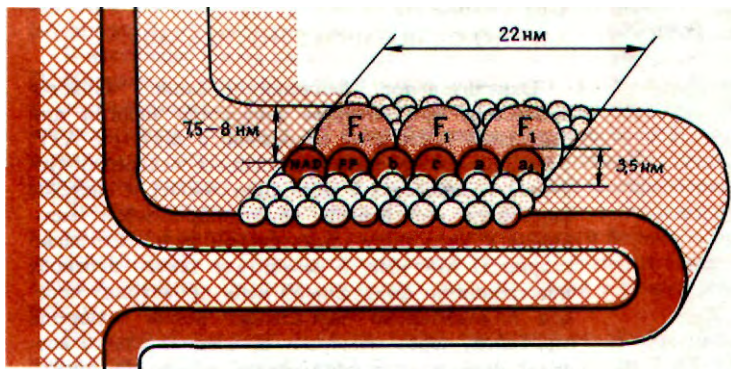
20-25% всех белков, содержащихся во внутренней мембране, составляют ферменты, и это в первую очередь *ферменты дыхательной цепи и ферменты окислительного фосфорилирования, цитохромы и фактор F<sub>1</sub>*. Внутренняя мембрана пронизана лишь для малых молекул и содержит специфические переносчики для органических фосфатов, ADP, АТФ, аминокислот, жирных кислот, ди- и трикарбоновых кислот.

Внутренняя поверхность мембран связывает пиридиннуклеотиды, являющиеся коферментами реакций, протекающих в митохондриальном матриксе.

Кроме того, внутренние мембраны содержат ферменты, удлиняющие цепи жирных кислот (начиная с 10С), и ферменты, катализирующие синтез порфиринов и гема.

Матрикс представляет собой гелеобразную фазу с тонкой структурой, содержащую около 50% белков. Существенное влияние на нее оказывает изменение конформации внутренней мембраны, происходящее при дыхании. Матрикс содержит *ферменты цикла лимонной кислоты, ферменты, катализирующие окисление жирных кислот в β-положении, синтез порфобилиногена, рибосом, ферменты, активные в синтезе белков, РНК и ДНК*.

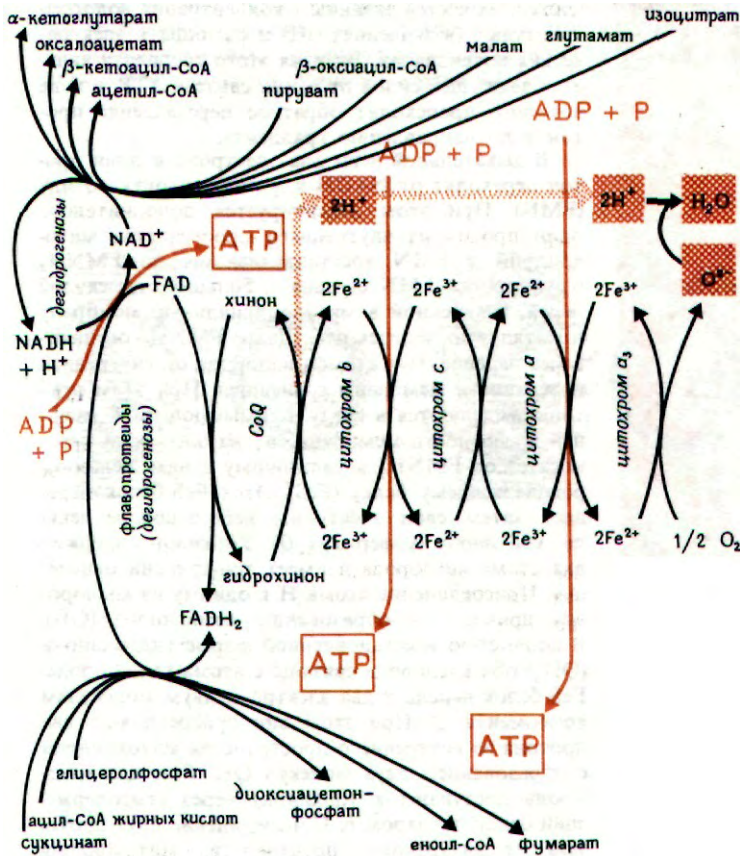
Число ферментов, охарактеризованных и выделенных из индивидуальных компонентов митохондрий, превышает 40.



## РАСПОЛОЖЕНИЕ КОМПОНЕНТОВ В ПЛОСКОСТИ ВНУТРЕННЕЙ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ МЕМБРАНЫ

Внутренняя мембрана содержит NAD, флавопротеиды и цитохромы, связанные в комплексы, каждый из которых представляет собой независимую дыхательную систему, включающую NADH-дегидрогеназу, сукцинатдегидрогеназу, кофермент Q и цитохромы примерно в молярных соотношениях. Часть из этих компонентов регулярным образом расположена на поверхности мембраны, а другая часть пронизывает весь слой мембраны. Митохондрии клеток печени, например, содержат около 5000 таких единичных комплексов, митохондрии клетки мышцы сердца - около 20000.

Компоненты дыхательной цепи непосредственно связаны с фактором фосфорилирования  $F_1$  (фактор сопряжения), представляющий собой белок с молекулярной массой 280000 и диаметром молекулы около 8 нм).



## УПРОЩЕННАЯ СХЕМА ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ И МЕСТ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ

Компоненты дыхательной цепи образуют комплексы во внутренней митохондриальной мембране. Пространственное расположение индивидуальных компонентов таково, что оно облегчает их функционирование и соответствует возрастанию окислительно-восстановительных потенциалов.

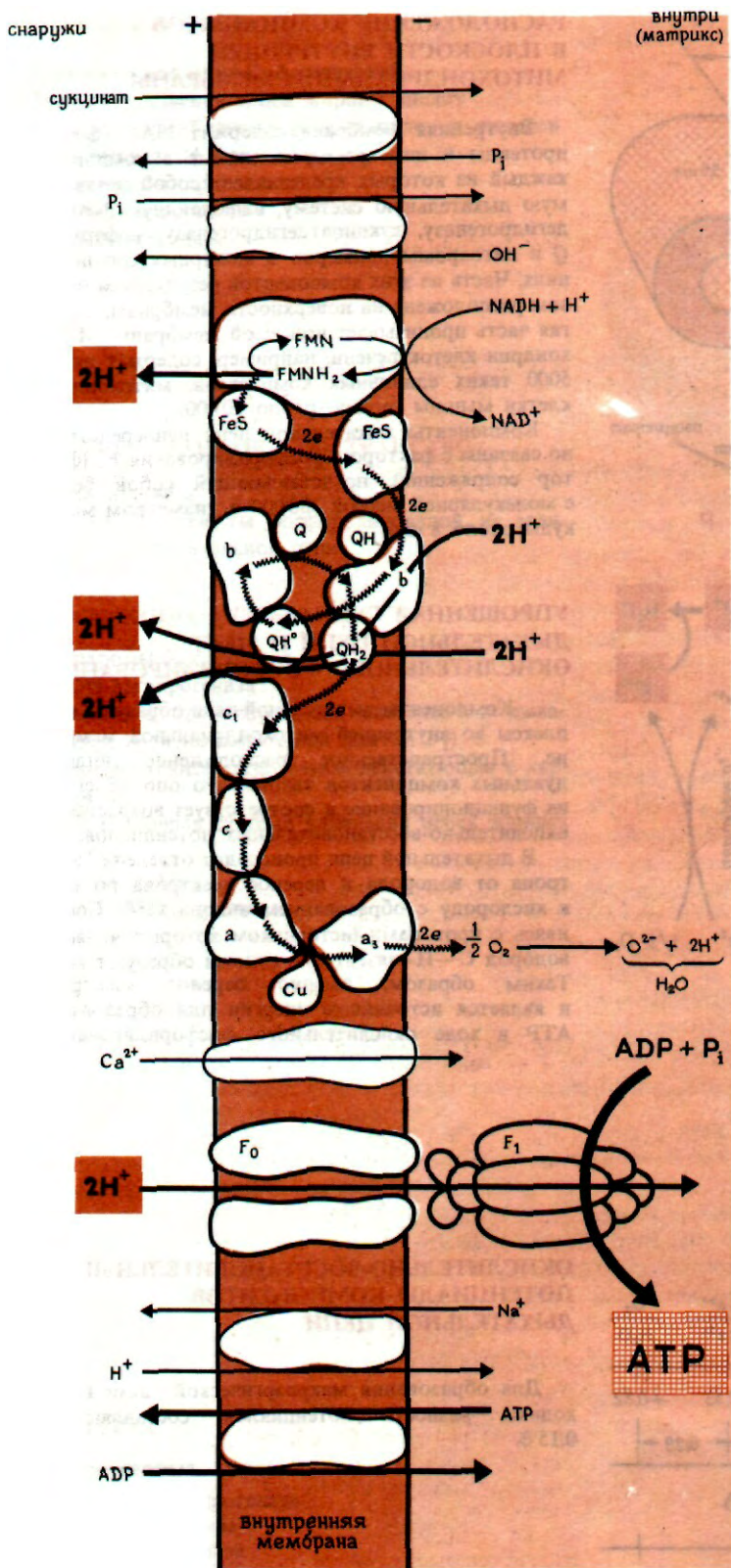
В дыхательной цепи происходит отделение электрона от водорода и перенос электрона по цепи к кислороду с образованием аниона  $O^{2-}$ . Соединяясь с протонами (источником которых является водород С—Н-связей), эти анионы образуют воду. Таким образом, именно перенос электрона и является источником энергии для образования АТФ в ходе окислительного фосфорилирования.

## ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫЕ ПОТЕНЦИАЛЫ КОМПОНЕНТОВ ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ

субстрат	NAD <sup>+</sup>	FAD	Q	cyt b <sup>3+</sup>	cyt c <sup>3+</sup>	cyt a <sup>3+</sup>	O <sub>2</sub>	
субстрат-H <sub>2</sub>	NADH + H <sup>+</sup>	FADH <sub>2</sub>	QH <sub>2</sub>	cyt b <sup>2+</sup>	cyt c <sup>2+</sup>	cyt a <sup>2+</sup>	H <sub>2</sub> O	
E <sup>0'</sup> , В	-0,4	-0,32	-0,06	0,0	+0,26	+0,29	+0,53	+0,82
ΔE'	←0,08	0,26	←0,06	0,26	←0,03	0,24	←0,29	
АТФ теоретически возможный	0	1	0	1	0	3		
АТФ образующийся	0	1		1		1		

Для образования макроэргической связи необходима разность потенциалов, составляющая 0,15 В.





## ОБРАЗОВАНИЕ АТФ. ХИМИО-ОСМОТИЧЕСКИЙ МЕХАНИЗМ

Окислительное фосфорилирование является процессом, при котором выделение энергии при окислении субстратов сопряжено с синтезом АТФ. Электроны и протоны (или атомы водорода) субстрата переносятся с помощью NADH и системы ферментов внутренней митохондриальной мембраны к кислороду (дыхательная цепь). Согласно теории П. Митчела, в результате такого переноса электронов по дыхательной цепи происходит переход положительно заряженных ионов водорода (протонов) через мембрану и, следовательно, возникновение электрохимического градиента протонов в мембране. Этот градиент состоит из двух составных частей: разности в концентрации водородных ионов (в значениях рН) и разницы в электрических потенциалах. Энергия этого градиента является движущей силой процесса синтеза АТФ, в ходе которого происходит обратное перемещение протонов по направлению градиента.

В дыхательной цепи два электрона и один протон переходят от NADH к флавиномонуклеотиду (FMN). При этом акцептируется дополнительно один протон из внутреннего пространства митохондрий и FMN восстанавливается до FMNH<sub>2</sub> (группировка FMN связана с большой молекулой белка, внедренной в митохондриальную мембрану и вытянутую поперек нее). Далее FMNH<sub>2</sub> осуществляет перенос двух атомов водорода от внутренней поверхности мембраны к внешней. При этом протоны выделяются в среду, примыкающую к внешней поверхности мембраны, а два электрона переносятся от FMNH<sub>2</sub> к связанному с ним железосодержащему белку (FeS). Этот FeS-белок передает затем свои электроны небольшой молекуле - убинону (кофермент Q). Убинон содержит два атома кислорода и имеет три степени окисления. Присоединение атома H к одному из кислородов приводит к образованию семигидрона (QH). В полностью восстановленной форме гидрохинона (QH<sub>2</sub>) оба кислорода связаны с атомами водорода. FeS-белок передает два электрона двум молекулам кофермента Q. При этом они присоединяют два протона из внутреннего пространства митохондрии с образованием двух молекул QH. Еще два электрона поступают к убинону через гемсодержащий белок цитохром b. Присоединение двух протонов из внутреннего пространства митохондрии приводит к образованию двух молекул полностью восстановленного убинона QH<sub>2</sub>. Таким образом, общее число протонов, переносимых при восстановлении кофермента Q, равно четырем. Следует отметить, что кофермент Q растворим в липидах мембран и, возможно, мигрирует в мембране в ходе переноса электронов.

Каждая молекула QH<sub>2</sub> отдает электрон следующему переносчику-цитохрому c<sub>1</sub>. Далее электрон по компонентам дыхательной цепи (цитохромы c, a) передается к терминальному цитохрому a<sub>3</sub>, который окисляется молекулой кислорода. При этом каждый атом O принимает два электрона и присоединяет два протона, образуя молекулу воды. Таким образом, каждая пара электронов, переносимая от NADH к кислороду, приводит к перемещению ше-



сти протонов от внутренней к внешней поверхности мембраны. Этот процесс завершается на стадии АТРаза (комплекс  $F_1-F_0$ ), где каждые два перенесенных протона осуществляют синтез одной молекулы АТР.

В настоящее время имеется несколько гипотез о механизме синтеза АТР комплексом  $F_1-F_0$ . Одна из них предложена П. Митчелом. Согласно этой гипотезе, фосфатная группа связывается ферментом, активный центр которого находится в  $F_1$ -части комплекса вблизи конца  $F_0$ -канала, по которому переносится протон. Два протона переносятся по этому каналу под действием градиента рН и мембранного потенциала. Эти протоны атакуют один из фосфатных кислородов, который в результате этого отщепляется в виде молекулы воды. При этом фосфатная группа превращается в весьма реакционно-способную частицу, способную реагировать с АDP с образованием АТР.

Другая гипотеза заключается в том, что протоны вызывают изменения конформации белка вблизи активного центра, приводящие к синтезу АТР. В активном центре такого фермента происходит самопроизвольное соединение АDP и неорганического фосфата. Образующаяся молекула АТР остается связанной с ферментом, и для ее отщепления необходимо затратить энергию. Энергия эта может быть получена в результате присоединения протона к ферменту (не по активному центру) с изменением его конформации.

Протонный градиент является также движущей силой связанного с ним транспорта и других ионов. Так, транспорт ионов натрия происходит в результате вытеснения катионов  $Na^+$  протонами, находящимися в повышенных концентрациях (градиент рН). Аналогичным образом транспорт неорганического фосфата осуществляется за счет замены его на ионы гидроксила. С другой стороны, транспорт ионов кальция через мембраны не зависит от градиента рН и осуществляется за счет мембранного потенциала и электростатических сил, но без обратного потока других ионов. Транспорт  $Ca^{2+}$  происходит по направлению к отрицательно заряженной внутренней поверхности мембраны. Мембранный потенциал является также движущей силой обмена молекул АDP и АТР.

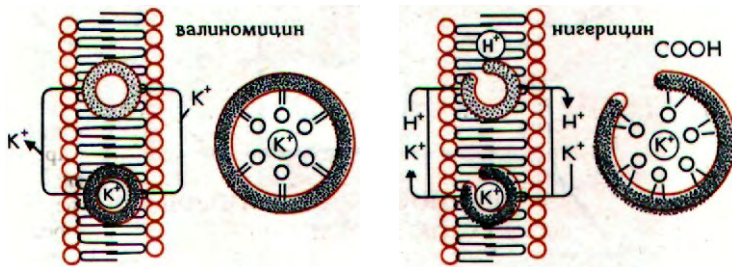
## РАЗОБЩЕНИЕ ПРОЦЕССОВ ДЫХАНИЯ И ОКИСЛИТЕЛЬНОГО ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ

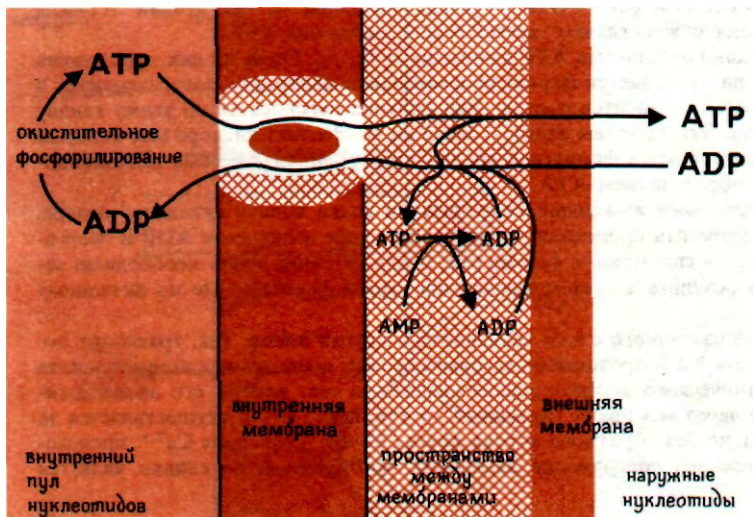
Возникающий при дыхании протонный градиент является движущей силой процесса окислительного фосфорилирования. Протонные ионофоры (т.е. молекулы, переносящие ионы через мембраны) вызывают разобщение процессов дыхания и окислительного фосфорилирования. Это связано с тем, что такие ионофоры, перенося протоны через мембраны, приводят к выравниванию градиента рН и мембранного потенциала. Так, ионофор валиномицин (циклическая молекула, растворимая в липидах мембран), способный переносить ионы  $K^+$ , выравнивает только мембранный потенциал. В присутствии валиномицина обратный ток ионов  $K^+$  нейтрализует разницу в электрических зарядах, однако в процессе дыхания этот процесс компенсируется возрастанием градиента рН.

С другой стороны, ионофор нигерицин, не влияя на мембранный потенциал, вызывает обмен протонов на ионы калия. Молекула нигерицина не растворима в мембране и переходит в нее лишь при связывании либо  $H^+$ , либо  $K^+$ . Таким образом, нигерицин выравнивает градиент рН, затем в ходе дыхания происходит компенсация этого эффекта за счет возрастания мембранного потенциала.

В присутствии обоих этих ионофоров осуществляется выравнивание как градиента рН, так и мембранного потенциала, в результате чего наблюдается значительное ингибирование процессов фосфорилирования. Таким образом, в присутствии протонных ионофоров энергия дыхания не превращается в химическую энергию, а рассеивается в виде тепла.

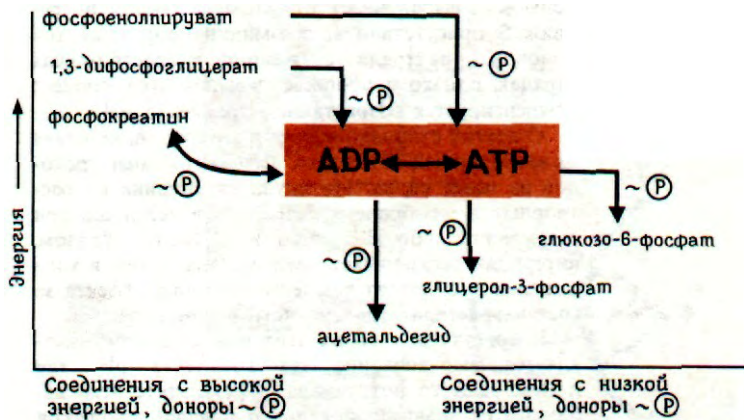
Первым среди протонных ионофоров был найден динитрофенол. Возможно, что действие тиреоидных гормонов на мембраны заключается в том, что они меняют степень ненасыщенности жирных кислот в мембранах. При этом происходит изменение проницаемости мембран для ионов, поскольку ненасыщенные жирные кислоты играют роль своеобразных протонных ионофоров. Таким образом, тиреоидные гормоны играют роль своеобразных разобщителей окислительного фосфорилирования.





## ПЕРЕМЕЩЕНИЕ АТР И АДР ЧЕРЕЗ МИТОХОНДРИАЛЬНУЮ МЕМБРАНУ

АТР, образуемая в митохондриях при окислительном фосфорилировании, не переносится в цитоплазму в результате простой диффузии. Митохондриальная мембрана содержит высокоспецифичный переносчик *транслоказу*, который катализирует перенос 1 молекулы АТР из матрикса в цитоплазму с одновременным переносом 1 молекулы АДР в обратном направлении (*обменная диффузия*). Система переноса АТР/АДР является весьма специфичной. Она обладает высоким сродством как к АТР, так и к АДР, но не проявляет сродства к другим нуклеотидам (ХТР, ХДР). Она может быть ингибирована весьма малыми концентрациями атрактилозида - токсического растительного гликозида.



## ПЕРЕНОС ~P ОТ ДОНОРОВ К АКЦЕПТОРАМ

Система АТР-АДР осуществляет перенос фосфатных групп от соединений с макроэргическими фосфатными связями (1,3-дифосфоглицерат, фосфоенолпируват, фосфокреатин) к акцепторам фосфата с низкой энергией.

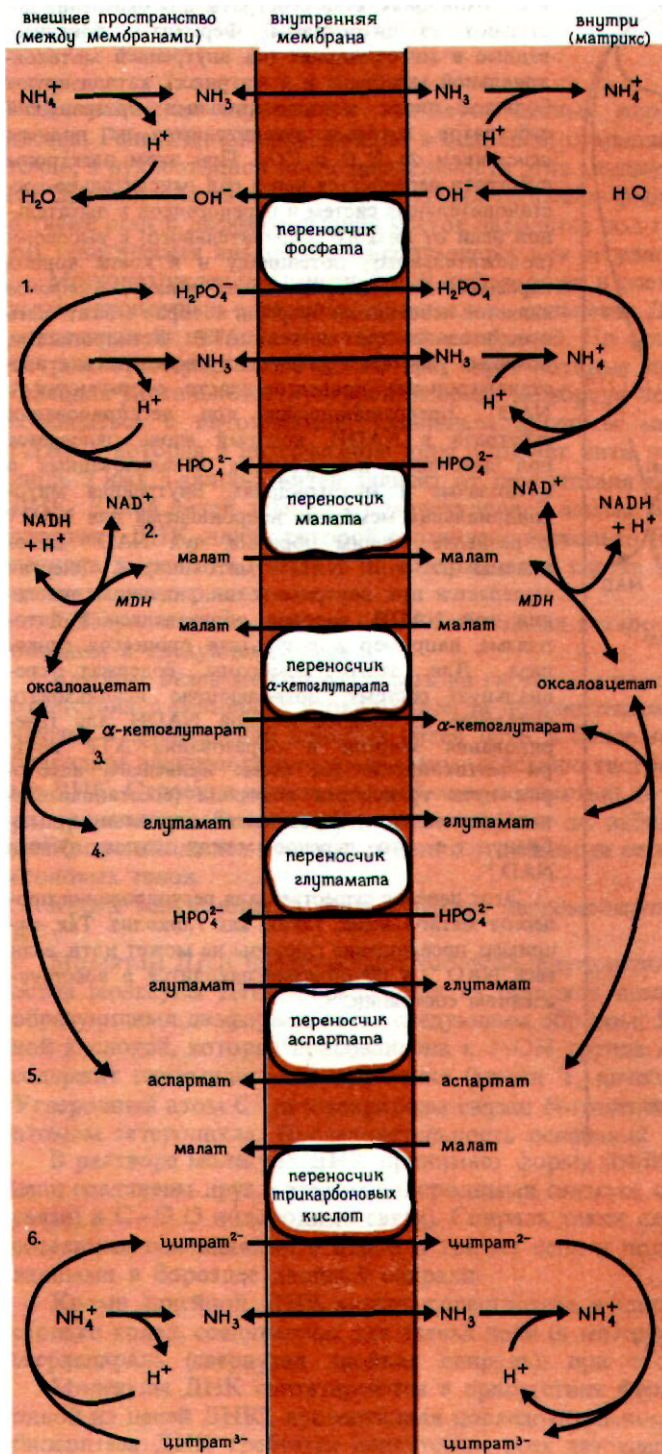
Ферментами, катализирующими такого рода реакцию, являются фосфотрансферазы - фосфоглицераткиназа, пируваткиназа, креатинкиназа. Ферменты, катализирующие перенос фосфата с одновременным превращением АТР в АДР, получают свое название по акцептору ~P (гексокиназа, глицеринкиназа и т.д.).

Кроме АТР источником ~P при его переносе на субстраты могут быть и другие нуклеозидтрифосфаты (УТР, GTP, СТР).



## ТРАНСПОРТ АНИОНОВ ЧЕРЕЗ ВНУТРЕННИЕ МИТОХОНДРИАЛЬНЫЕ МЕМБРАНЫ

1. **Транспорт фосфата.** Для того чтобы в митохондриях могло протекать фосфорилирование ADP, необходимо осуществить транспорт фосфата через внутреннюю митохондриальную мембрану. Этот процесс протекает с помощью специальной транспортной системы. Существуют две различные системы, способные независимо друг от друга переносить фосфат в митохондриальный матрикс. Фосфат может проникать в результате процессов, зависящих от мембранного градиента pH. В таком случае должен существовать электронейтральный переносчик, осуществляющий диффузию ионов  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  и их обмен на  $\text{OH}^-$ , либо одновременный транспорт  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  и  $\text{H}^+$  в одном направлении.



Вторая транспортная система осуществляет обменную диффузию фосфата на ионы дикарбоновых кислот, например малата и глутамата (см. стадии 2 и 4 на схеме), и не зависит от мембранного градиента pH.

Поскольку транспорт фосфата необходим для окислительного фосфорилирования, ингибирование транспорта блокирует образование АТФ.

2. **Транспорт малата.** Малат переносится в матрикс, обмениваясь на фосфат. Аналогичным образом осуществляется перенос сукцината, изомалата, итаконитата и D-тартрата.

3. **Транспорт α-кетоглутарата.** Это соединение проникает в мембрану в обмен на малат (перенос которого описан выше) и требует для своего транспорта присутствия как малата, так и фосфата. По сходному механизму осуществляется транспорт цис-аконитата, изоцитрата, L-тартрата и α-кетоадипата.

4. **Транспорт глутамата.** Глутамат переносится в обмен на фосфат.

5. **Транспорт аспартата.** Аспартат переносится в обмен на глутамат. Как в матриксе, так и вне мембраны, оксалоацетат и глутамат вступают в реакцию переаминирования с образованием α-кетоглутарата и аспартата. Оксалоацетат в свою очередь образуется в результате дегидрогенизации малата (с помощью малатдегидрогеназы - MDH). Поскольку внутренняя мембрана митохондрий непроницаема для оксалоацетата, его транспорт осуществляется непрямым путем - через промежуточное образование аспартата и его перенос.

6. **Транспорт цитрата.** Предварительно цитрат должен быть превращен из трехзарядного аниона в двухзарядный, который и подвергается переносу в обмен на некоторые дикарбоновые кислоты, например малат, который, как показано на схеме, переносится, согласно стадии 2, с участием фосфата. Таким образом, транспорт цитрата требует присутствия фосфата.

Хлорид, бромид, бикарбонат, сульфат, нитрат, фумарат и малеат не понижают в матриксе.

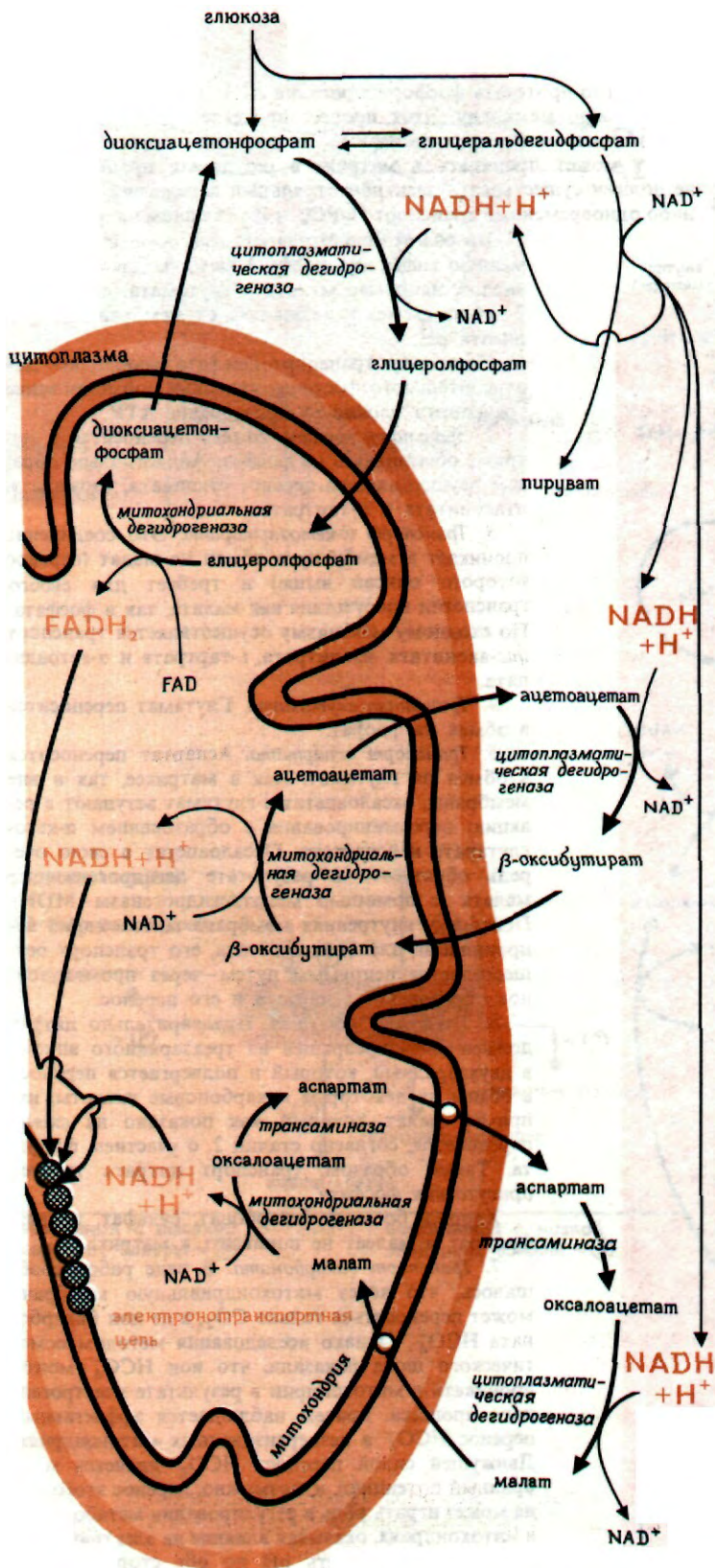
7. **Транспорт бикарбоната.** В ряде работ сообщалось, что через митохондриальную мембрану может переноситься только  $\text{CO}_2$ , а не ион бикарбоната  $\text{HCO}_3^-$ . Однако исследования методом осмотического шока показали, что ион  $\text{HCO}_3^-$  может проникать в митохондрии в результате электрогенного процесса, причем наблюдается эффективный перенос  $\text{HCO}_3^-$  в неэнергизованных митохондриях. Движущей силой переноса  $\text{HCO}_3^-$  является мембранный потенциал, и, возможно, перенос этого иона может играть роль в регулировании метаболизма в митохондриях, оказывая влияние на электрический потенциал и разность pH по обе стороны мембраны. Проницаемость митохондриальной мембраны как для  $\text{HCO}_3^-$ , так и для  $\text{CO}_2$  наводит на мысль, что эта система может служить своеобразным разобщителем в мембранах митохондрий.



## МЕХАНИЗМ ПЕРЕНОСА ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫХ ЭКВИВАЛЕНТОВ МЕЖДУ ЦИТОПЛАЗМОЙ И МИТОХОНДРИЯМИ

Энергия, необходимая клеткам млекопитающих для осуществления жизненных процессов, выделяется при окислении органических веществ. В клетках эукариот эти процессы локализованы в митохондриях, куда субстраты для окисления поступают из цитоплазмы. Ферменты, локализованные в митохондриях (на внутренней митохондриальной мембране и в матриксе), катализируют большое число последовательных превращений субстратов, которые заканчиваются их полным окислением до  $H_2O$  и  $CO_2$ . При этом электроны субстрата переносятся через ряд окислительно-восстановительных систем и переносчиков в дыхательной цепи от низкого (отрицательного) к высокому (положительному) потенциалу и в конце концов переходят на кислород. Такой поток электронов является источником энергии, которая может быть использована для синтеза АТФ. Дегидрогеназы, обычные участники различных биологических восстановительных процессов, часто сопрягаются с  $NAD^+$ , превращающимся при дегидрировании субстрата в  $NADH$ , который вновь окисляется под действием дегидрогеназ, локализованных в цитоплазме и митохондриях. Внутренняя митохондриальная мембрана непроницаема для  $NAD^+$  и разделяет, таким образом, пул  $NAD^+$  цитоплазмы от пула  $NAD^+$  митохондрии. Энергия выделяется при внутримитохондриальном окислении той  $NADH$ , которая образовалась в цитоплазме, например в результате процессов гликолиза. Для этого мембраны содержат специальную систему, позволяющую использовать окисление цитоплазматической  $NADH$  для генерирования энергии и образования АТФ внутри митохондрии. На схеме приведены некоторые пути транспорта водорода (восстановительного эквивалента) через митохондриальную мембрану, т.е. его перенос между двумя пулами  $NAD^+$ .

Этот перенос существен для регулирования процессов метаболизма, таких, как гликолиз. Так, например, превращение глюкозы не может идти, если весь  $NAD^+$  в цитоплазме находится в восстановленном состоянии.



# XII

## Ядро, генетическая информация и ее передача

*Генетическая информация* - это набор данных, определяющих структурные и функциональные свойства клеток. Генетическая информация в основном сохраняется в ядрах клеток в виде молекул ДНК (или, более точно, в нуклеотидной последовательности этих молекул) и используется клеткой, когда это необходимо. После деления клетки синтез структурных белков и ферментов, необходимых для функционирования клетки, а также рост и дифференциация клеток находятся под генетическим контролем. В дифференцированных клетках генетическая информация используется для регуляции метаболических процессов (индукция и репрессия).

Местонахождением генетической информации в клетке является ядерная ДНК, а в прокариотических клетках и автономных клеточных органеллах - кольцевая ДНК. Ядро - морфологически обособленная органелла, отделенная от цитоплазмы *ядерной мембраной*. По существу это двойная мембрана, образующая поры диаметром примерно от 30 до 100 нм, через которые при необходимости могут проникать макромолекулы. Обладая уникальной структурой, ядерная мембрана непосредственно участвует в репликации ДНК и может сообщаться с цитоплазмой. Основным ядерным материалом является *дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК)*, которая в интерфазном ядре образует нити различной толщины (в среднем 10 нм, но иногда всего лишь 2 нм). Толщина нитей зависит от присутствия или отсутствия белков, окружающих двойную спираль ДНК. Длина нитей зависит от молекулярной массы ДНК, одна хромосома с молекулярной массой до  $10^{12}$  содержит ДНК, длина которой составляет несколько сантиметров. Количество ядерной ДНК зависит от источника выделения (около 6 пг содержатся в клетке млекопитающих) и довольно постоянно в различных клетках данного вида.

*Рибонуклеиновые кислоты (РНК)* находятся в ядре, ядрышке и цитоплазме. Их размеры и функции будут описаны в следующей главе.

Ядерные белки можно разделить на гистоны и негистоновые белки. *Гистоны* делятся на пять групп в соответствии с размером, зарядом (всегда положительным) и аминокислотным составом. Их функции заключаются в превращении длинных нитей ДНК в более компактную структуру (сверхспираль). Это достигается благодаря электростатическому взаимодействию гистонов с отрицательно заряженными фосфатными группами ДНК. Строение *негистоновых белков* полностью не известно, по-видимому, они являются кислыми фосфорилированными белками. Они ответственны за избирательное и временное ингибирование транскрипции ДНК, происходящее при связывании с отдельными сегментами ДНК, а также за регуляцию транскрипции гистоновых генов.

Кроме макромолекул, ядра содержат низкомолекулярные соединения и ионы, главным образом  $Mg^{2+}$  и  $K^{+}$ .

*Молекулы ДНК* представляют собой полинуклеотиды, т.е. цепи, состоящие из мононуклеотидов. Главный остов молекулы ДНК формируется из остатков дезоксирибозы, чередующихся с фосфатными остатками, образующими диэфирные связи следующим образом: 5'-ОН группа дезоксирибозы этерифицирована фосфорной кислотой, которая присоединена к 3'-ОН группе дезоксирибозы соседнего нуклеотида. Молекула ДНК содержит пиримидиновые основания (тимин Т, цитозин С) и пуриновые основания (аденин А, гуанин Г). Углеродный атом  $C^1$  дезоксирибозы связан N-гликозидной связью с  $N^1$ -пиримидиновым или  $N^9$ -пуриновым атомом гетероцикла. Последовательность оснований специфична для каждой молекулы ДНК.

В растворе молекула ДНК принимает форму двойной спирали (согласно модели Уотсона и Крика). Две цепи соединены друг с другом водородными связями, образованными парами оснований А-Т (2 водородных связи) и С-Г (3 водородных связи). Спираль также стабилизирована гидрофобными взаимодействиями между соседними основаниями в одной и той же цепи и поддерживается молекулами основных белков, локализованными в бороздке двойной спирали.

Кроме линейной, ДНК может существовать в циклической форме, образуя либо одно кольцо, либо несколько колец, соединенных как звенья цепи (в митохондриях, бактериях, вирусах). В хромосомах образуется сверхспираль (свернутая двойная спираль), при этом достигается максимально плотная ее упаковка.

Молекулы ДНК синтезируются в присутствии фермента из дезоксирибонуклеотидов на матрице (т.е. на одной из цепей ДНК), нуклеотидная последовательность которой постепенно будет точно скопирована. Для биосинтеза ДНК требуется присутствие всех дезоксирибонуклеотидов (dTTP, dATP, dCTP, dGTP).

*Пиримидиновые нуклеотиды* образуются в результате длинной последовательности реакций, начинающихся с аспарагиновой кислоты и карбамоилфосфата.

*Пуриновые нуклеотиды* синтезируются поэтапно, исходя из молекулы  $\alpha$ -D-рибозо-5-фосфата. *Дезоксирибонуклеотиды* образуются восстановлением рибонуклеотидов на уровне рибонуклеотиддифосфатов (ADP, GDP, CDP, TDP). Восстановление рибозы в дезоксирибозу (например, превращение GDP в dGDP) катализируется белком тиоредоксином, окисленная форма которого регенерируется тиоредоксинредуктазой, функционирующей в присутствии NADPH.

*Репликация* (точное воспроизведение) ДНК - очень сложный процесс, для которого, кроме четырех дезоксирибонуклеотидтрифосфатов, необходимо присутствие ДНК-полимеразы, РНК-полимеразы, ДНК-лигазы и так называемых ДНК-связывающих белков, которые фиксируют односторонние участки ДНК. На одной из цепей ДНК (матрице) под действием РНК-полимеразы происходит образование коротких фрагментов РНК (50-100 оснований), которые служат праймером для синтеза фрагментов синтезируемой ДНК (синтез начинается с 3'-ОН-конца РНК под действием полимеразы). После деградации РНК образованные сегменты ДНК связываются между собой под действием ДНК-лигазы. В бактериях роль ДНК-полимеразы I (фермент Корнберга), по-видимому, ограничена *репарацией цепей ДНК*.

Таким образом, процесс репликации ДНК является полуконсервативным, поскольку во вновь образованной структуре двойной спирали только одна из цепей ДНК синтезируется заново. Этот механизм лежит в основе *передачи генетической информации* от одного поколения клеток к следующему.

В течение жизни клетки генетическая информация *транскрибируется* с молекул ДНК на РНК. Процесс транскрипции происходит в ядре. Образование молекул РНК катализируется РНК-полимеразой на основе той информации, которая содержится в последовательности оснований в ДНК. Молекула РНК образуется наращиванием нуклеотидной цепи в направлении 5'→3' в присутствии четырех рибонуклеотидов (ATP, GTP, CTP, UTP) и матрицы (кодирующей цепи ДНК). Для транскрипции необходимы обе цепи ДНК, однако в данный момент только одна из них служит в качестве матрицы. Механизм выбора одной из цепей для транскрипции пока неизвестен.

РНК-содержащие *вирусы*, у которых нет ДНК, могут размножаться в клетке хозяина с помощью РНК-репликазы, синтез которой они индуцируют в этой клетке.

Молекулы РНК, синтезированные на ДНК-матрице, - это в основном тРНК, рРНК и мРНК, служащие для передачи генетической информации из ядра в цитоплазму.

*Генетическая информация закодирована*, и код служит для передачи информации, хранящейся в ДНК, в аминокислотную последовательность всех клеточных белков. Код основан на триплетных основаниях; каждый триплетный кодон в ДНК соответствует определенной аминокислоте. Генетический код универсален и вырожден. Вырожденность кода во многих случаях затрагивает лишь третье основание. Кроме триплетов, кодирующих индивидуальные аминокислоты, имеются и такие, которые служат в качестве стоп-сигналов в пептидном синтезе (терминирующие кодоны).

*Объем генетической информации* зависит от числа и размера молекул ДНК в ядрах. Клетки могут полностью использовать доступную генетическую информацию только до стадии бластулы. С этого времени, по мере дифференциации, способность к утилизации генетической информации понижается. Полностью дифференцированные клетки используют только небольшую часть генетической информации, хранящейся в ядре.

Дефекты в передаче генетической информации часто вызываются мутациями или специфическими ингибиторами, называемыми цитостатиками. *Мутация* - это процесс, в котором одно из оснований в цепи ДНК заменяется на другое основание, либо существующее в природе, либо полученное искусственно. Если заменено только одно основание, говорят о точечной мутации. Точечные мутации обычно не сильно отражаются на смысле генетической информации и не летальны. Однако, если одно или более оснований выщепляется из полинуклеотидной цепи ДНК (делеция) или если появляются новые основания (включение), могут произойти серьезные нарушения в выражении наследственной генетической информации, и такие мутации обычно летальны.

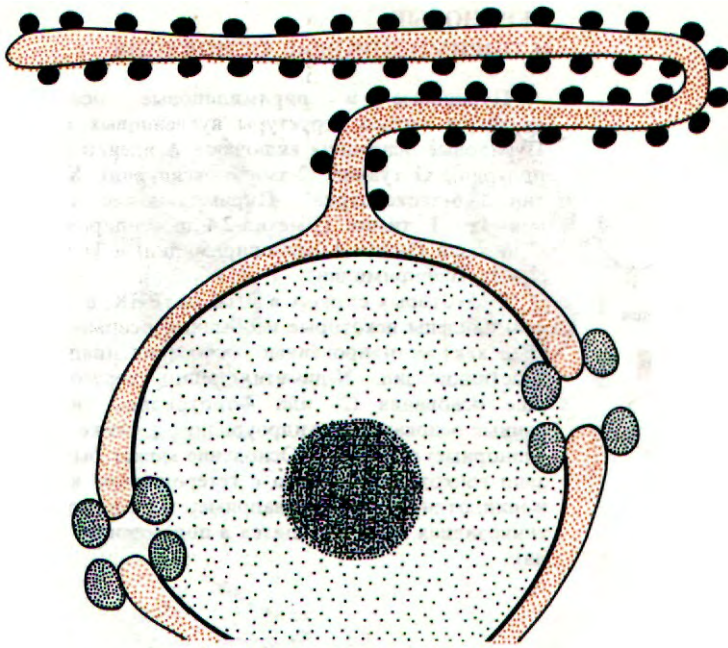
*Мутагенами* называются факторы, вызывающие мутации. Важнейшими химическими мутагенами являются азотистая кислота и алкилирующие агенты. Среди физических факторов особенно мутагенны УФ-излучение и гамма-радиация.

Другие нарушения в выражении генетической информации вызываются *антибиотиками*. Антибиотики могут иметь различную структуру и вызывать ингибирование одного из процессов выражения генетической информации: так, репликация молекулы ДНК ингибируется стрептомицином и налидиксовой кислотой, в то время как синтез мРНК блокируется актиномицином D.

Ошибки в последовательности ДНК, которые произошли либо при репликации, либо под действием мутагенов, могут быть ликвидированы согласованным действием ДНК-полимеразы, эндодезоксирибонуклеазы и ДНК-лигазы. Ошибки в одной из цепей репарируются по правильной последовательности комплементарной цепи.

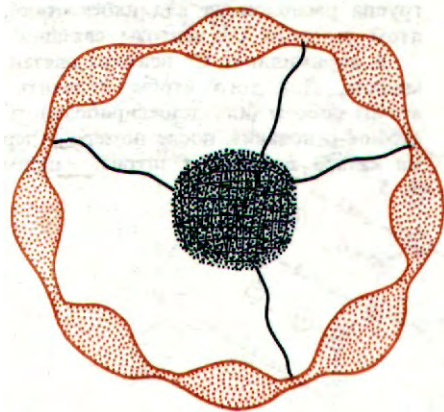
ДНК-лигаза может связывать два конца двух цепей ДНК или терминировать биосинтез кольцевой ДНК.





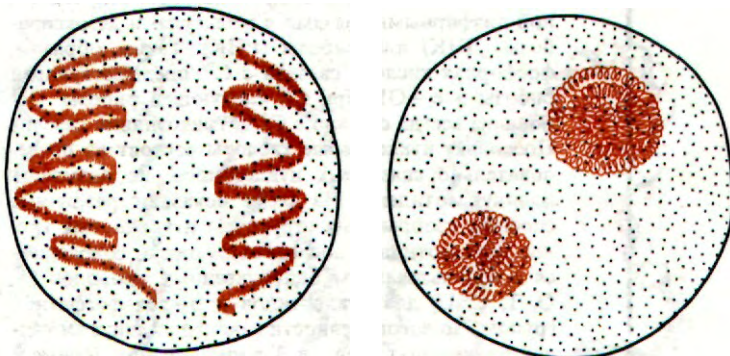
## ЯДРО

Клеточное ядро окружено ядерной мембраной. С помощью электронного микроскопа видно, что внутренняя часть ядра темнее, а внешняя светлее. Внутренняя часть обычно занята хроматином. Две мембраны окружают так называемое перинуклеарное пространство, которое может контактировать с внутриклеточным веществом. Ядро наполнено хроматином и белками. Связь ядра с цитоплазмой осуществляется через отверстия в ядерной мембране, называемые порами.



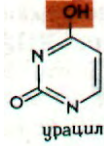
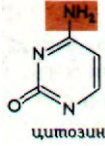
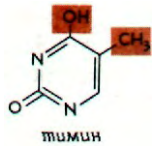
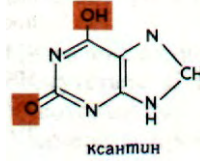
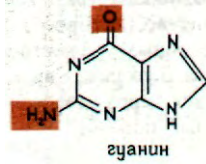
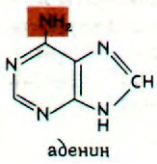
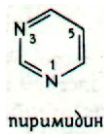
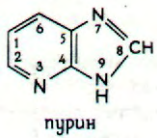
## ПОРЫ В ЯДЕРНОЙ МЕМБРАНЕ

Размеры пор меняются в зависимости от типа клеток от 30 до 100 нм. Их число также различно (35-65 на  $\mu\text{м}^2$ ). При рассмотрении схемы видно (вид сверху), что поры в мембране окружены глобулярными образованиями, связанными нитями с одиночными гранулами. Хотя на электрономикроскопической картине поры кажутся пустыми, их различная проницаемость для разных компонентов показывает, что это не так. Отверстия достаточно велики для прохода высокомолекулярной РНК из ядра в цитоплазму, но, по-видимому, они препятствуют простой диффузии низкомолекулярных компонентов, например аминокислот, из цитоплазмы в ядро, несмотря на то, что в том же направлении возможен транспорт белков.



## РАЗВЕРТЫВАНИЕ ХРОСОМ ПОСЛЕ ДЕЛЕНИЯ КЛЕТКИ

Развертывание хромосом начинается в телофазе. Этот процесс характеризуется увеличением длины и развертыванием сверхспирали, что приводит к формированию волокон хроматина. Недоступная на стадии компактной хромосомы генетическая информация становится доступной либо для синтеза новой молекулы ДНК (репликация), либо для синтеза РНК (транскрипция). Ядро содержит отдельную структуру - ядрышко, в котором процессы транскрипции протекают наиболее интенсивно. При митозе ядерная мембрана исчезает, а по его окончании (в конце телофазы) ядро вновь становится окруженным мембраной.



## ПУРИНОВЫЕ И ПИРИМИДИНОВЫЕ ОСНОВАНИЯ

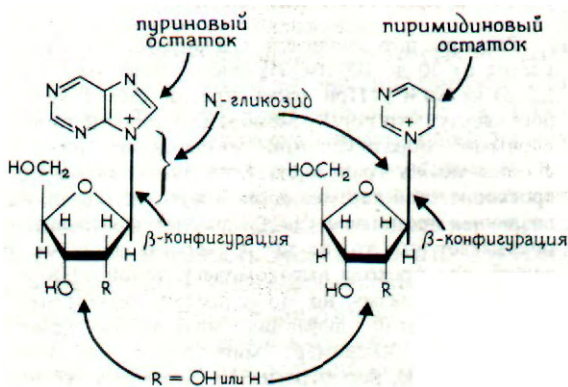
Пуриновые и пиримидиновые основания являются частью структуры нуклеиновых кислот. Пуриновые основания включают А аденин (6-аминопури́н), Г гуанин (2-амино-оксипури́н), Х ксантин (2,6-диоксипури́н). Пиримидиновые основания - это Т тимин (5-метил-2,4-диоксипиримидин), С цитозин (2-окси-4-аминопиримидин) и У урацил (2,4-диоксипиримидин).

В некоторых случаях в РНК (в тРНК, в частности) найдены некоторые необычные основания, такие, как метилированные основания (например, 5-метилцитозин, N-диметилгуанин), серусодержащие основания (2- или 4-тиоуридин), гидрированные основания (дигидроуридин), а также другие (минорные) основания. Основание может быть связано гликозидной связью с гетероциклом в положении, отличном от N<sup>1</sup> (например, в псевдоуридине гликозидная связь находится в положении 5 урацила).

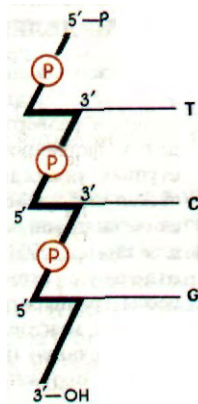
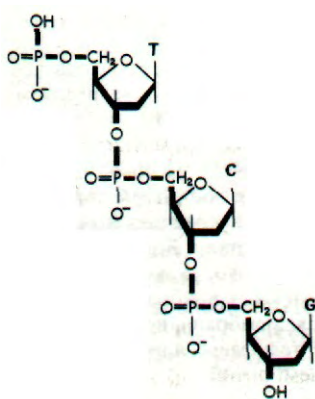
## N-ГЛИКОЗИДНАЯ СВЯЗЬ В НУКЛЕОТИДАХ

имеет β-конфигурацию (в исходном сахаре ОН-группа расположена над плоскостью). В пуринах атом углерода C<sup>1</sup> пентозы связан с N<sup>9</sup> пурина.

В пиримидинах C<sup>1</sup> пентозы связан с N<sup>1</sup> пиримидина. Для того чтобы отличить углеродные атомы рибозы (или дезоксирибозы) от углеродных атомов основания, после номера углеродного атома сахара добавляют штрих, например C<sup>3'</sup> или 3', 5'.



## СТРУКТУРА НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ



В основе структуры нуклеиновых кислот лежит каркас, образованный фосфорной кислотой, связанной диэфирными связями с молекулами дезоксирибозы (ДНК) или рибозы (РНК). Таким образом, фосфорная кислота связана с C<sup>3'</sup> предшествующей рибозы и с -ОН при C<sup>5'</sup> следующей рибозы. Основание всегда связано с C<sup>1</sup> N-гликозидной связью. Поскольку нуклеиновые кислоты состоят из последовательно связанных нуклеотидов, их называют полинуклеотидами. На схеме показаны различные способы изображения структуры нуклеиновых кислот. Нуклеотидная последовательность сокращается с использованием однобуквенных символов (А, G, Т, С, U) и р- для фосфатной группы. По договоренности 5'-конец полинуклеотидной цепи пишут слева, а 3'-конец-справа. Пример: рТрСрG или рUрG.



## СТРУКТУРА МОЛЕКУЛЫ ДНК

Согласно модели Уотсона и Крика (1953 г.), молекула ДНК состоит из двух правозакрученных вокруг общей оси спирали. Направление фосфодиэфирных связей ( $3' \rightarrow 5'$ ) в двух цепях антипараллельно. Пуриновые и пиримидиновые основания направлены внутрь двойной спирали и образуют пары таким образом, что А находится против Т и Г против С. Пары оснований связаны водородными связями и расположены перпендикулярно длинной оси молекулы. Основания упакованы очень плотно и не контактируют с водой. Вода взаимодействует с гидрофильной частью молекулы - с сахарными остатками и с отрицательно заряженными вторичными фосфатными группами. В зависимости от степени гидратации молекулы ДНК могут существовать в формах А и В. А-форма (кристаллическая I) существует при содержании воды не выше 40%. Образование В-формы (паракристаллическая II) наблюдается при содержании воды более 40%. Эти две формы отличаются числом нуклеотидов на один виток и структурой.

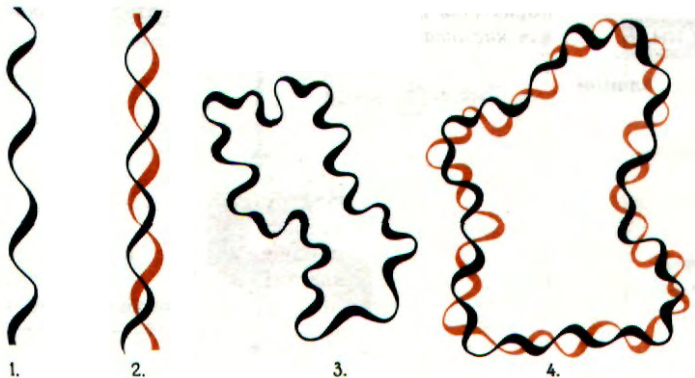
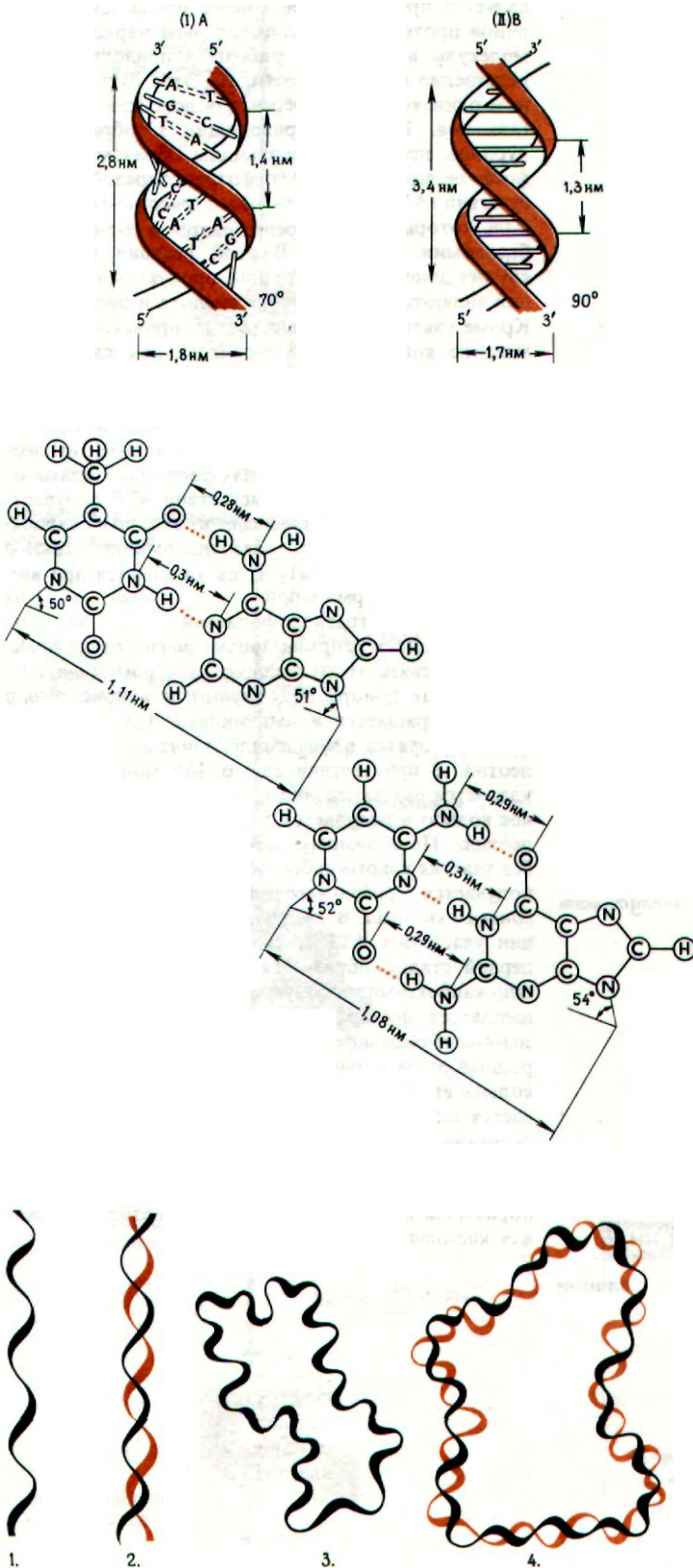
В структуре В-формы существуют малая и большая бороздки. Предполагается, что *in vivo* преобладает В-форма ДНК.

### СВЯЗИ А-Т И Г-С

На схеме изображено расположение в пространстве нуклеотидных пар и обозначены расстояния между атомами, образующими водородную связь. Аденин связан с тиминем двумя водородными связями, а гуанин с цитозином - тремя водородными связями. Пара гуанин-цитозин несколько прочнее пары аденин-тимин и образует более компактную структуру. Нуклеиновые кислоты с более высоким содержанием Г-С менее чувствительны к денатурации, например к действию тепла. Они имеют более высокую температуру плавления  $T_m$  (температура, при которой две цепи ДНК расходятся). В равной мере они более устойчивы к другим денатурирующим агентам, так же, как к изменению рН, понижению диэлектрической проницаемости среды, спиртам, высоким концентрациям мочевины, амидов и т.д.

### ПРИМЕРЫ ВОЗМОЖНЫХ СТРУКТУР ДНК

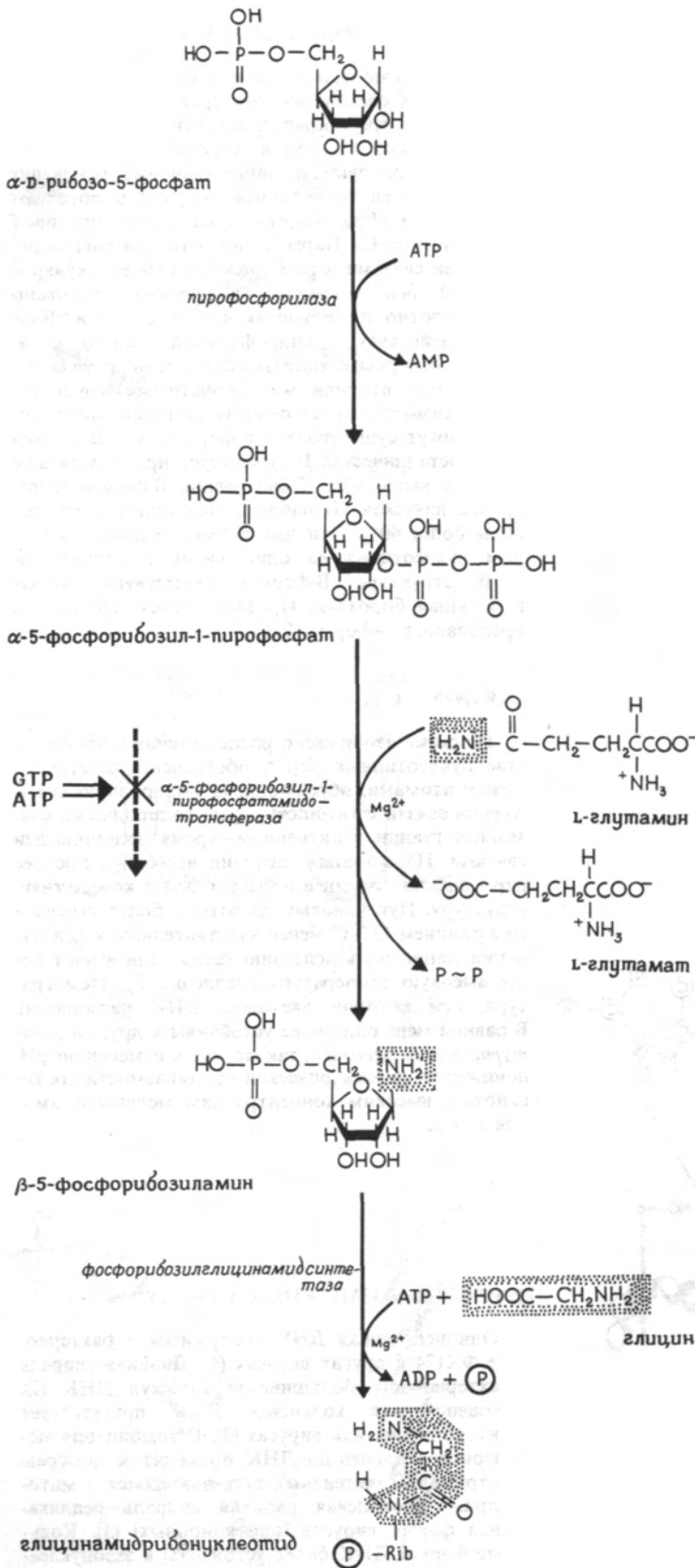
Одноцепочечная ДНК содержится в бактериофаге фХ174 и других вирусах (1). Двойная спираль характерна для большинства молекул ДНК (2). Одноцепочечная кольцевая ДНК присутствует в митохондриях или вирусах (3). Рекомбинация мономерных (кольцевых) ДНК приводит к димерам или тримерам (катенаны), встречающимся в митохондриях. Кольцевая двойная спираль - репликативная форма вирусов (инфекционных) (4). Кольцевые формы ДНК более устойчивы к экзонуклеазам, поскольку они не имеют свободной  $3'$ -ОН-группы.

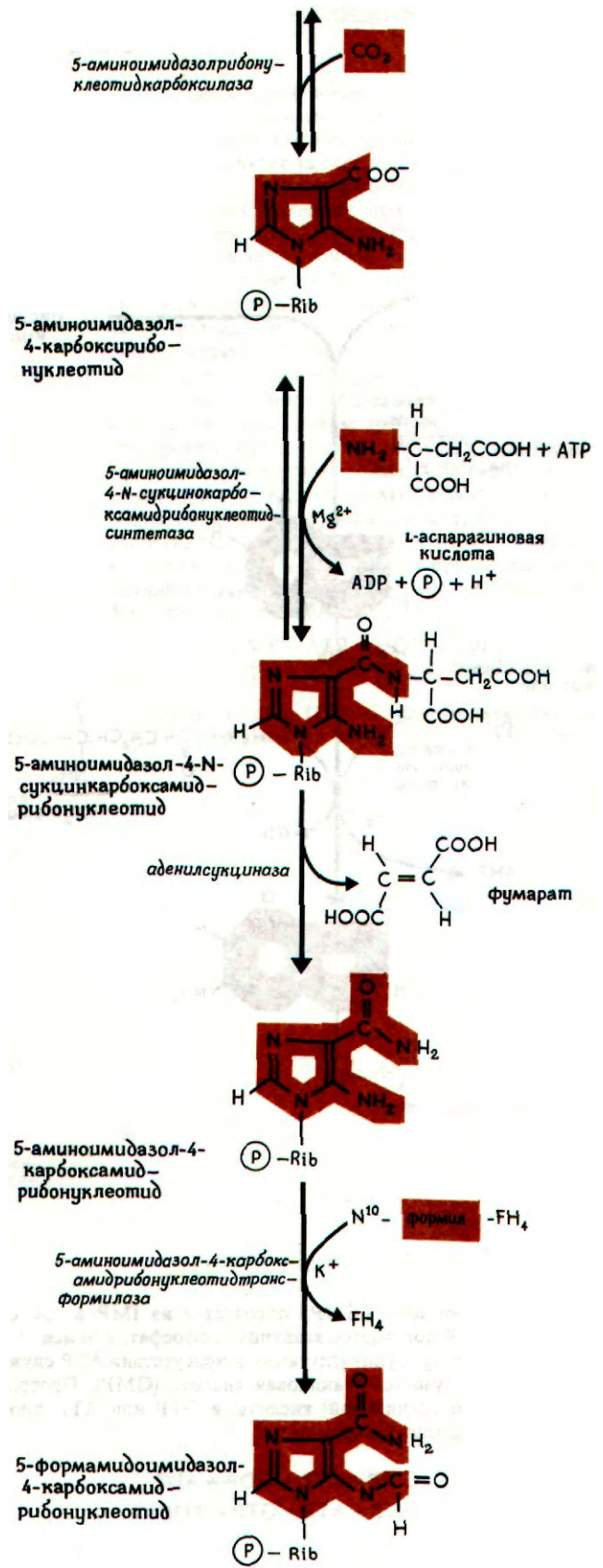
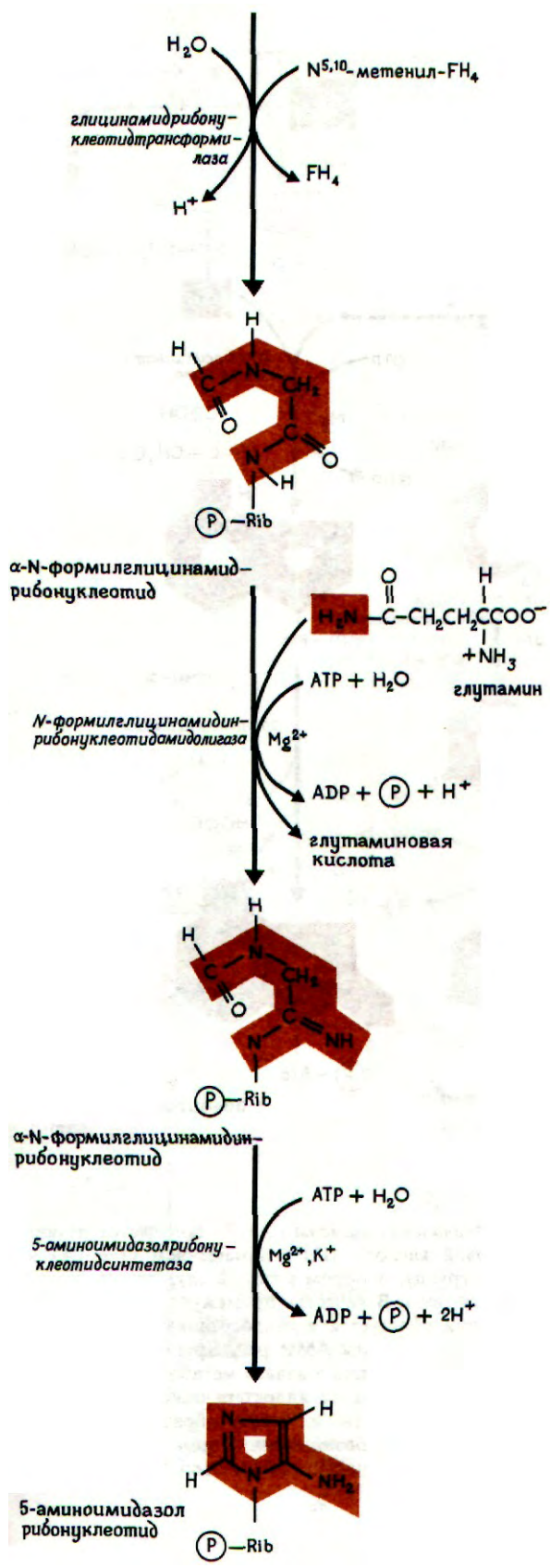


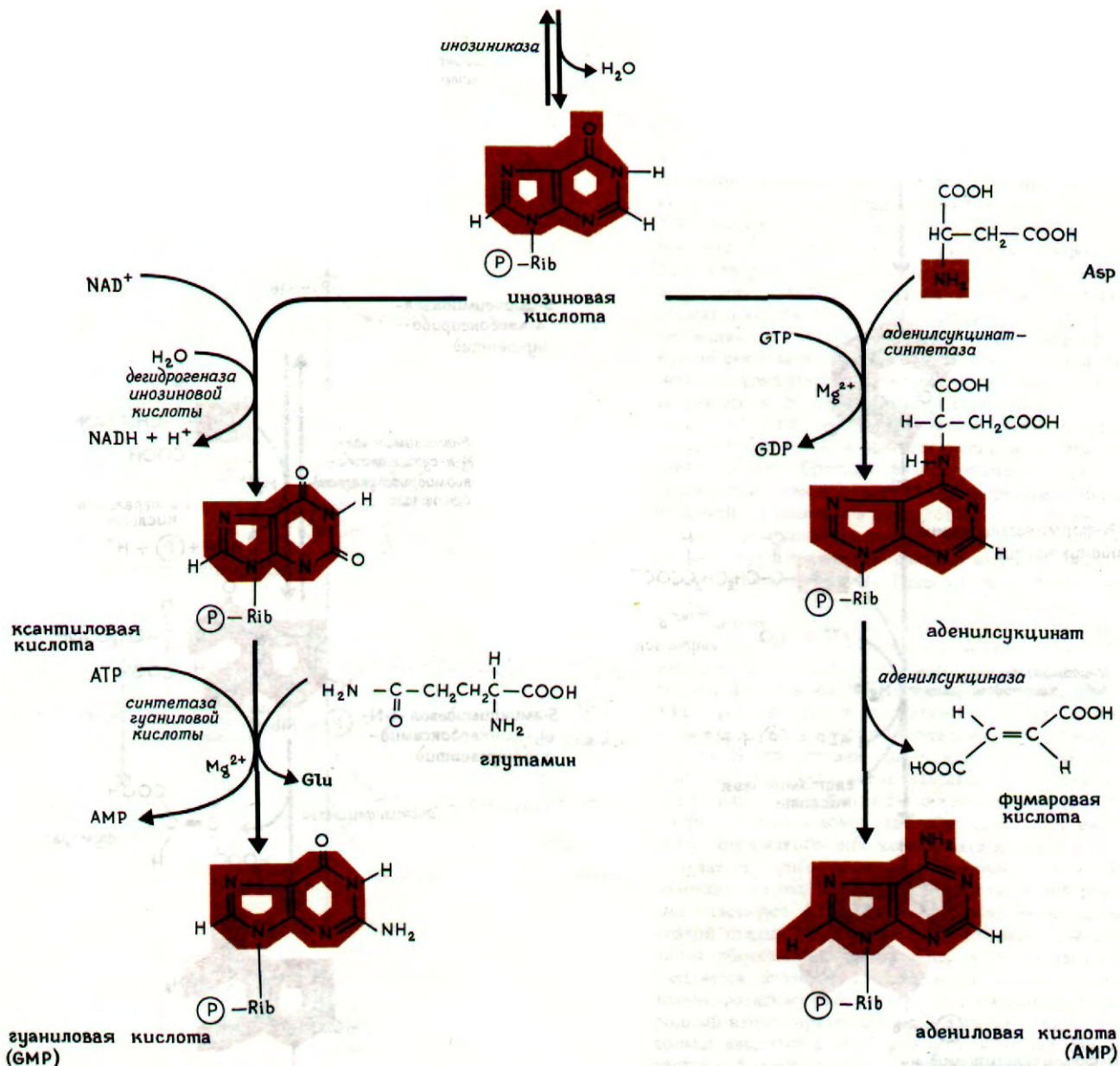


## БИОСИНТЕЗ ПУРИНОВЫХ НУКЛЕОТИДОВ

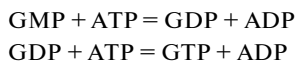
Начинается с *D-рибозо-5-фосфата*, который является продуктом пентозного цикла. Синтез пуринов протекает последовательным наращиванием молекулы на  $C^1$ -атоме рибозы и приводит непосредственно к рибонуклеотидам. Этот путь в основном одинаков и характерен для всех животных организмов. Реакции, приводящие к образованию пуринов, протекают следующим образом: Rib-5-P фосфорилируется пирофосфотрансферазой в присутствии ATP, давая  $\alpha$ -5-фосфорибозил-1-пирофосфат, который затем превращается в  $\alpha$ -5-фосфорибозиламин (PR-NH<sub>2</sub>). В этой реакции глутамин служит донором NH<sub>2</sub>-группы, продуктами же реакции являются глутаминовая кислота и пирофосфат. Кроме связывания аминогруппы, происходит и изменение конфигурации ( $\alpha$ -гликозидная связь превращается в  $\beta$ -гликозидную). Не исключена возможность, что благодаря этому факту стадия является ключевой в синтезе пуринов и ингибируется за счет обратной связи пуриновыми нуклеотидами, получающимися из фосфорибозиламина. Реакцией с глицином в присутствии ATP получается *глицинамидрибонуклеотид*, в котором карбоксильная группа глицина связана амидной связью с аминогруппой PR-NH<sub>2</sub>. Цепь удлиняется при введении формильной группы из N<sup>5,10</sup>-метилтетрагидрофолиевой кислоты с образованием *формилглицинамидрибонуклеотида*. Амидная связь этого соединения с помощью глутамин, как донора NH<sub>2</sub>-группы, и в присутствии ATP превращается в амидиновую группу, и при этом образуется  $\alpha$ N-формилглицинамидрибонуклеотид. В присутствии еще одной молекулы ATP удаляется молекула воды, замыкается имидазольное кольцо и получается 5-аминоимидазолрибонуклеотид. По-видимому, введение CO<sub>2</sub> протекает без участия какого-либо кофермента и в результате получается *рибонуклеотид-5-аминоимидазол-4-карбоновая кислота*. В следующей двустадийной реакции участвуют ATP и аспарагиновая кислота, на первой стадии образуется 5-аминоимидазол-4-сукцинокарбоксамидрибонуклеотид, затем от него отщепляется фумарат и получается *5-аминоимидазол-4-карбоксамидрибонуклеотид*. Последний углеродный атом пиримидинового остатка пуринового кольца вводится в виде формила, который связывается с 5-аминогруппой. В этой реакции донором формила служит N<sup>10</sup>-формилтетрагидрофолиевая кислота. Образование пуринового кольца завершается циклизацией с отщеплением воды. Так образуется первый пуриновый нуклеотид, *инозиновая кислота (IMP)*.







Гуаниловая кислота (GMP) образуется из IMP в две стадии. Окислением IMP получается ксантинмонофосфат, а заменой кислорода C=O на NH<sub>2</sub>-группу (глутамин в присутствии ATP служит донором NH<sub>2</sub>) получается гуаниловая кислота (GMP). Превращение гуаниловой (или адениловой) кислоты в GTP или ATP протекает двустадийным фосфорилированием:



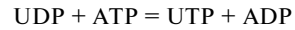
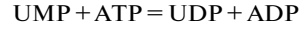
Адениловая кислота (AMP) получается из инозиновой кислоты (IMP) замещением O в CO на NH<sub>2</sub>-группу, донором которой служит аспарагиновая кислота. В качестве промежуточного продукта реакции образуется аденилосукцинат.

Получающаяся AMP регулирует биосинтез пуриновых оснований в начале метаболического пути, выступая в качестве аллостерического ингибитора аминотрансферазы и, таким образом, ингибируя синтез фосфорибозиламина. Кроме того, AMP регулирует превращение инозиновой кислоты в аденилосукцинат.

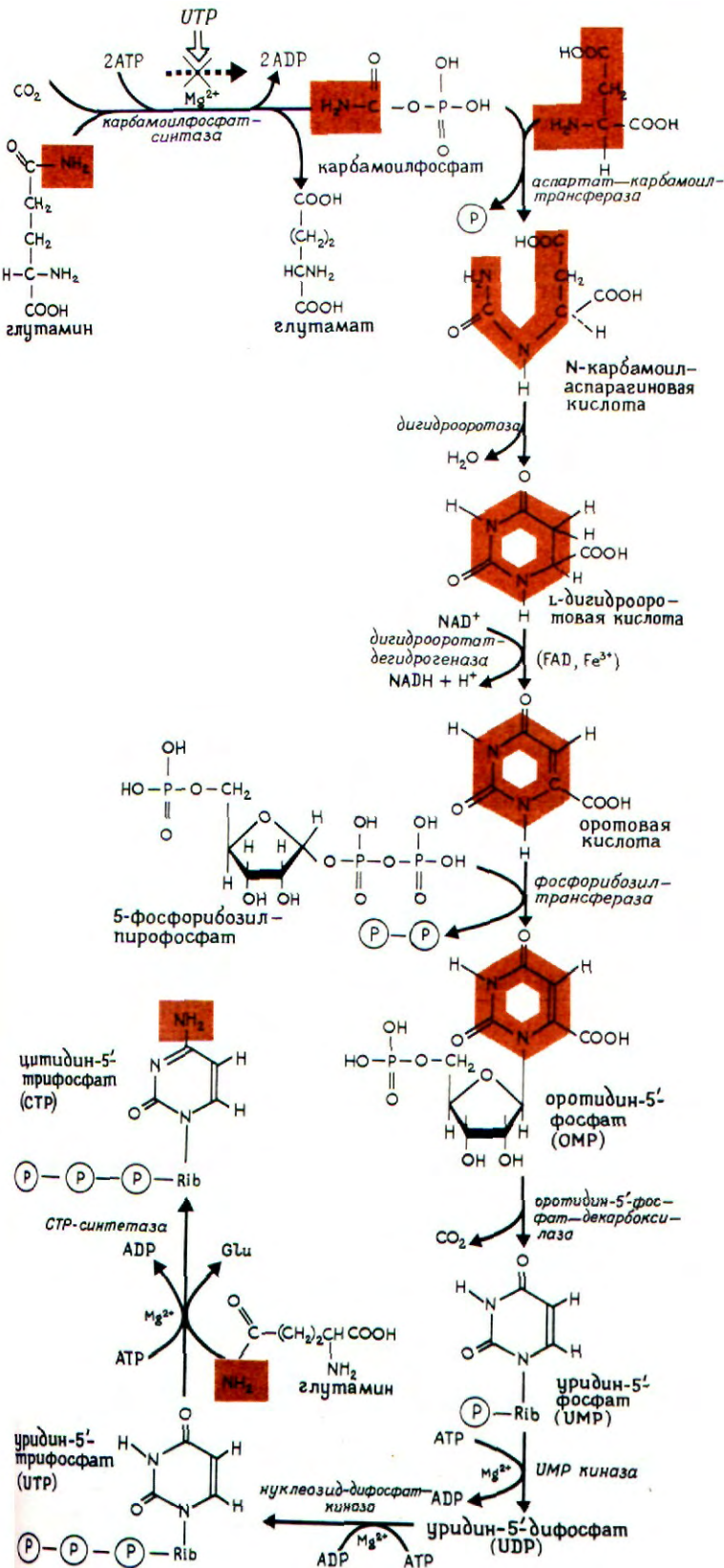


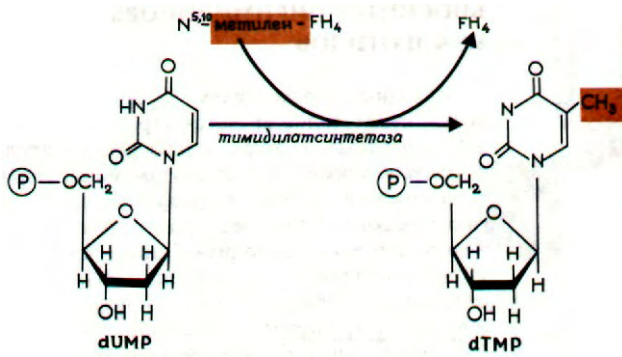
## БИОСИНТЕЗ ПИРИМИДИНОВЫХ НУКЛЕОТИДОВ

Исходным соединением в синтезе пиримидиновых нуклеотидов является карбамоилфосфат. Во всех животных клетках аминогруппа карбамоилфосфата возникает за счет глутамина в реакции, катализируемой карбамоилфосфатсинтазой. Аналогично реакция протекает при синтезе цитруллина в митохондриях гепатоцита. Однако для животных клеток в отличие от клеток гепатоцита для работы синтазы не требуется N-ацетил-L-глутамат в качестве аллостерического эффектора. Карбамоилфосфат, образующийся в этой реакции, конденсируется далее с аспарагиновой кислотой, давая карбамоил-аспарагиновую кислоту. Под действием дигидрооротазы это соединение циклизуется в дигидрооротовую кислоту, окислением которой (дигидрооротат-дегидрогеназой) получается оротовая кислота, превращающаяся в свою очередь в оротидин-5'-Р (оротидиловую кислоту - OMP) в реакции, катализируемой OMP-пирофосфаттрансферазой. При декарбоксилировании OMP образуется уридиловая кислота (UMP). UMP является предшественником цитидиновых нуклеотидов, но прежде она должна быть фосфорилирована до UTP:



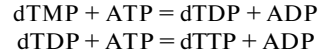
И только потом UTP может быть превращен в CTP. Глутамин служит донором  $\text{NH}_2$ -группы.



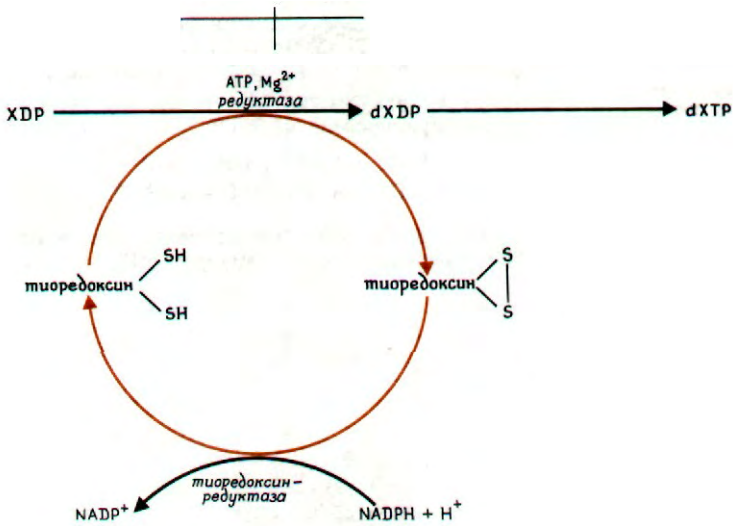


## БИОСИНТЕЗ ТИМИДИНОВЫХ НУКЛЕОТИДОВ

Начинается с dUMP, из которого под действием тимидилатсинтетазы (в присутствии кофермента  $\text{N}^{5,10}$ -метилентетрагидрофолиевой кислоты) образуется dTMP. Этот кофермент может выступать в качестве донора как метила, так и водорода. Конечным продуктом превращения кофермента является дигидрофолиевая кислота ( $\text{FH}_2$ ). Непосредственный предшественник в биосинтезе ДНК, dTTP, образуется в двухстадийной реакции:

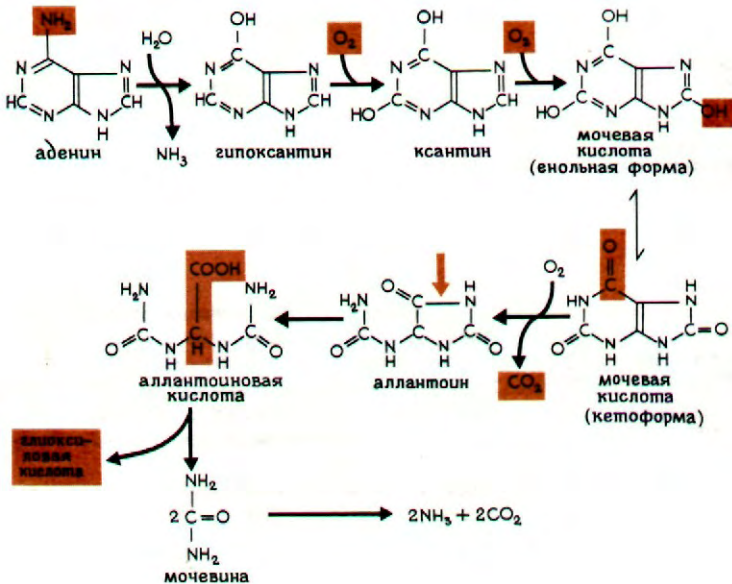
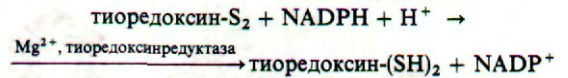
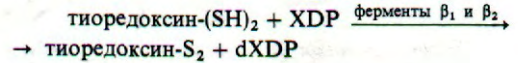


Эти реакции катализируются фосфотрансферазами.



## БИОСИНТЕЗ ДЕЗОКСИРИБОНУКЛЕОТИДОВ

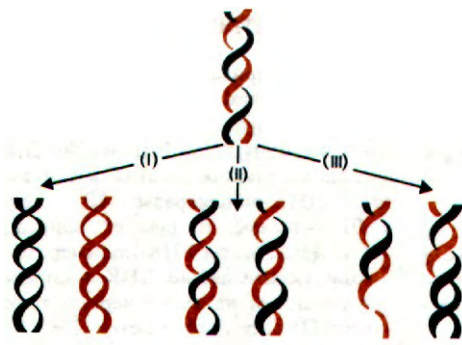
Дезоксирибонуклеотиды образуются из рибонуклеотидов на уровне нуклеотидфосфатов восстановлением рибозы до 2-дезоксирибозы. Донором электронов служит устойчивый к нагреванию белок, *тиоредоксин*, содержащий в молекуле две SH-группы. Окисленная форма тиоредоксина (>S<sub>2</sub>) восстанавливается тиоредоксинредуктазой в присутствии NADPH. Реакция протекает в две стадии:



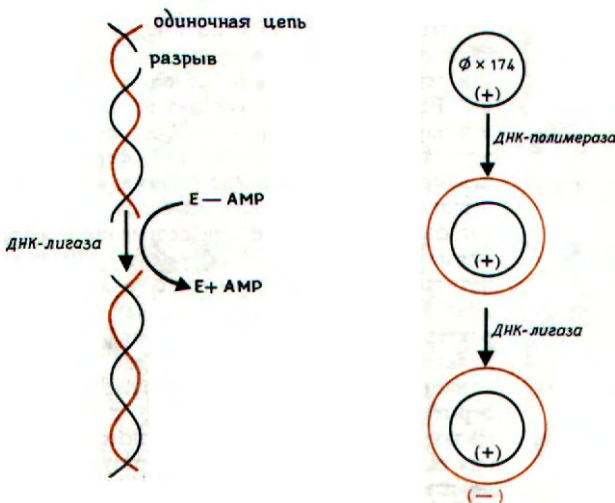
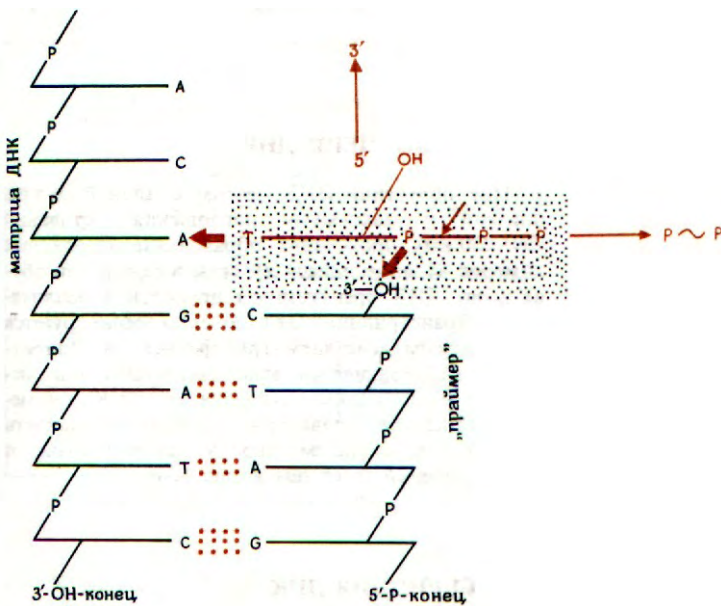
## ДЕГРАДАЦИЯ МОНОНУКЛЕОТИДОВ

Мононуклеотиды, получающиеся из нуклеиновых кислот в реакциях, катализируемых нуклеазами, подвергаются дальнейшему ферментативному гидролизу, конечным продуктом которого являются пуриновые и пиримидиновые основания.

Пурины расщепляются до *мочевой кислоты*, которая выводится из организма. Этот процесс типичен для млекопитающих (в том числе для приматов и человека), птиц и пресмыкающихся. Для других млекопитающих и рептилий конечным продуктом деградации пуринов является *аллантоин*. В организме рыб аллантоин расщепляется до *мочевины*. Пиримидины обычно расщепляются до мочевины и аммиака.



I. Консервативная II. Полуконсервативная III. Дисперсивная



## ТЕОРЕТИЧЕСКИ ВОЗМОЖНЫЕ ПУТИ РЕДУПЛИКАЦИИ

Полуконсервативная репликация (II) была продемонстрирована в опытах Мезельсона и Сталя (с использованием  $^{14}\text{N}$  и  $^{15}\text{N}$ , дающих «легкую» и «тяжелую» цепь ДНК соответственно).

I. При консервативной репликации родительская ДНК дублируется без разделения цепей и образуются тяжелая ДНК (на схеме показана коричневым цветом) и легкая (черным).

II. При полуконсервативном механизме цепи родительской ДНК разделяются и на каждой тяжелой цепи синтезируется легкая цепь.

III. В дисперсивной репликации цепи родительской ДНК расщепляются в нескольких местах и получающиеся части ДНК дают начало образованию новой ДНК.

Из экспериментов с  $^{14}\text{N}$  и  $^{15}\text{N}$  вытекает, что только полуконсервативная репликация приводит к образованию молекулы ДНК, поскольку ее плотность после центрифугирования в растворе CsCl соответствует средней величине между плотностями тяжелой и легкой цепей ДНК.

## ДНК-ПОЛИМЕРАЗА

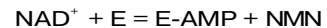
Этот фермент катализирует синтез связи между нуклеотидами в молекуле ДНК. Его функция проявляется в том случае, если имеется (а) матричная ДНК, (б) необходимые дезоксирибонуклеотидтрифосфаты и (в) праймер.

Фермент катализирует связывание мононуклеотида со свободной 3'-ОН концевой группой цепи ДНК, и, таким образом, синтез происходит в направлении  $5' \rightarrow 3'$ . Вновь полученная цепь антипараллельна по отношению к матрице. Активный центр ДНК-полимеразы (затененная область на схеме) фиксирует 3'-ОН-конец вновь синтезированной цепи ДНК и связывает следующий нуклеотидтрифосфат в подходящем пространственном расположении друг по отношению к другу. Такая ориентация обеспечивает надежное связывание любого следующего нуклеотидтрифосфата и направление синтезируемой цепи ( $5' \rightarrow 3'$ ). Ошибка включения основания, не комплементарного основанию матрицы, составляет менее  $10^{-4}$ .

## ДНК-ЛИГАЗА E. coli

Это фермент, катализирующий образование связи между двумя концами ДНК. Реакция протекает в две стадии.

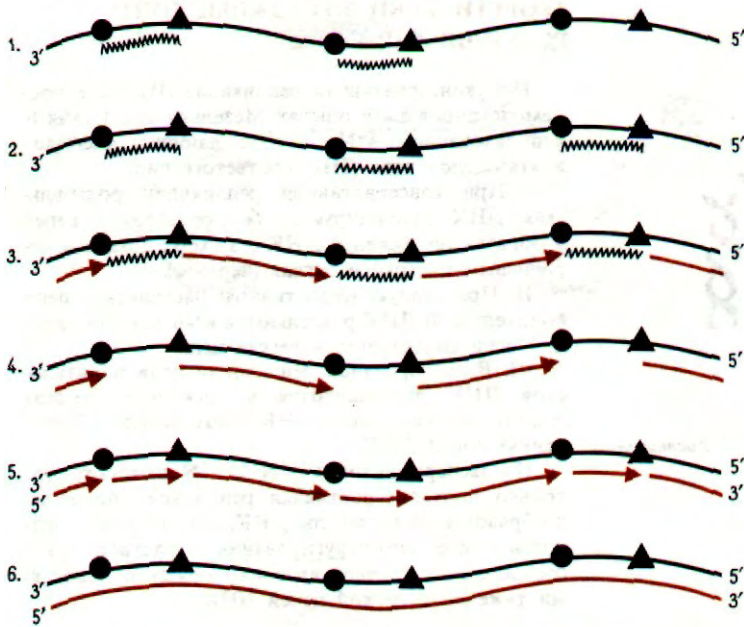
1. Фермент (E) реагирует с  $\text{NAD}^+$ , который является донором остатка адениловой кислоты



2. 5'-ОН- и 3'-ОН-концы молекулы ДНК реагируют с E-AMP, образуя ковалентную связь ( $5' \rightarrow 3'$ ):  $\text{E-AMP} + 5'\text{-ОН-конец} + 3'\text{-ОН-конец} \rightarrow 5' \rightarrow 3' + \text{E} + \text{AMP}$

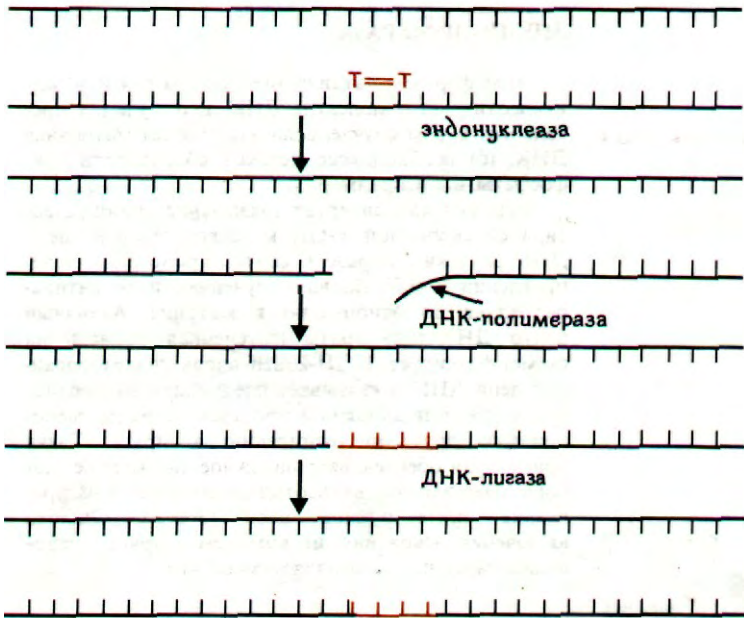
Эти реакции могут приводить либо к замыканию циклической молекулы ДНК, либо к связыванию двух соседних нуклеотидов цепи, находящихся в комплементарном взаимодействии с матрицей.





## РЕПЛИКАЦИЯ ДНК IN VIVO

Из экспериментов Оказаки следует, что *in vivo* новая цепь ДНК образуется из ряда небольших фрагментов, которые последовательно собираются в одну цепь. Репликация ДНК основана на последовательном участии в синтезе трех ферментов, ДНК-полимеразы III, эндорибонуклеазы и ДНК-лигазы. В начале происходит разделение нитей ДНК, затем РНК-полимераза связывается (1) с кодирующей цепью ДНК в определенном месте, обозначенном на схеме черной точкой, и синтезируется (2) короткий участок РНК (50-100 рибонуклеотидов) до места, обозначенного черным треугольником. Образование (3) этого праймера служит началом синтеза фрагментов ДНК (фрагментов Оказаки) под действием ДНК-полимеразы III. Затем происходит (4) удаление праймеров с помощью эндонуклеазы. Синтезируются (5) пропущенные участки ДНК. ДНК-лигаза катализирует (6) объединение всех фрагментов ДНК в единую цепь (согласно Оказаки и сотр., 1973).

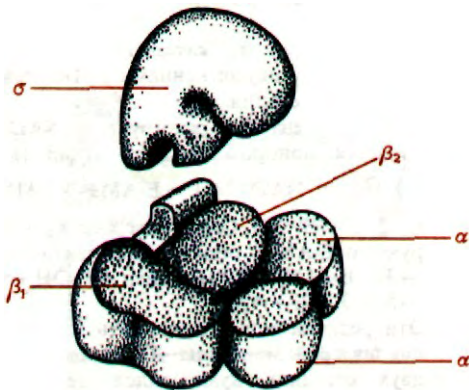


## РЕПАРАЦИЯ ЦЕПИ ДНК

При облучении ДНК светом с длиной волны, близкой к максимуму поглощения оснований (260-280 нм), происходит образование тиминовых димеров. Появляющиеся дефекты в одной или обеих цепях ДНК препятствуют правильной репликации и транскрипции. Эти дефекты репарируются комплексным действием трех ферментов. Эндонуклеаза гидролитически выщепляет один или несколько неправильных нуклеотидов, ДНК-полимераза вставляет правильную последовательность нуклеотидов, комплементарную второй цепи, и ДНК-лигаза сшивает два конца цепи.

## ТРАНСКРИПЦИЯ ДНК, РНК-ПОЛИМЕРАЗА

ДНК-зависимая РНК-полимераза - это фермент, катализирующий транскрипцию последовательности основания ДНК в последовательность оснований РНК. Полимераза состоит из двух субъединиц  $\alpha$  и двух субъединиц  $\beta_1$  и  $\beta_2$ . Все они вместе образуют так называемый «коровый» фермент. Для узнавания того участка, где должна начаться транскрипция, необходим кислый белок, обозначаемый как фактор  $\sigma$ . При его присоединении к коровому ферменту образуется холофермент.  $\sigma$ -Фактор обеспечивает связывание фермента с кодируемой цепью ДНК в участке, обозначаемом как *промотор* (характеризуем определенную специфическую последовательностью оснований). Цепь РНК растет в направлении  $5' \rightarrow 3'$  при движении корового фермента (тем временем фактор  $\sigma$  отщепляется). Наличие белка  $\rho$ -фактора необходимо для завершения синтеза, в его отсутствие образуются чрезмерно длинные цепи РНК (согласно работам Е. Гарберса, 1975).



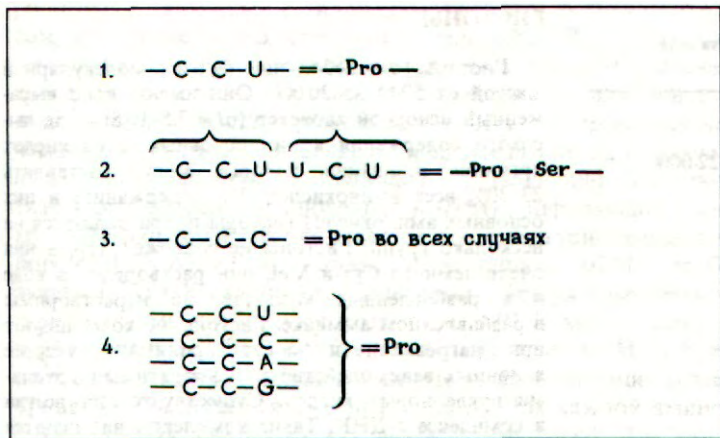
Второе основание

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

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОД

представляет собой путь передачи генетической информации, закодированной в молекуле ДНК, в аминокислотную последовательность белковых молекул. «Стоп» обозначает триплеты, которые не кодируют какую-либо аминокислоту (бессмысленные триплеты). Предполагается, что они служат для остановки (терминации) синтеза пептидной цепи.

AUG и GUG - это триплеты, которые кодируют первую аминокислоту в пептидной цепи (N-формилметионин) и начинают синтез белковой молекулы.

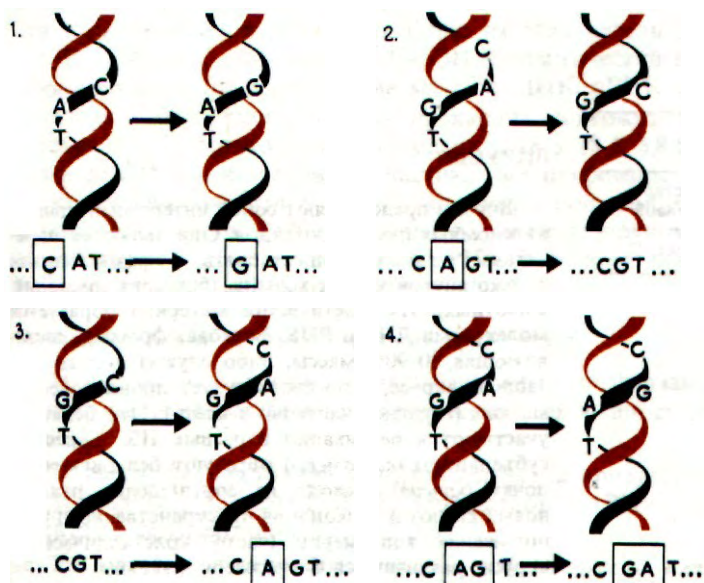


ТРИ ХАРАКТЕРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ГЕНЕТИЧЕСКОГО КОДА

1. Код основывается на *триплетях*, т.е. последовательность трех нуклеотидов определяет одну аминокислоту.

2. Код *универсален* - он один и тот же у всех организмов.

3. Код *вырожден* - более одного триплет кодирует одну и ту же аминокислоту. Однако первые два нуклеотида для данной аминокислоты всегда одинаковы.



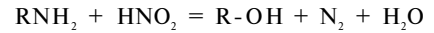
ТИПЫ МУТАЦИЙ

В ходе репликации самопроизвольно возникает небольшое число ошибок. Вероятность возникновения ошибок повышается под влиянием различных мутагенных факторов (химические реагенты, радиация). Мутанты образуются при изменении порядка оснований. При изменении только одного основания (точечная мутация) генетическая информация меняется незначительно и мутанты могут продолжать существование. Резко выраженные изменения в генах происходят при нарушении последовательности большего числа оснований, что обычно несовместимо с дальнейшим существованием мутанта.

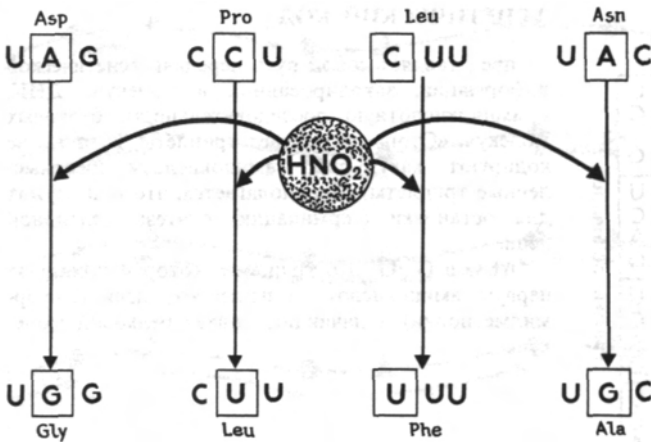
Примеры мутаций, приведенные на схеме: 1) замена C на G; 2) делеция (A выпадает из последовательности нуклеотидов); 3) включение (A включается в последовательность нуклеотидов); 4) инверсия (обратная последовательность нуклеотидов: GA вместо AG).

## МУТАЦИИ, ВЫЗЫВАЕМЫЕ АЗОТИСТОЙ КИСЛОТОЙ

Реакция с азотистой кислотой может быть использована для демонстрации молекулярного механизма происхождения мутаций. Азотистая кислота реагирует с аминогруппами пуринов или пиримидинов по уравнению



В итоге реакции OH-группа оказывается на месте стоящей ранее NH<sub>2</sub>-группы, в результате чего аденин превращается в гуанин, а цитозин в урацил. Это в свою очередь приводит к соответствующим изменениям в аминокислотной последовательности белковой молекулы, что и изображено на схеме.



Фракция	Обозначение	Молекулярная масса
Гистоны, богатые лизином	F <sub>1</sub> и I	19500-22000
Менее богатые лизином гистоны	F <sub>2b</sub> или IIb	14000
Гистоны, богатые лизином и аргинином	F <sub>2a2</sub> или IIa	15000
Гистоны, богатые глицином и аргинином	F <sub>2a1</sub> или IV	11300
Гистоны, богатые аргинином	F <sub>3</sub> или III	15000

## ГИСТОНЫ

Гистоны - это небольшие белки с молекулярной массой от 5000 до 30000. Они имеют ярко выраженный основной характер (pI = 7,5-10,8) из-за высокого содержания в них основных аминокислот аргинина и лизина, которые могут составлять 23-30% всех аминокислот. По содержанию в них основных аминокислот гистоны подразделяются на несколько групп. Гистоны не содержат Trp, в них очень немного Cys и Met, они растворимы в воде и в разбавленных кислотах, но нерастворимы в разбавленном аммиаке. Гистоны не коагулируют при нагревании и могут принимать участие в ионных взаимодействиях с фосфатными группами нуклеиновых кислот. Существуют они всегда в комплексе с ДНК. Такие комплексы называются *нуклеопротеидами* или *нуклеогистонами*.

## ВИРУСЫ

Вирусы представляют собой интересный пример автономных нуклеопротеидов. Они являются паразитами и могут существовать и размножаться только внутри клеток хозяина (бактерий, растений, животных). Их генетический материал образуется молекулами ДНК и РНК. Белковая фракция, составляющая 30-90% массы, либо служит только для защиты вируса, либо способствует проникновению *вириона* (вирусной частицы) в клетку. Эти белки не участвуют в репликации вирусных НК. Белковые субъединицы (*капсомеры*) образуют белковую оболочку (*капсид*). Исходя из соотношения нуклеиновых кислот и белков и из пространственного расположения капсомеров (часто кристаллических), вирусы различаются по размеру и форме.

	Молекулярная масса · 10 <sup>6</sup>	Число цепей нуклеиновой кислоты	Количество нуклеиновой кислоты в вирионе, %
Бактериофаги <i>E. coli</i>			
T <sub>2</sub> , T <sub>4</sub> , T <sub>6</sub>	220	ДНК (2)	61
φX174	6	ДНК (1-2)	41
λ dg	50	ДНК (2)	64
MS 2	3,6	РНК (1)	32
Табачная мозаика	40	РНК (1)	5
Полиомиелит	6,7	РНК (1)	28
Полиома	21	ДНК (2)	13,4
Аденовирус	200	ДНК (2)	5,0
Вакцина	2000	ДНК (?)	7,5



Синтез белков - многоступенчатый процесс, связанный с определенными субклеточными структурами: ядром, ядрышком, эндоплазматическим ретикуломом, рибосомами и продуктами их функционирования (ферментами). Синтез белка - строго контролируемый процесс, и для его обеспечения необходима энергия.

*Рибосомы* состоят из двух субъединиц, взаимодействие которых происходит в присутствии ионов  $Mg^{2+}$  и зависит от их концентрации. Субъединицы образованы молекулами рРНК и белками. Рибосомы (обычно 4-12 рибосом) связываются через 30S (40S) субъединицы с молекулой мРНК и, таким образом, образуются полирибосомы, или полисомы. Синтез белков, которые должны быть экскретированы из клетки, протекает на рибосомах, связанных с эндоплазматическим ретикуломом. В микробной клетке находится около  $10^4$  рибосом, а в клетке млекопитающих - около  $10^5$ . *мРНК* синтезируется в ядре на матрице ДНК в виде одноцепочечной РНК высокой молекулярной массы (до  $10^7$ ). Вначале синтезируется РНК, которая содержит как нуклеотидные последовательности, необходимые для синтеза определенного белка, так и ряд избыточных нуклеотидов; она обозначается как *hnРНК* (*гетерогенная ядерная РНК*). В ядре *hnРНК* связана со специфическими глобулярными белками (*информатинами*), образуя комплекс, называемый *информофером*. Действие на этот комплекс нуклеаз приводит к отщеплению избыточных нуклеотидов и образованию мРНК. В результате этого процесса заключенная в мРНК информация становится доступной. После транспорта в цитоплазму 5'-ОН-конец мРНК связывается с 7-метилгуанозином, в то время как 3'-ОН-конец с последовательностью poly(A). Poly(A) и 7-метилгуанозин защищают мРНК от быстрого расщепления нуклеазами. В цитоплазме эукариот мРНК связывается с белками, образуя комплексы - *информосомы*. Затем информосомы соединяются с рибосомами и образуют полисомы. мРНК может нести информацию как для синтеза одного белка, так и для большого числа белков (полицистронная мРНК). Время жизни мРНК небольшое в случае микроорганизмов (2-3 мин) и большее в случае млекопитающих (несколько дней). тРНК синтезируются в ядре на матрице ДНК и переносятся в цитоплазму. Для каждой аминокислоты существует по крайней мере одна тРНК (обозначаемая, например, как тРНК<sup>Ala</sup> для L-Ala). Для многих аминокислот существует до пяти различных тРНК. Молекулы тРНК содержат ряд необычных (минорных) оснований. Определение первичной структуры ряда тРНК позволило предсказать их пространственную структуру. Это структура *клеверного листа*, которая состоит из трех нуклеотидных петель. Из-за присутствия минорных оснований в петлях нет комплементарности с противоположной цепью. Одна из этих петель несет так называемый *антикодон*. 3'-ОН-конец всех тРНК одинаков: —C—C—A—3'-ОН. Биологический полупериод жизни тРНК относительно велик. *рРНК* образуются в ядре (ядрышке) на матрице ДНК. рРНК составляет 80-90% общего количества РНК в клетке. Большая субъединица рибосом прокариот содержит рРНК с коэффициентами седиментации 23S, 5S; малая - 16S. Рибосомы эукариот содержат 28S, 18S, 5,8S и 5S рРНК. Все они происходят от общего предшественника 45S, и их основания частично метилированы. рРНК взаимодействует с рибосомальными белками. Было найдено, что *Escherichia coli* содержит в большой субъединице рибосомы (L) 33 белка, а в малой субъединице (S) 21 белок. Рибосомальные белки синтезируются в цитоплазме и переносятся в ядро, где они взаимодействуют с предшественником рРНК. Рибосомальные белки не закрывают всей поверхности рибосомы и большая часть рРНК открыта.

*Синтез белка* протекает в несколько стадий

1) *Активация аминокислот* специфическими синтетазами и их связывание с тРНК. Для синтеза белка необходимо наличие достаточного количества всех аминокислот. Синтез полипептида начинается с 5'-ОН-конца мРНК.

2) *Биосинтез* пептидной цепи *начинается* в присутствии иницирующих факторов  $F_1$ ,  $F_2$  и  $F_3$  (все факторы являются белками), мРНК, инициаторной тРНК, GTP,  $Mg^{2+}$  и рибосомальных субъединиц с коэффициентами седиментации 30S и 50S.

3) *Образование пептидной связи и рост белковой цепи*. Этот процесс происходит в несколько стадий.

а) Ориентация отдельных AA-тРНК вдоль мРНК и их взаимодействие с рибосомой (в участке А); в бакте-

риях синтез белка начинается со связывания fMet-тРНК (N-формилметионин-тРНК) с мРНК. В клетках эукариот для этих целей служит специальная Met-тРНК. Для связывания необходимы GTP и цитоплазматический белок T. Для того чтобы произошло связывание, в молекуле соответствующей тРНК<sup>AA</sup>, должен присутствовать антикодон, т.е. триплет оснований с составом, комплементарным триплетному кодону мРНК.

б) Образование пептидной связи (или удлинение существующей пептидной цепи на одну аминокислоту под действием пептидилтрансферазы).

в) Перемещение пептида, связанного через последнюю тРНК, в участке А рибосомы на участок Р, и освобождение предыдущей тРНК из ее связи с мРНК в участке Р (транслоказа и GTP). В то же время происходит движение мРНК вдоль рибосомы на один кодон.

4) Отделение пептидной цепи от рибосомы происходит в том месте, где на молекуле мРНК встречается «стоп» (или «бессмысленный») кодон (UAA, UAG или UGA). По мере роста цепи она сворачивается с образованием вторичной и третичной структур.

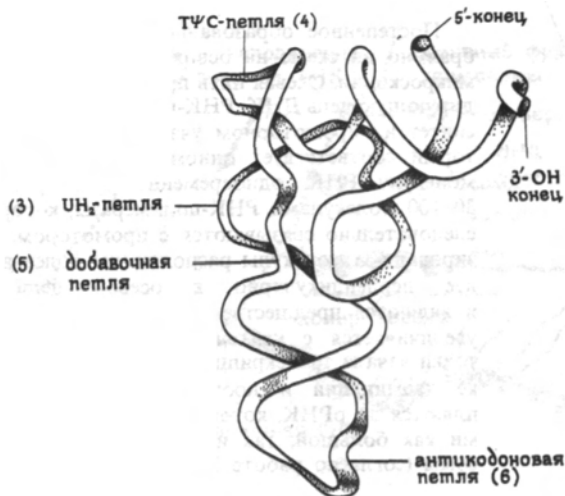
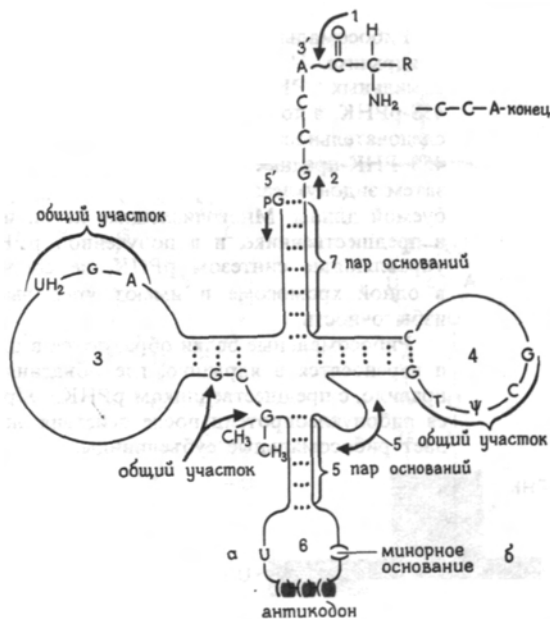
Скорость синтеза белка определяется скоростью трансляции и составляет в ретикулоцитах около 1 триплета в 1 с и около 7-10 триплетов в 1 с в случае *Escherichia coli*. Данные, полученные в последнее время, позволяют увеличить эту цифру до 100 пептидных связей в 1 с. Ошибка при трансляции кодонов менее  $10^{-4}$ . Для образования пептидной связи расходуется энергия трех макроэргических связей (АТФ, GTP, пирофосфат).

Описанный путь синтеза справедлив для белков, остающихся внутри клетки. Белки, которые секретируются (например, белки панкреатических ацинарных клеток), образуются на рибосомах, прочно присоединенных к эндоплазматическому ретикулуму. После отделения от рибосомы они попадают в эндоплазматическую цистерну и в комплекс Гольджи, где они концентрируются и, возможно, модифицируются, связываясь с сахарами. Затем эти белки направляются, будучи заключенными в зимогенные гранулы, к поверхности клетки и после слияния гранул с клеточной мембраной выделяются во внешнее пространство.

Свойства	мРНК	тРНК	5S РНК	рРНК
Содержание в клетке	~2%	10-15%	1%	80-90%
Коэффициент седиментации	6-25 S	4S	5S	16-23S 13-28S
Число нуклеотидов в молекуле	75-3000	70-90	105±5	1500-4500
Молекулярная масса	$25 \cdot 10^3 - 1 \cdot 10^6$	$2,5 \cdot 10^4 - 3,1 \cdot 10^4$	$3,5 \cdot 10^6$	$0,5 \cdot 10^6 - 1,6 \cdot 10^6$
Форма молекулы	Вытянутая	Клеверный лист		Компактная

## ФИЗИЧЕСКИЕ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА РНК

Все молекулы РНК образуются в ядрах транскрипцией генетической информации, закодированной в последовательности оснований ДНК. РНК синтезируется с участием ДНК-зависимой РНК-полимеразы в соответствии с последовательностью оснований в кодирующей цепи ДНК. рРНК образуется главным образом в ядрышке, другие виды РНК функционируют в цитоплазме, в которую они проникают через поры ядерной мембраны. В ядре рРНК объединяется с рибосомальными белками, которые образуются в цитоплазме и проникают в ядро через поры ядерной мембраны. Собранная таким образом рибосомальная субъединица возвращается обратно в цитоплазму. Проблема образования комплексов мРНК-рРНК в ядре и их транспорт в цитоплазму остается пока открытой.



## ОСНОВНЫЕ ЧЕРТЫ СТРУКТУРЫ тРНК

тРНК выполняет две основные функции: она связывает определенные аминокислоты и за счет специфического триплета оснований (антикодона) через систему водородных связей присоединяется к кодону мРНК. В структуру тРНК входят минорные основания (в среднем 10-12 оснований на молекулу). Они представлены метилированными основаниями, их изомерами и аналогами. Минорные основания выполняют две функции: они делают молекулы тРНК устойчивыми к действию нуклеаз и поддерживают определенную третичную структуру молекулы, поскольку они не способны к нормальному спариванию и препятствуют образованию двойной спирали. В каждой молекуле тРНК находятся не содержащие водородных связей участки, ответственные за связывание с аминокислотой, со специфическим ферментом (аминоацил-тРНК-синтетазой) и с большой субъединицей рибосомы.

Некоторые молекулярные аспекты функций тРНК продемонстрированы на схеме.

1. Связывание аминокислоты происходит с концевым аденозином через 2'-ОН- или 3'-ОН-группу.

2. Начиная с пятого основания возникают участки молекулы в виде двойной спирали (области, обозначенные пунктиром).

3. Петля переменной величины содержит несколько оснований  $H_2U$  и много пуринов. Последовательность  $H_2U-G-A$  одинакова у всех тРНК подобно некоторым другим последовательностям, обозначенным на схеме как «общие».

4. Петля из семи оснований; входящий в нее пентануклеотид  $G-T-\psi-C-G$  одинаков для всех тРНК.

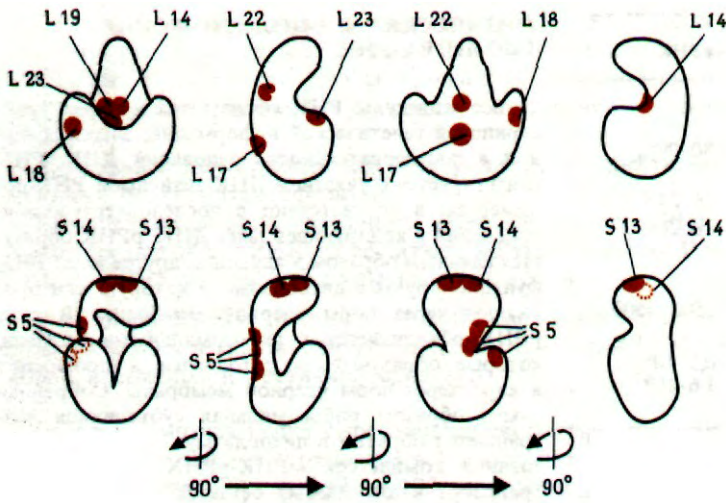
5. Петля переменной размера.

6. Петля, несущая антикодон. Антикодону всегда предшествует  $U$  (а), а после него стоит минорное основание (б).

тРНК образует структуру так называемого клеверного листа. Приведенный здесь пример взят из работы Кима и сотр. (1973 г.)



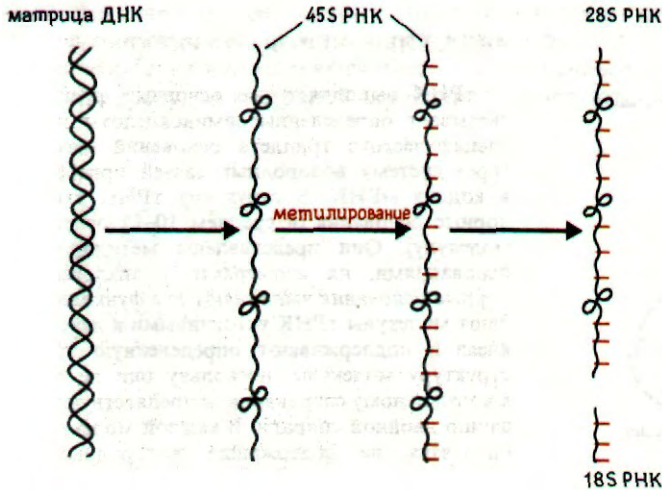
## СУБЪЕДИНИЦЫ РИБОСОМ



Их морфология исследуется электронной микроскопией. На схеме изображены большая и малая субъединицы. Буквы L и S показывают принадлежность различных белков большой и малой субъединицам соответственно (по данным иммуноэлектронной микроскопии, Тишendorf и сотр., 1974). В *Escherichia coli* большая субъединица содержит 33 белка, а малая - 21 белок. За исключением белка S<sub>1</sub> (молекулярная масса 65000), молекулярная масса этих белков колеблется в пределах от 9000 до 28000.

У прокариот субъединицы имеют размеры, соответствующие коэффициентам седиментации 50S и 30S, и содержат 23S и 16S РНК соответственно. У высших эукариот субъединицы больше: 60S (содержит 28S, 5.8S и 5S РНК) и 40S (содержит 18S РНК). Для образования целой рибосомы необходим ион Mg<sup>2+</sup> в концентрации 10 мМ.

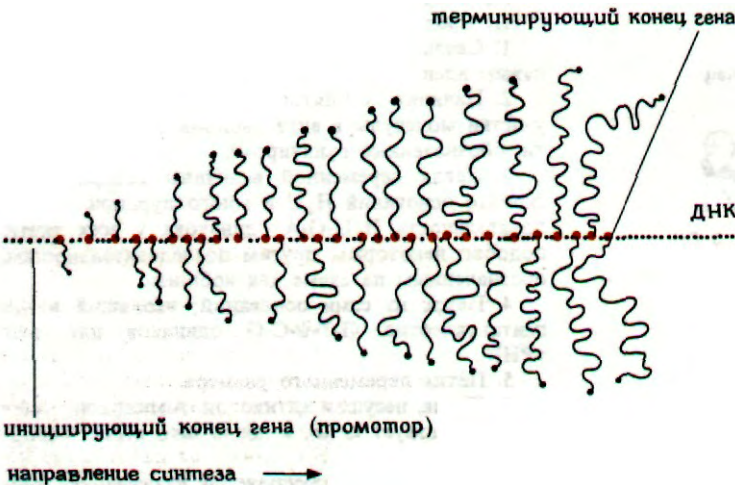
## ПРЕДШЕСТВЕННИКИ РИБОСОМ



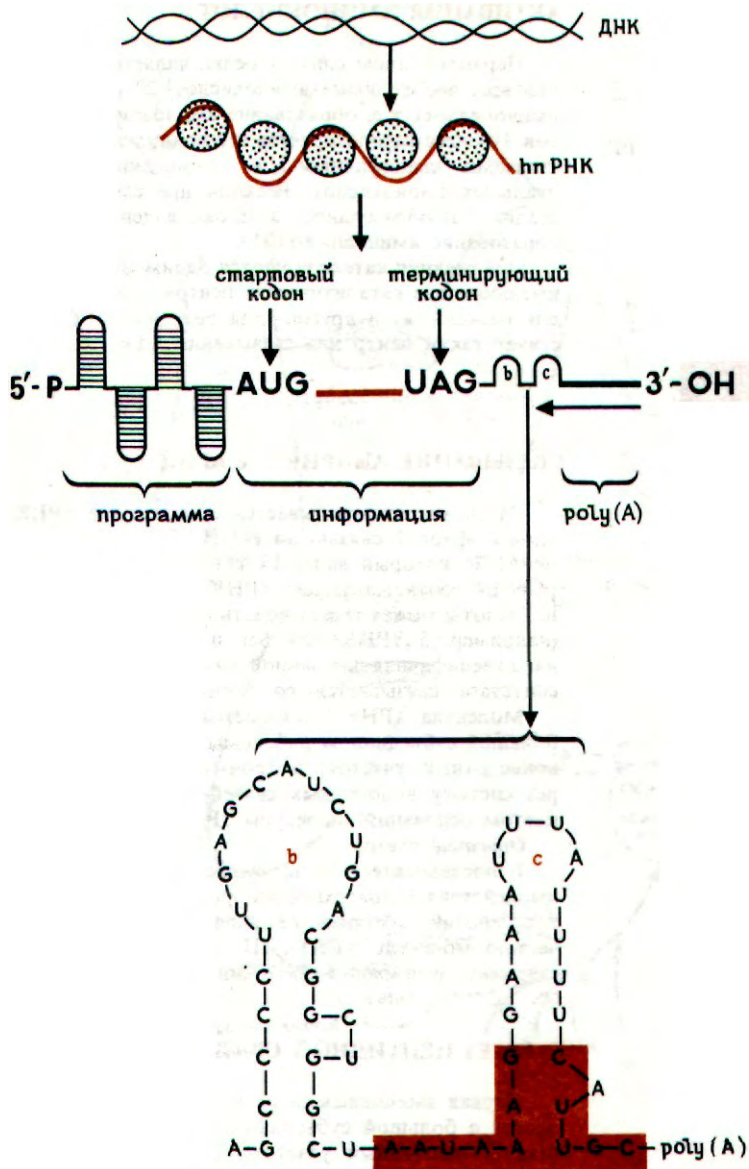
Рибосомальные РНК (рРНК) синтезируются в ядрышке. У эукариот предшественником рибосомальных РНК является высокомолекулярная 45S-рРНК, в которой содержится нуклеотидная последовательность как 28S рРНК, так и 18S рРНК. 45S РНК-предшественник сначала метилируется, а затем эндонуклеазами расщепляется до рРНК требуемой длины. Многочисленные петли имеются и в предшественнике, и в полученной рРНК. Гены, управляющие синтезом рРНК, не сосредоточены в одной хромосоме и имеют ярко выраженную избыточность.

Рибосомальные белки образуются в цитоплазме и переносятся в ядрышко, где объединяются, как правило, с предшественником рРНК. Образующийся рибонуклеопротеид после действия эндонуклеаз дает рибосомальные субъединицы.

## ОБРАЗОВАНИЕ рРНК



Постепенное образование молекул рРНК изображено на схеме на основе данных электронной микроскопии. Осевая нить представляет из себя кодирующую цепь ДНК. РНК-полимераза инициирует синтез на промоторном участке. Район ДНК, который соответствует одному гену, кодирующему молекулу РНК, одновременно транскрибируется 80-100 молекулами РНК-полимеразы, которые последовательно связываются с промотором. Синтезированные молекулы расположены более или менее перпендикулярно к осевой цепи ДНК и являются предшественниками рРНК. Их длина увеличивается с удалением РНК-полимеразы от точки начала транскрипции. Они отделяются в точке терминации и после метилирования расщепляются до рРНК, которые являются компонентами как большой, так и малой субъединицы рибосомы (согласно работе Миллера, 1973 г.).



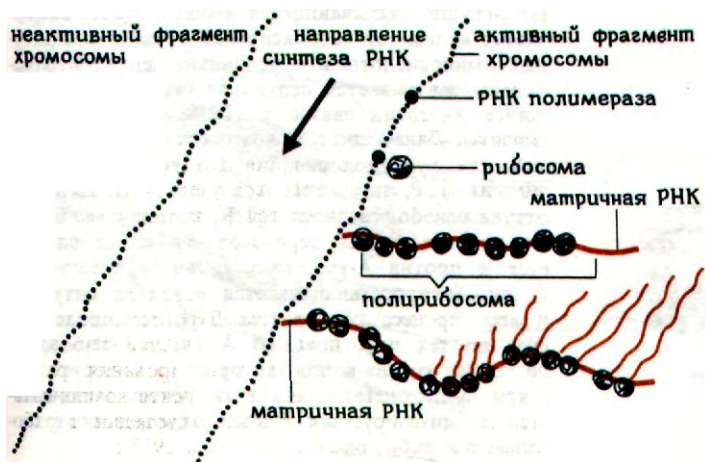
## hnРНК (ГЕТЕРОГЕННАЯ ЯДЕРНАЯ РНК)

Роль информационной РНК (мРНК) состоит в переносе информации, заключенной в последовательности нуклеотидов, кодирующих последовательность аминокислот белковой молекулы, из ядра в цитоплазму. В ходе этого переноса мРНК подвергается действию нуклеаз. Для надежности передаваемой информации сначала в ядре синтезируется hnРНК. Ее молекула во много раз больше соответствующей молекулы мРНК (в мРНК около 4000 нуклеотидов, а в hnРНК около 30000 нуклеотидов, мол. масса  $1-2 \cdot 10^6$ ). Эта гигантская молекула (называемая также пре-мРНК) связана с поверхностью белковых молекул, называемых информатином (мол. масса 800000). В результате с одной стороны, предотвращается взаимодействие hnРНК с гистонами и, с другой стороны, облегчается ее последовательное расщепление нуклеазами. В ходе которого освобождается информатин (согласно работе Харберса, 1975 г.).

## мРНК

мРНК, переносящая генетическую информацию в цитоплазму, защищена от действия нуклеаз тем, что образует с белковыми молекулами комплекс, называемый *информосомой*. У млекопитающих этот комплекс по 5'-Р-концу защищен 7-метилгуанином.

Кодону, с которого начинается синтез белка, предшествует район РНК с повторяющейся последовательностью оснований AGGA или GGUUUGG, транскрибуемая часть мРНК ограничена стартовым кодоном AUG и терминирующим кодоном UAG. Повторяющиеся последовательности, возможно, служат для адаптации и образования иницирующего комплекса (аналогично промотору в РНК-полимеразе). Жизнеспособность мРНК увеличивается путем связывания по 3'-ОН-концу фрагмента poly(A), содержащего 50-200 нуклеотидов и замедляющего деградацию, протекающую в направлении, указанном стрелкой. Петли (b) и (c), заключенные между концом мРНК и poly(A), могут играть аналогичную роль (согласно работе Прудфута и сотр., 1974 г.). Окрашенная область включает межвидовые гомологичные последовательности.



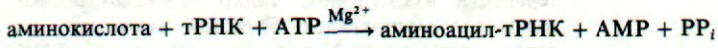
## ТРАНСКРИПЦИЯ И ТРАНСЛЯЦИЯ

Оба процесса продемонстрированы на примере хромосом *E. coli* по данным электронной микроскопии. Синтез РНК начинается после связывания РНК-полимеразы с кодирующей цепью ДНК в местах, обозначенных жирными точками. Синтез протекает справа налево. Рибосомы связываются с образующейся мРНК, давая так называемые полисомы. тРНК присоединяется к большой субъединице рибосомы и длина пептидной цепи увеличивается по мере удаления от ДНК.

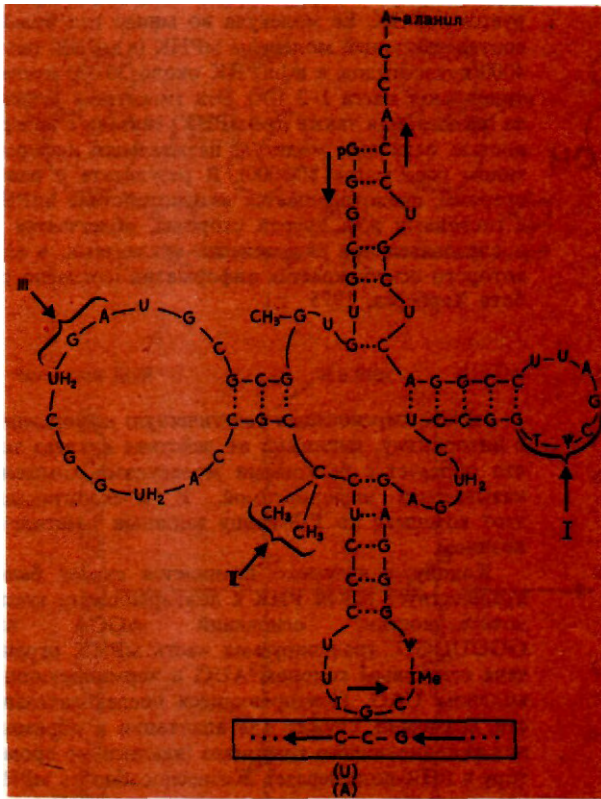


а) АТФ + аминокислота → аминокиладенилат + PP<sub>i</sub>

б) аминокиладенилат + тРНК → аминокил-тРНК + АМР



$$\Delta G^{\circ} = -29,2 \text{ кДж/моль}$$



## АКТИВАЦИЯ АМИНОКИСЛОТ

Первым этапом синтеза белка является активация всех необходимых аминокислот (20 различных аминокислот), т.е. образование аминокиладенилата. Процесс катализируется аминокил-тРНК-синтетазой, специфичными в отношении индивидуальных аминокислот. Реакция протекает в две стадии: а) образование аминокиладенилата, б) образование аминокил-тРНК.

Обе реакции катализируются одним ферментом, имеющим два каталитических центра; один служит для реакции (а), а другой - для реакции (б). Существует также центр для связывания АТФ.

## СВЯЗЫВАНИЕ Ala-тРНК<sup>Ala</sup> с мРНК

Аминокислота связывается с молекулой тРНК сложной эфирной связью по 2'-ОН- или 3'-ОН-группе АМР, который является концевым в триплете рСрСрА соответствующей тРНК. Для каждой аминокислоты может существовать более одной тРНК (например, 5 тРНК для Ser и 4 для Gly). Однако специфичная для данной аминокислоты тРНК-синтетаза связывается со всеми такими тРНК.

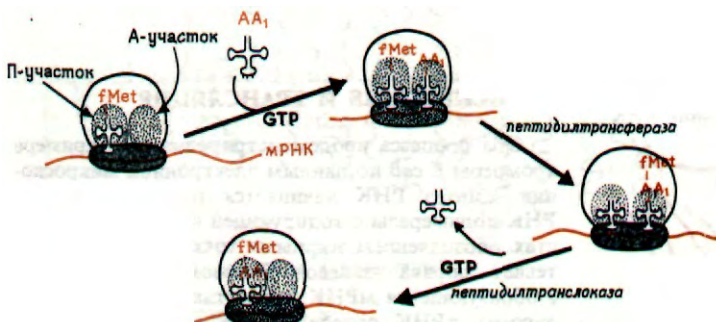
Молекула тРНК связывается с поверхностью большой субъединицы рибосомы в участке А (аминокислотный участок) и своим антикодоном через систему водородных связей - с кодоном (триплетом оснований) молекулы мРНК.

### Описание схемы

I - последовательность, существенная для взаимодействия с поверхностью рибосомы; II - диметилгуанозин, который не является обязательной частью молекулы тРНК; III - участок, способный связывать аминокил-тРНК-синтетазу.

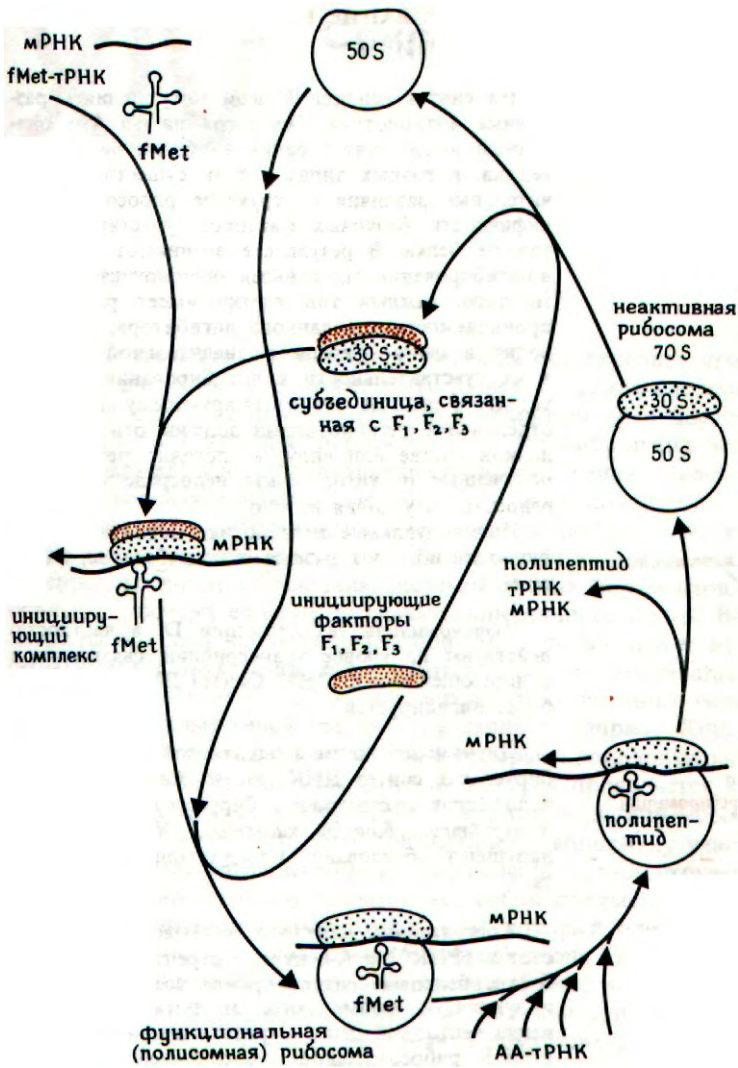
## СИНТЕЗ ПЕПТИДНОЙ СВЯЗИ

Первая аминокислота цепи (fMet-тРНК) связывается с большой субъединицей рибосомы в участке П (пептидный участок). Следующая аминокислота в виде аминокил-тРНК связывается в участке А рибосомы за счет взаимодействия антикодона тРНК и кодона мРНК. В результате NH<sub>2</sub>-группа связывающейся аминокислоты оказывается вблизи от карбоксильной группы предыдущей аминокислоты и с помощью пептидилтрансферазы завязывается пептидная связь. Образовавшийся дипептид связан с тРНК второй аминокислоты. Далее, дипептид переносится транслоказой, для функционирования которой необходима энергия GTP, из участка А в участок П, вытесняя оттуда освобожденную тРНК, которая необходима для следующих переносов. Рибосома сдвигается и против А-участка становится следующий кодон. Так восстанавливается исходная ситуация и весь процесс повторяется. Процесс продолжается до тех пор, пока до А участка рибосомы не дойдет «стоп»-кодон (который не кодирует никакой аминокислоты). На этом синтез заканчивается и синтезируемый пептид отделяется от поверхности рибосомы.

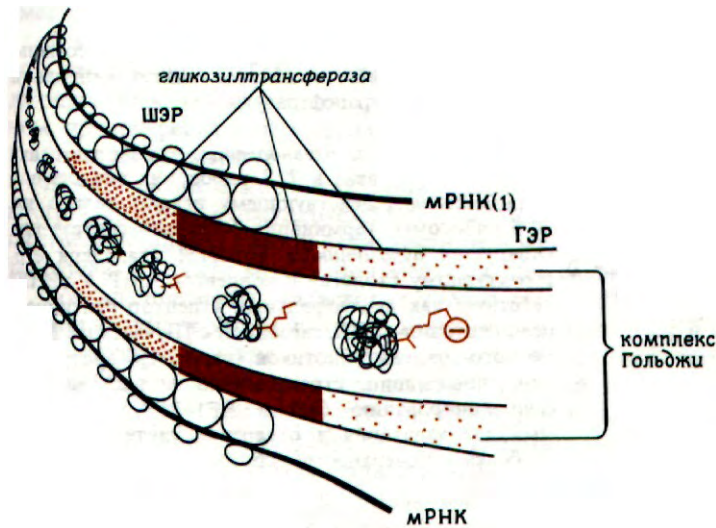




## РИБОСОМАЛЬНЫЙ ЦИКЛ



После окончания синтеза пептидной цепи рибосомы освобождаются из комплекса с мРНК. Затем рибосомы диссоциируют на большую и малую субъединицы. Для участия в синтезе белков рибосомы должны подвергнуться ряду превращений. Малая субъединица (30S) связывается с иницирующими факторами ( $F_1-F_3$ ), с молекулой мРНК и с fMet-tРНК, образуя таким образом *иницирующий комплекс*. Затем этот комплекс объединяется с 50S субъединицей, создавая функционально активную рибосому, из которой затем высвобождаются иницирующие факторы  $F_1-F_3$ . Вновь образованная пептидная цепь содержит метионин на  $NH_2$ -конце: в бактериях  $NH_2$ -группа метионина формилирована и, таким образом, неспособна к дальнейшим взаимодействиям. В бактериях присутствует специальная тРНК, называемая fMet-tРНК, которая служит для запуска синтеза пептидной цепи.



## ШЕРОХОВАТЫЙ ЭНДОПЛАЗМАТИЧЕСКИЙ РЕТИКУЛУМ

Полисомы связаны с внешней поверхностью мембраны эндоплазматического ретикулума клеток эукариот. Связь осуществляется через большую субъединицу рибосомы и, по-видимому, с участием специфических белков. Пептидные цепи, синтезированные на поверхности рибосом, проходят через мембрану шероховатого эндоплазматического ретикулума (ШЭР) в цистерны и переносятся в гладкий эндоплазматический ретикулум (ГЭР) и в комплекс Гольджи. Затем с помощью гликозилтрансфераз пептидные цепи связывают моносахариды и образуют гликопротеины. Существует предположение, что белки, которые должны быть секретированы, синтезируются в ШЭР, а остальные белки - на свободных полисомах. Однако такое предположение может быть не всегда оправданным.

## ИНГИБИРОВАНИЕ БЕЛКОВОГО СИНТЕЗА. АНТИБИОТИКИ

На синтез пептидной цепи могут влиять различные антибиотики. Несмотря на то что описанный выше синтез белка в общем виде справедлив, в разных типах клеток существуют значительные различия в структуре рибосом и специфичности белковых факторов, участвующих в синтезе белка. В результате возникают различия в ингибировании отдельными антибиотиками. Кроме того, каждый тип клетки имеет различную проницаемость для данного ингибитора, что приводит в свою очередь к значительной разнице в их чувствительности к ингибированию. Следовательно, данные по ингибирующему действию отдельными антибиотиками должны относиться к данной клетке или виду; аналогично результаты, полученные *in vitro*, нельзя непосредственно переносить на условия *in vivo*.

Индивидуальные антибиотики довольно специфично ингибируют разные стадии белкового синтеза.

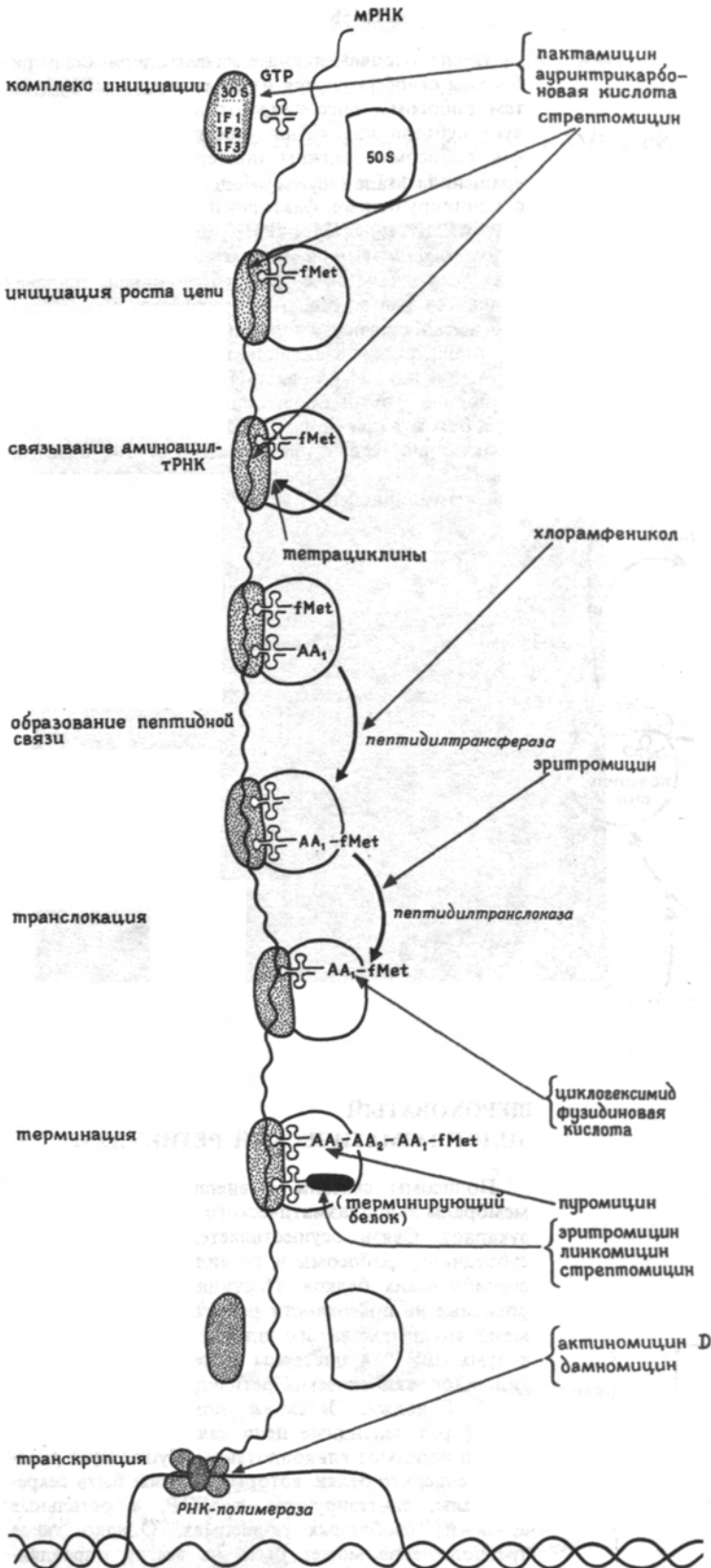
*Актиномицины* (актиномицин D, в частности) действуют на уровне транскрипции, связываясь с кодирующей цепью ДНК. Синтез ДНК сам по себе не ингибируется.

*Дауномицин* почти в одинаковой степени ингибирует как синтез ДНК, так и синтез РНК. Начало белкового синтеза ингибируется *пактамицином* и *ауринтрикарбоновой кислотой*. Оба соединения нарушают образование иницирующего комплекса.

*Тетрациклины* нарушают связывание аминокислот и тРНК<sup>AA</sup> в А-центре, а стрептомицин ингибирует белковый синтез прежде всего на стадии индукции, и, кроме того, он ингибирует удлинение пептидной цепи. Стрептомицин связывается с 30S рибосомальной субъединицей и мешает правильному прочтению кодонов молекулы мРНК. Кроме того, он частично ингибирует окончание пептидного синтеза.

*Хлорамфеникол* (связываясь с 50S рибосомальной субъединицей) ингибирует синтез пептидной связи (пептидилтрансферазу).

*Эритромицин* и *олеандомицин* ингибируют активность транслоказ в 70S рибосомах аналогично *циклогексимиду*, действующему исключительно на 80S рибосомы. Терминация белкового синтеза ингибируется *пурамицином*, который благодаря его структурному сходству с концевым АМР в тРНК действует как нуклеофильный акцептор пептидной цепи пептидил-тРНК, связанной с П-участком. Кроме того, ряд антибиотиков (например, эритромицин, линкомицин, стрептомицин и т.д.) мешает функционированию белков RF1-RF3, необходимых для узнавания и отделения синтезированного белка с поверхности рибосом.



# XIV

Сократительная система клетки мышцы обеспечивает превращение химической энергии в механическую энергию движения. Это может быть движение живой системы как целого относительно окружающего пространства или движение ее отдельных компонентов относительно друг друга.

Структура и функция сократительного элемента лучше всего изучена для скелетной мышцы. Именно она будет предметом нашего дальнейшего рассмотрения. *Миофибриллы* скелетной мышцы состоят из функциональных сократительных элементов, *саркомеров*, которые содержат параллельные нити двух типов. Под микроскопом видно, что темные *A-диски* (анизотропные или двулучепреломляющие) образованы системой параллельно расположенных толстых филаментов, тогда как светлые *I-диски* (изотропные, с нормальным лучепреломлением) образованы системой тонких филаментов. Такой вид скелетной мышцы под микроскопом объясняет, почему ее часто называют поперечнополосатой. Во время сокращения и расслабления тонкие филаменты скользят вдоль толстых, причем ни те, ни другие не изменяют своей длины. При этом связи между филаментами двух типов разрушаются и быстро возникают вновь.

Толстые филаменты образованы пучками нитевидного белка *миозина*. Его молекула состоит из двух идентичных пептидных цепей, свернутых в двойную спираль. Конец (головка) молекулы миозина имеет глобулярное строение и связан нековалентно с четырьмя дополнительными короткими полипептидными цепями. Миозин обладает АТФазной активностью, которая проявляется в присутствии  $Ca^{2+}$ . При обработке трипсином миозин расщепляется на фрагменты двух типов: легкий меромиозин L и тяжелый меромиозин H. Меромиозин H, который соответствует протяженному концевому участку миозина, обладает АТФазной активностью.

Тонкие филаменты саркомера образованы двумя скрученными  $\alpha$ -спиральными цепями фибриллярного белка F-актина, который представляет собой полимер глобулярного белка G-актина. Полимеризация G-актина стимулируется в присутствии АТФ, который одновременно дефосфорилируется с образованием ADP, причем ADP остается связанным с субъединицей, G-актином (в стехиометрическом отношении 1:1). Способ соединения тонких филаментов F-актина с Z-пластинками, образованными молекулами  $\alpha$ -актинина, в настоящее время не расшифрован. Актиновые филаменты расположены гексагонально, т. е. каждый миозиновый филамент окружен шестью актиновыми. Кроме этих двух основных белков сократительная система содержит тропониин и комплекс тропонина.

Тропомиозин представляет собой спирализованный белок и состоит из двух полипептидных цепей. Он занимает бороздки в спирально скрученной молекуле F-актина и увеличивает ее стабильность. Кроме того, он вместе с тропониновым комплексом участвует в регуляции взаимодействия актина с миозином.

Комплекс тропонина образован тремя белками: тропонином Т (ТпТ), образующим связь с тропомиозином, тропонином I (ТпI), который может ингибировать АТФазную активность, и тропонином С (ТпС), обладающим значительным сродством к  $Ca^{2+}$ . Тропоминовый комплекс связан как с актином, так и тропомиозином, причем регулярным образом с интервалом 40 нм, который соответствует семи субъединицам F-актина в активном филаменте.

*In vitro* актин и миозин образуют комплекс, называемый актомиозином. Он обладает АТФазной активностью, которую стимулирует  $Mg^{2+}$ . По-видимому, в связывании актина участвуют SH-группы миозина, существенные для АТФазной активности. В присутствии АТФ этот комплекс разрушается аналогично тому, как разрушаются связи между филаментами при сокращении мышцы.

Сокращение мышц происходит только при достаточной концентрации  $Ca^{2+}$  в пространстве между молекулами актина и миозина. Ионы кальция диффундируют в это пространство из элементов саркоплазматического ретикулума, где они прочно связаны белками, называемыми кальсеквестрином и « $Ca^{2+}$ -связывающим белком с высоким сродством». Первый из них присоединяет 43 иона  $Ca^{2+}$  на молекулу, второй - 25. Кроме того, кальций присутствует в виде фосфатов и оксалатов. При изменении проницаемости мембраны, окружающей саркоплазматический ретикулум, часть ионов кальция высвобождается. Это изменение вызывается деполяризацией мембраны под действием электрического импульса, передаваемого на мышечную клетку двигательным нервом и быстро распространяющегося через клеточную мембрану (сарколемму), которая соединена со всеми саркомерами поперечными трубочками так называемой Т-системы. Эта система связывает все саркомеры мышечной клетки с саркоплазматическим ретикулу-



мом. Синапс двигательного нейрона, называемый иногда нервно-мышечным соединением, является по своей природе холинэргическим.

Сокращение происходит при увеличении концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  в пространстве между филаментами актина и миозина, по крайней мере до  $10^{-5}$  М. Взаимодействие  $\text{Ca}^{2+}$  с ТпС вызывает изменение его конформации, которое кооперативно передается другим молекулам тропонинового комплекса, в том числе ТпI. В результате конформационного изменения последняя головка молекулы миозина (содержащая АТФ) образует связь с мономером актинового филамента. Это в свою очередь изменяет конформацию глобулярной части молекулы миозина, которая отклоняется на определенный угол от направления оси и тянет за собой тонкий актиновый филамент. Конформационное изменение миозина позволяет его АТФазе отщипнуть от АТФ фосфатную группу, которая вместе с АДФ выделяется в среду. Их место занимает другая молекула АТФ. В результате восстанавливается исходное состояние и рабочий цикл может повториться. Этот цикл может происходить несколько раз в секунду и одновременно во многих местах актинового филамента. Его частота зависит от концентрации  $\text{Ca}^{2+}$ . Чем выше частота сокращений, тем короче саркомер или тем больше напряжение, если его длина сохраняется (изометрическое сокращение). Ионы кальция регулируют таким образом мышечную активность.

Расслабление происходит тогда, когда концентрация  $\text{Ca}^{2+}$  в пространстве между филаментами актина и миозина падает ниже  $10^{-7}$  М. Это вызывается обратным активным транспортом  $\text{Ca}^{2+}$  в саркоплазматический ретикулум. Процесс осуществляется ферментом  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазой, которая переносит 2 иона кальция в расчете на одну расщепляемую молекулу АТФ.

Энергия для сокращения и расслабления обеспечивается поступлением АТФ. Небольшой резерв энергии, которого хватает для всего организма не более чем на 10-12 с, сосредоточен в креатинфосфате. Гликолитическое расщепление гликогена (анаэробное) достигает своего максимума через 40-50 с после начала мышечной работы. Через 60-70 с в работу вступают аэробные процессы образования АТФ посредством аэробного фосфорилирования в митохондриях, которые расположены вблизи саркомеров. Лимитирующим фактором этого процесса является количество поставляемого кислорода.

В гладких мышцах упаковка филаментов отличается от гексагональной. Миозиновые филаменты окружены в них 12-18 актиновыми филаментами. По-видимому, этим объясняется волнообразный характер сокращения и расслабления.

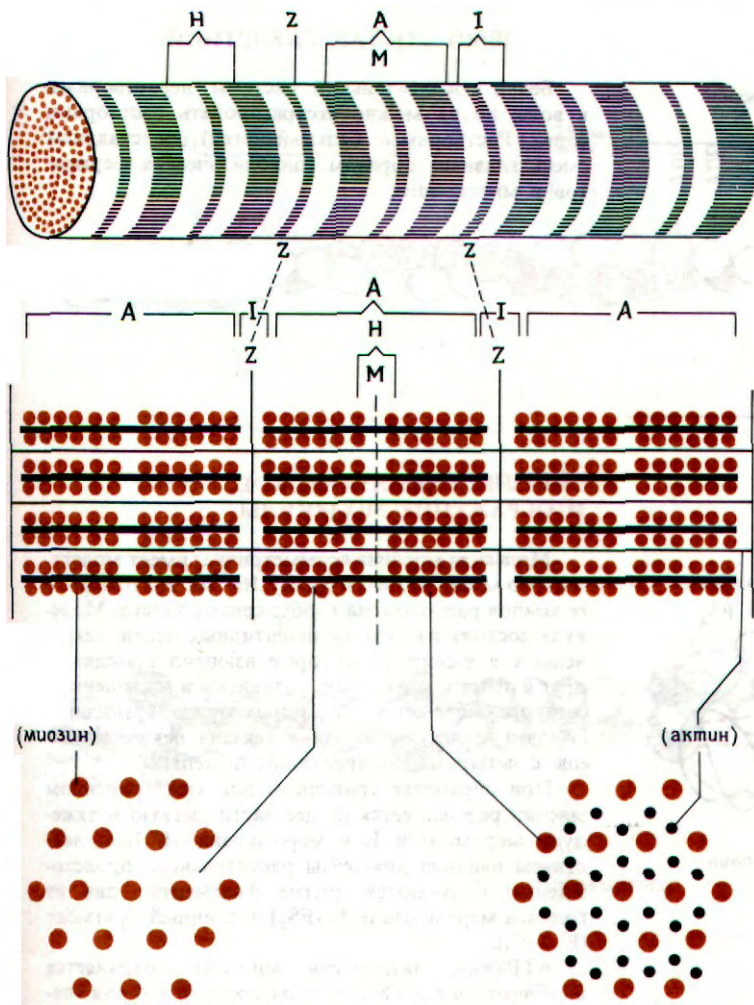
Миокард (сердечная мышца) в отличие от скелетной мышцы образует синцитий. Отдельные клетки не расположены параллельно друг другу (как в поперечнополосатой мышце), а разветвлены. Типично присутствие промежуточных дисков, т.е. специальных контактов между клетками, характеризующихся очень низким сопротивлением, что делает возможным прохождение электрического тока через массу миокарда. Кроме того, миокард отличается от скелетной мышцы высоким содержанием митохондрий (до 36% общего объема).

## МИОФИБРИЛЛА СКЕЛЕТНОЙ МЫШЦЫ

Миофибриллы клетки скелетной мышцы объединены в параллельные пучки, окруженные саркоплазмой. Они существуют в виде длинных тонких структур, в которых под микроскопом различаются оптически более и менее плотные зоны. Более светлые зоны представляют собой изотропные I-диски, а темные - анизотропные А-диски. Длина А-дисков около 1,6 мкм, а I-дисков - около 1,0 мкм. Светлые зоны пересекаются темной линией шириной около 80 нм, так называемой Z-линией (или Z-пластинкой). Центральная часть А-диска, называемая Н-диском, может быть разделена пополам темной М-линией. Целая продольная единица ограничена двумя Z-линиями и называется саркомером.

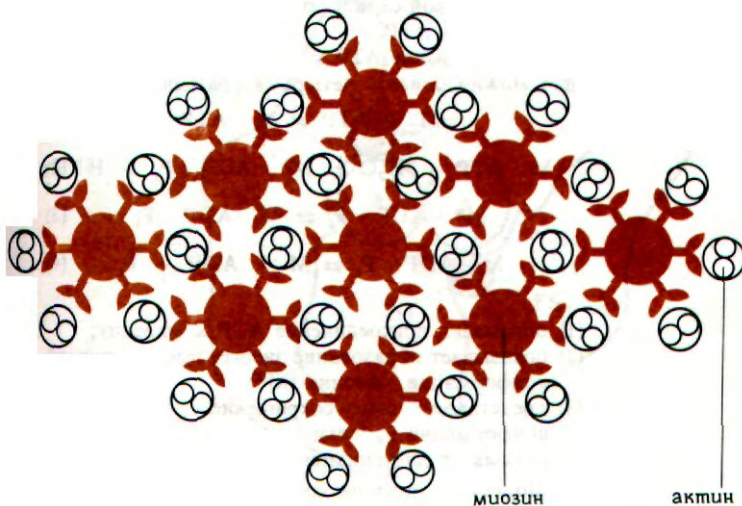
Каждая миофибрилла состоит из нескольких параллельных филаментов, которые бывают двух типов - толстые и тонкие. Тонкие филаменты диаметром около 6 нм расположены в I-дисках. Более темная часть А-дисков содержит как тонкие, так и толстые (диаметром 15-17 нм) филаменты, что приводит к хорошо известному двойному лучепреломлению. Тонкие филаменты начинаются у Z-линий и кончаются у Н-диска, тогда как толстые проходят по всей длине А-диска.

На поперечном разрезе можно видеть гексагональное расположение тонких филаментов вокруг толстых; каждый толстый филамент окружен шестью тонкими. Структурная связь между филаментами осуществляется только регулярно расположенными мостиками. При сокращении филаменты двух типов скользят относительно друг друга не изменяя своей длины. Изменяется только расстояние между Z-линиями. При максимальном сокращении саркомер укорачивается на 20-50% своей нормальной длины.



## ПОПЕРЕЧНЫЙ РАЗРЕЗ МИОФИБРИЛЛЫ

На схеме показано гексагональное расположение толстых и тонких филаментов в миофибрилле скелетной мышцы. Утолщения находятся на толстом филаменте спирали и сгруппированы в пары, каждая из которых смещена на спирали на  $120^\circ$  относительно соседней. Эти утолщения соответствуют глобулярным головкам молекулы миозина. Расстояние между ними около 14 нм, так что картина повторяется через каждые 43 нм. Длина утолщений около 9 нм. Толстые филаменты образуются при спонтанной ассоциации 400 молекул миозина.



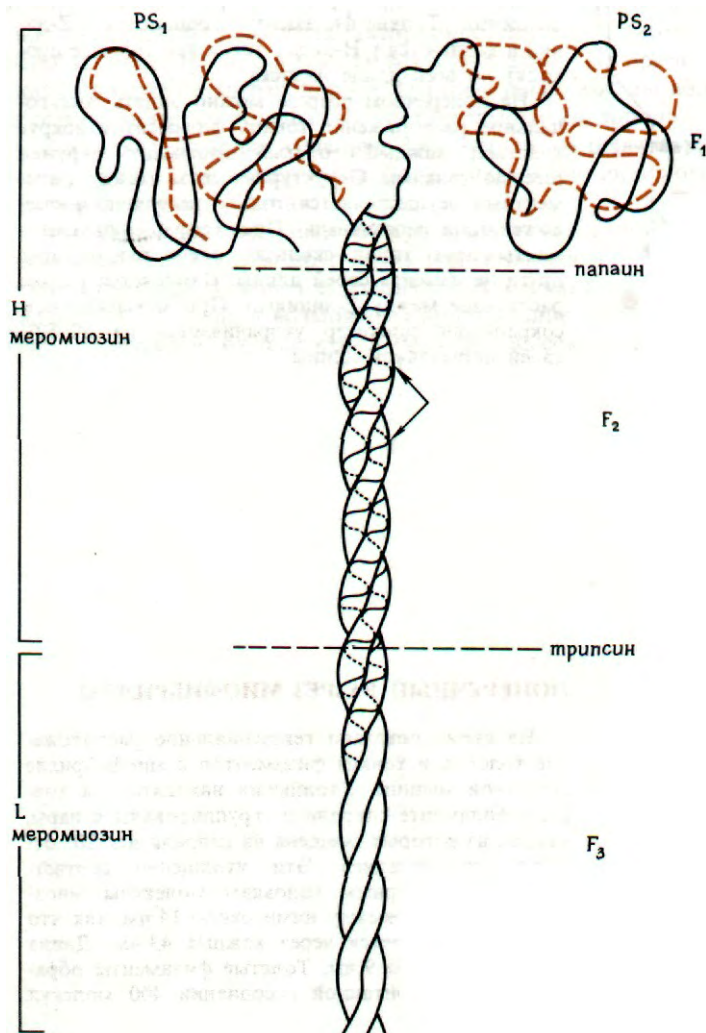
## Белковый состав скелетной мышцы

Белок	Молекулярная масса	Содержание белка, %
Миозин	460000	55-60
Актин (G)	46000	20-25
Тропомиозин	70000	4-6
Комплекс тропонина	76000	4-6
ТпТ	37000	
ТпI	21000	
ТпС	18000	
α-Актинин	180000	1-2
Другие белки (миоген)	Смесь	5-10

## БЕЛКОВЫЙ СОСТАВ СКЕЛЕТНОЙ МЫШЦЫ

Белки сократительной системы нерастворимы в воде, но их можно экстрагировать растворами солей. Растворимые белки (миоген) представляют смесь главным образом гликолитических ферментов и миоглобина.

### МИОЗИН: СХМАТИЧЕСКОЕ ИЗОБРАЖЕНИЕ МОЛЕКУЛЫ



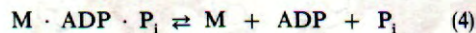
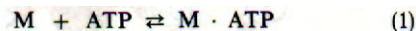
Молекула миозина асимметрична; имеет молекулярную массу 460000 и длину 160 нм. На одном из ее концов расположена глобулярная головка. Молекула состоит из двух полипептидных цепей, закрученных в α-спираль, которые взаимно проникают друг в друга и могут быть разделены в насыщенном растворе мочевины или гидрохлорида гуанидина. Головка молекулы миозина связана нековалентно еще с четырьмя полипептидными цепями.

При обработке трипсином или химотрипсином миозин расщепляется на две части, легкую и тяжелую: меромиозин L и меромиозин H. Под действием папаина (протеазы растительного происхождения) получают другие фрагменты: два из головки меромиозина H (FS<sub>1</sub>) и длинный фрагмент (F<sub>2</sub> + F<sub>3</sub>).

АТФазная активность миозина сохраняется в субфрагментах FS<sub>1</sub>. Отсюда следует, что она связана с глобулярной головкой молекулы миозина. FS<sub>1</sub> содержит SH-группы, причем модификация части SH-групп увеличивает АТФазную активность, а исчерпывающая модификация уменьшает ее.

Легкие цепи головки миозина участвуют в связывании АТФ и проявлении АТФазной активности. Концевой октапептид легкой цепи участвует в связывании АТФ.

Присоединение АТФ к миозину и его диссоциацию можно описать четырьмя уравнениями:



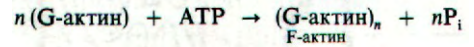
- (1) описывает присоединение АТФ к миозину;
- (2) показывает образование энергетически активной конформации миозина (M\*);
- (3) представляет само сокращение, т.е. изменение конформации головки миозина;
- (4) описывает диссоциацию продуктов реакции.

Молекулы миозина соединены в пары («хвост к хвосту») посредством М-белка.



## АКТИН

Этот белок существует в двух формах - G- и F-актин. Нитевидный F-актин является полимером G-актина. G-актин имеет  $M \sim 46000$  и состоит из одной пептидной цепи, сложенной в глобулу. Его конечная аминокислотная последовательность такова: N-ацетил-Asp-Glu-Thr. Он содержит также редкую аминокислоту  $\epsilon$ -N-метиллизин, большое количество остатков пролина и 7 остатков цистеина. Молекула G-актина может связать 1 молекулу ATP. Присоединение ATP приводит к полимеризации в F-актин с одновременным расщеплением ATP до ADP и  $P_i$ . ADP остается связанным с G-актиновыми субъединицами F-актина.



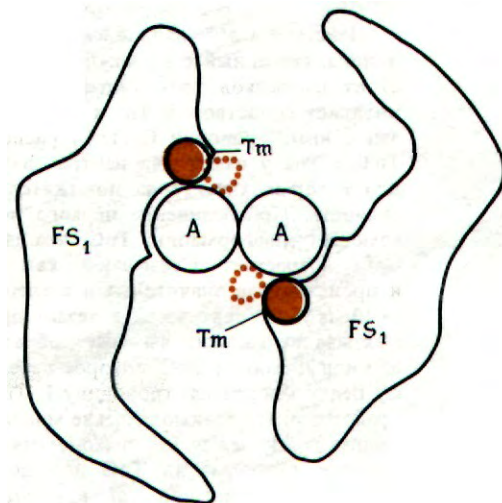
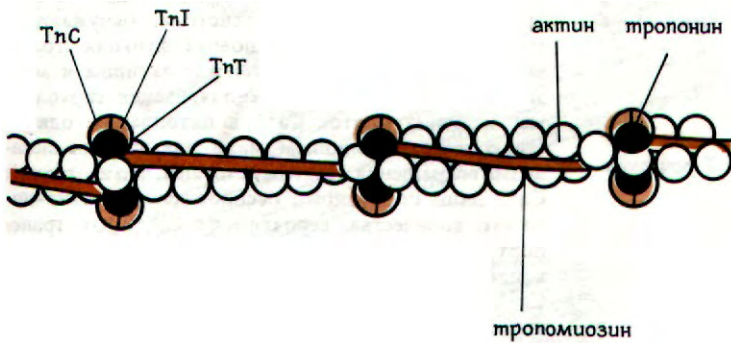
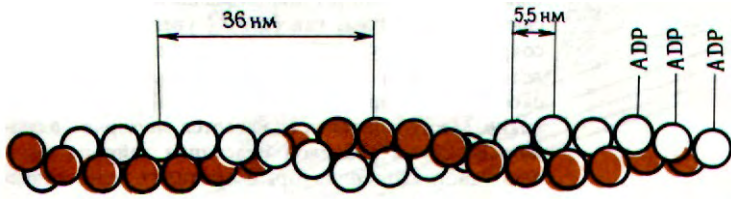
F-актин состоит из двух филаментов, скрученных в спираль. Каждый филамент образован большим числом глобулярных молекул G-актина.

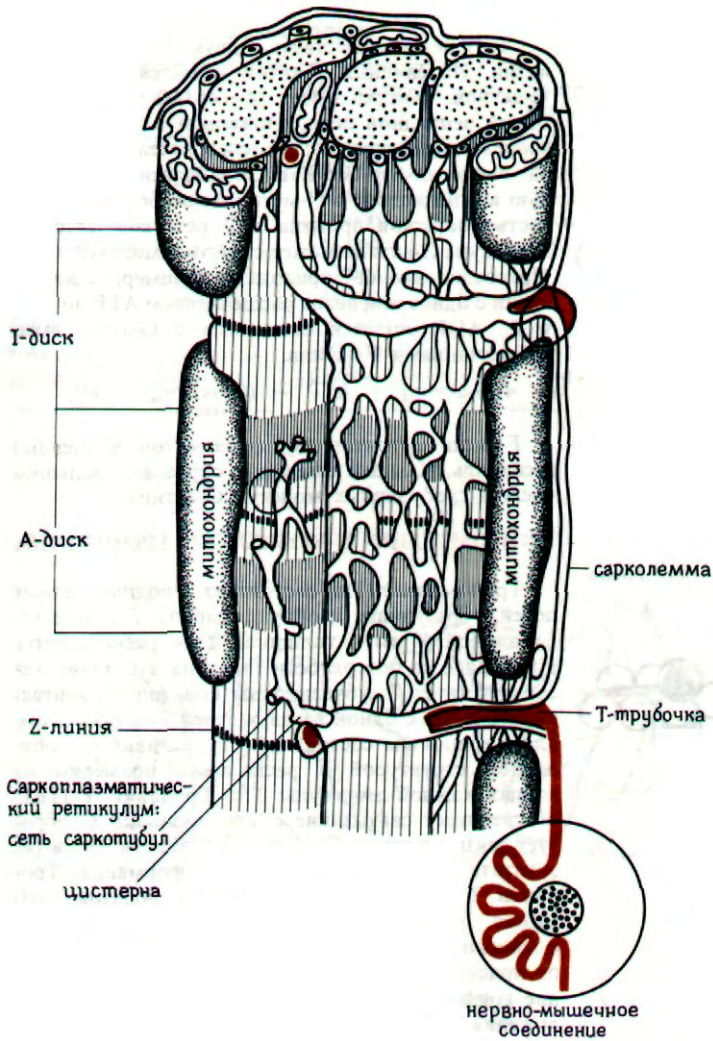
## ТРОПОМИОЗИН И КОМПЛЕКС ТРОПОНИНА

Тропомиозин (Tm) состоит из 2 полипептидных цепей, образующих двойную спираль. Его молекула длиной 40 нм и толщиной 2 нм располагается в бороздке на поверхности F-актина. По длине она соответствует 7 субъединицам G-актина и контактирует лишь с одной из двух цепей F-актина. Комплекс тропонина состоит из 3 субъединиц с глобулярной структурой и расположен примерно на концах каждой молекулы Tm. Тропонин Т (TnT) обеспечивает связывание с Tm, тропонин С образует связь с ионами  $\text{Ca}^{2+}$  на поверхности Tm, в результате чего изменяется его конформация. Тропонин I (TnI) расположен таким образом, что может предотвращать взаимодействие актина с миозином. Положение TnI переменное и зависит от присутствия  $\text{Ca}^{2+}$ . В присутствии  $\text{Ca}^{2+}$  изменение конформации TnC приводит к изменению положения TnI по отношению к актину, в результате чего последний может взаимодействовать с миозином.

## ВЗАИМНОЕ РАСПОЛОЖЕНИЕ АКТИНА И Tm

Точное пространственное расположение всех главных белков сократительной системы - необходимое условие сокращения и расслабления, а также регуляции этих процессов. Сокращение связано с образованием комплекса между актином и миозином, в котором каждая субъединица актина (A) взаимодействует с сегментом, содержащим головку миозина ( $F_1 - FS_1$ ). Расслабление происходит при прекращении этого взаимодействия. Взаимодействия актина и миозина регулируются молекулой Tm, которая находится в бороздке F-актина и может изменять свое положение в зависимости от конформации комплекса тропонина, находящегося на расстоянии 13 нм от конца молекулы Tm. Изменение конформации тропонина передается Tm, который или погружается глубже в бороздку, разрешая взаимодействие актина с  $FS_1$  миозина (на схеме изображен вид сверху актина, расположенного вдоль оси), или сдвигается к периферии субъединиц актина (пунктир), делая это взаимодействие невозможным.



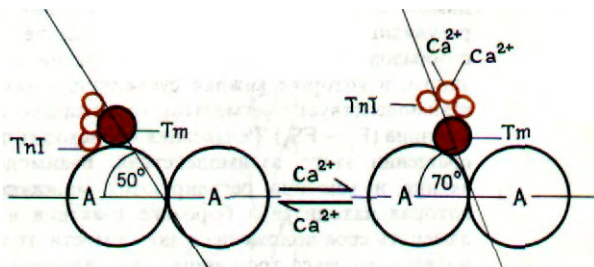


Мышечная активность контролируется нервной системой. Молекулярный механизм сокращения и расслабления регулируется  $[Ca^{2+}]$ . Таким образом, основной принцип регуляции мышечной активности связан с вопросом: как  $[Ca^{2+}]$  увеличивается при сокращении и уменьшается при релаксации. Скелетная мышца получает импульсы от нейрона, окончания которого расположены в мышечном волокне. Место контакта называется *моторной бляшкой*. Везикулы концевой пластинки нейрона выделяют ацетилхолин, который проходит через синаптическую щель, связывается с саркоплазмой и увеличивает ее проницаемость по отношению к  $Na^+$  и  $K^+$ . Импульс проходит через сарколемму, а затем систему поперечных трубочек (Т-систему) вдоль Z-пластинки к мышечному волокну. Т-система заполнена внеклеточной жидкостью и служит для быстрой передачи импульсов всему мышечному волокну. Морфологически она не связана с саркоплазматическим ретикулумом.

*Саркоплазматический ретикулум (СР)* - это внутриклеточная мембранная система, окружающая мышечные волокна. Ее основная функция - транспорт  $Ca^{2+}$  в пространство между актином и миозином и обратно в СР. Деполаризация сарколеммы вызывает приток  $Ca^{2+}$  в цитоплазму, однако его количество слишком мало для запуска механизма сокращения. Поэтому считают, что этот поток  $Ca^{2+}$  лишь стимулирует освобождение достаточного его количества, вероятно из СР. Этот транспорт представляет собой пассивную диффузию. В конце фазы сокращения и во время расслабления  $Ca^{2+}$  транспортируется обратно в СР. Этот перенос является активным и осуществляется  $Ca^{2+}$ -активируемой АТФазой в стехиометрии  $2Ca^{2+}/ATP$ . В СР ионы  $Ca^{2+}$  связаны кальсеквестрином и «белком с высоким сродством к  $Ca^{2+}$ ». Первый из них - кислый гликопротеин с  $M 45000$ , способный присоединять 45 молей  $Ca^{2+}$  на 1 моль белка. Второго - обычный белок с  $M 55000$  и связывает 25 молей  $Ca^{2+}$  на 1 моль. Оба расположены на внутренней мембране СР.

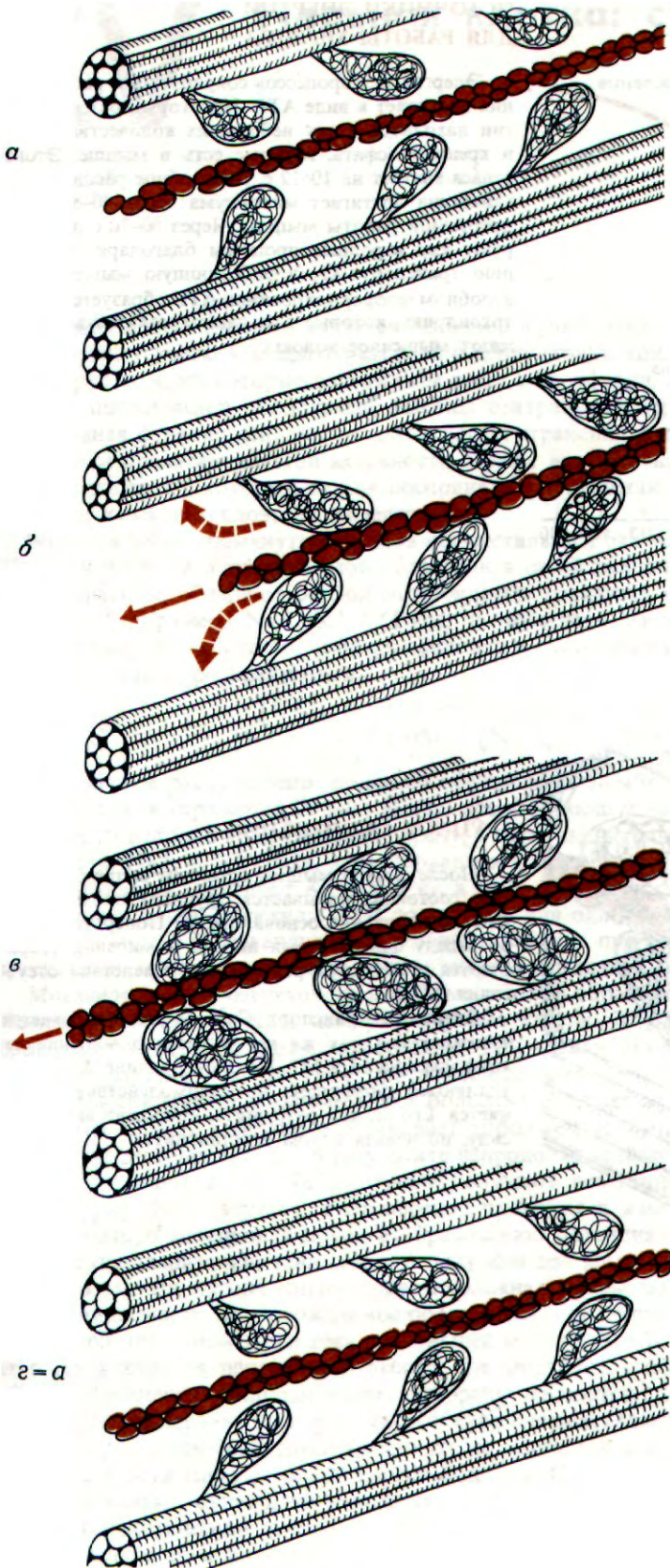
**ВЛИЯНИЕ  $Ca^{2+}$  НА КОМПЛЕКС ТРОПОНИНА**

Действие  $Ca^{2+}$  направлено на комплекс тропонина, связанный с молекулой Тм. Комплекс состоит из белков трех типов. Тропонин Т (ТпТ) обладает сродством к Тм и непосредственно связан с ним. Тропонин С (ТпС) расположен между ТпТ и ТпИ и имеет два центра связывания  $Ca^{2+}$ , для которых характерна положительная кооперативность. Присоединение первого иона  $Ca^{2+}$  так изменяет конформацию ТпС, что его сродство к  $Ca^{2+}$  возрастает. Связывание кальция обратимо и происходит в значительной степени при  $[Ca^{2+}] > 10 \text{ мкМ}$  и практически исчезает при  $< 0,1 \text{ мкМ}$ . Связывание кальция вызывает обратимое изменение конформации ТпС, которое передается третьему белку комплекса, тропонину I (ТпИ). ТпИ может предотвращать взаимодействие миозина с актином, располагаясь между  $FS_1$  и мономером актина. Изменение конформации ТпС под действием  $Ca^{2+}$  приводит к смещению ТпИ, в результате взаимодействие актин-миозин восстанавливается. Так как при присоединении  $Ca^{2+}$  смещается не только комплекс тропонина, но и связанный с ним Тм, взаимодействие актин-миозин регулируется по всей длине молекулы Тм.





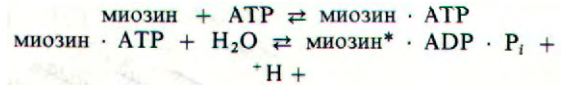
## МОЛЕКУЛЯРНЫЙ МЕХАНИЗМ СОКРАЩЕНИЯ И РАССЛАБЛЕНИЯ



Движение основано на обратимом изменении конформации концевых частей молекулы миозина, фрагментов  $FS_1$ , при котором связи между толстым филаментом миозина и тонким филаментом актина образуются, исчезают и возникают вновь. Эти связи устанавливаются между фрагментом миозина  $FS_1$  и субъединицей актина при выполнении двух условий: 1) фрагмент  $FS_1$  должен находиться в конформации, которая соответствует его удалению от оси миозинового филамента и стабилизируется ATP; 2) мономер актина должен стать доступным для взаимодействия в результате изменения положения тропонина I, который мешает взаимодействию в фазе расслабления.

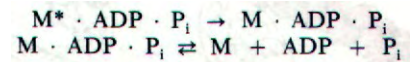
Последовательность этих изменений во времени такова. В фазе расслабления цитоплазма содержит высокую концентрацию  $Mg \cdot ATP^{2-}$  и низкую  $-Ca^{2+}$ . Взаимодействие невозможно, так как ему мешает тропонин, а, кроме того, фрагмент  $FS_1$  подтянут к миозиновому филаменту (конформация M) (a).

Затем под действием  $Mg \cdot ATP^{2-}$   $FS_1$  принимает конформацию ( $M^*$ ), в которой он удален от оси филамента и может связывать ATP (б). Этот процесс происходит в две стадии:



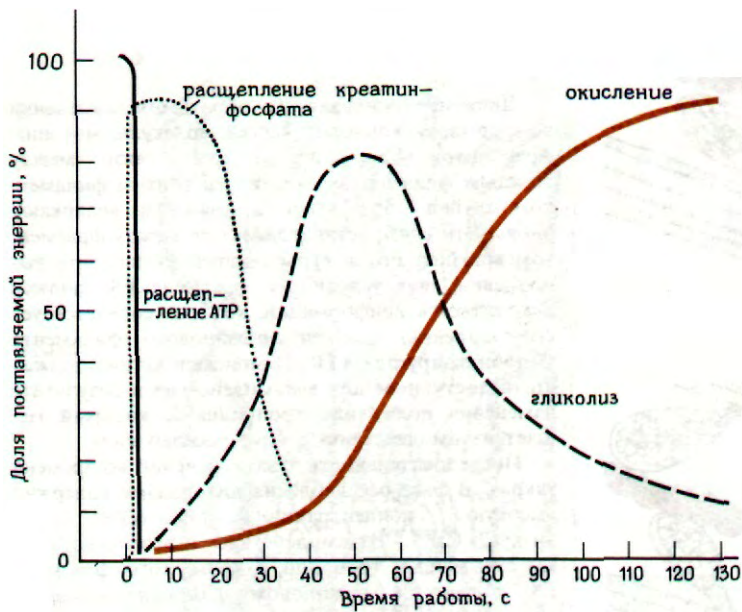
В результате миозин может участвовать в сокращении, которое начинается в тот момент, когда концентрация  $Ca^{2+}$  возрастает настолько, что становится возможным взаимодействие с актином.

После установления связи с актином миозин переходит из высокоэнергетической формы  $M^*$  в низкоэнергетическую форму M (в). Фрагмент  $FS_1$  поворачивается примерно на  $45^\circ$ , а поскольку он находится в постоянном контакте с мономером F-актина, то он перемещает его за собой на расстояние, равное длине одной субъединицы. Изменение конформации описывается следующими уравнениями:



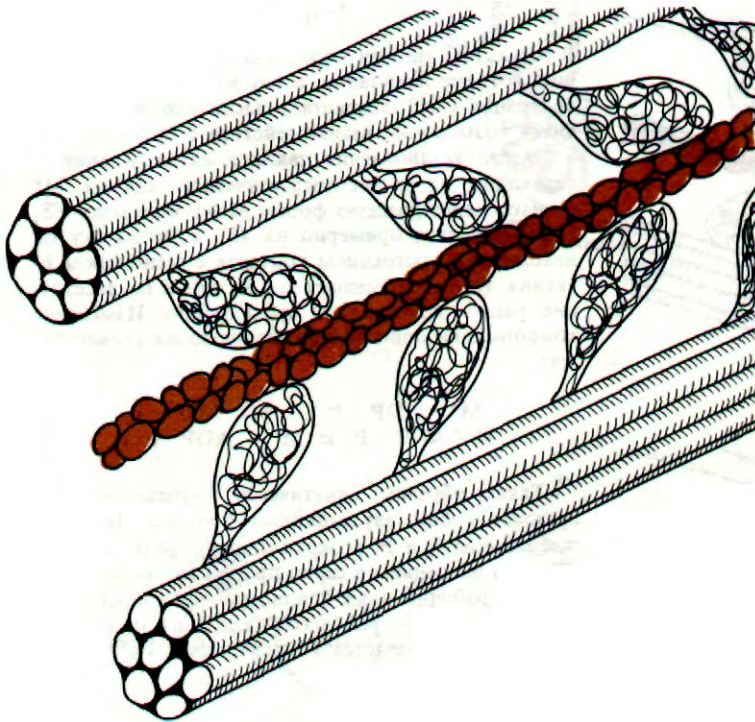
Таким образом, кинетически сокращение представляет собой двустадийный процесс. Высвобождением ADP и  $P_i$  в окружающую среду, которое является последним в серии процессов заканчивается один рабочий цикл и одновременно начинается новый (г). Частота рабочего цикла и его продолжительность определяется концентрацией  $Ca^{2+}$  и наличием ATP.





## ИСТОЧНИКИ ЭНЕРГИИ ДЛЯ РАБОТЫ МЫШЦЫ

Энергия для процессов сокращения и расслабления поступает в виде АТФ. Некоторый резерв энергии находится в тех небольших количествах АТФ и креатинфосфата, которые есть в мышце. Этого запаса хватает на 10-12 с. Анаэробное расщепление гликогена достигает максимума через 40-50 с непрерывной работы мышцы. Через 60-70 с доминируют уже аэробные процессы благодаря увеличению транспорта  $O_2$  в работающую мышцу. При аэробном фосфорилировании АТФ образуется в митохондриях, которые в большом количестве окружают мышечное волокно.



## ТРУПНОЕ ОКочЕНЕНИЕ

После смерти мышцы остаются напряженными. Это состояние называется трупным окоченением. Его молекулярная основа такова. Поперечные связи между филаментами актина и миозина сохраняются и не могут разорваться вследствие отсутствия АТФ.

Активный транспорт  $Ca^{2+}$  в СР оказывается невозможным, так же как и переход миозина из конформации М в  $M^*$ . По этой причине АDР и  $P_i$  удаляются диффузией, но взаимодействие сохраняется. Его можно разрушить, приложив внешнюю силу, но нельзя потом восстановить.

## Нервная клетка: структура и функция

# XV

Нервная клетка (нейрон) является основной функциональной единицей нервной системы. Она состоит из тела клетки, отростков (невритов-аксонов и дендритов) и концевых пластинок. Отростки представляют собой полые трубки, через которые содержимое течет к периферии. Аксоны периферических нервов покрыты миелиновой и шванновской оболочками. Аксоны центральной нервной системы не покрыты миелином.

Основная функция нейрона состоит в распространении и интегрировании кодированной информации. Элементарным проявлением этой активности служит *возбуждение*. Возбуждение является основным физиологическим процессом, который нельзя воспринять в ощущении, тем не менее он сопровождается химическими, электрическими и тепловыми изменениями.

Большая часть упомянутых свойств осуществляется благодаря особому составу *мембраны нервной клетки*. Обычный двойной липидный слой образован в своей внешней части сфинголипидами, которые, в особенности сульфатиды, обладают особой способностью создавать кольцевое окружение функциональных белковых агрегатов (например,  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФазы) и облегчать избирательный транспорт ионов через мембрану. В случае нейрона работа этого белка приводит к следующему распределению ионов между внутри- (in) и внеклеточным (out) пространствами:

$$\begin{aligned} [\text{K}^+]_{\text{in}} &= 150 \text{ мМ} & [\text{Na}^+]_{\text{in}} &= 15 \text{ мМ} & [\text{Cl}^-]_{\text{in}} &= 9 \text{ мМ} \\ [\text{K}^+]_{\text{out}} &= 4,5 \text{ мМ} & [\text{Na}^+]_{\text{out}} &= 140 \text{ мМ} & [\text{Cl}^-]_{\text{out}} &= 100 \text{ мМ} \end{aligned}$$

Неравномерное распределение ионов по обе стороны мембраны способствует образованию мембранного потенциала покоя (примерно 70 мВ). Ионы, преобладающие внутри, особенно  $\text{K}^+$ , имеют тенденцию диффундировать из нейрона в окружающую среду, а катионы натрия - проникать внутрь нервной клетки при нервной активности.  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФаза, локализованная в мембране (и называемая обычно  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -насосом), обеспечивает активный транспорт  $\text{K}^+$  в клетку, а  $\text{Na}^+$  - из клетки. Этот процесс сопровождается затратой энергии; расщепления одной молекулы АТФ достаточно для одновременного транспорта 2 ионов  $\text{K}^+$  и 3 ионов  $\text{Na}^+$ . Энергия в виде АТФ накапливается главным образом при аэробном разложении глюкозы, которая является практически единственным источником энергии в клетках центральной нервной системы.

*Миелиновая оболочка* некоторых нервных волокон образована обвивающими аксон шванновскими клетками. Миелин является остатком мембран мертвых клеток. 78% миелина составляют липиды (главным образом фосфолипиды, цереброзиды и холестерин) и 22% - белки. На основании электрофоретических свойств эти белки можно разделить на три типа: протеолипиды (гликопротеины), основные белки и белки с высокой молекулярной массой (так называемые белки Вольфрамма). Механизм их образования и особенно разрушения пока неизвестен. Состав миелина обеспечивает хорошие изолирующие свойства мембраны.

*Возбуждение* происходит в результате непродолжительного увеличения проницаемости мембраны нервной клетки для ионов  $\text{K}^+$  и  $\text{Na}^+$ , которые получают возможность перемещаться по градиенту концентрации ( $\text{K}^+$  - наружу,  $\text{Na}^+$  - внутрь). Этот перенос приводит к изменению полярности мембраны (деполяризации), т.е. изменению потенциала покоя и образованию потенциала действия величиной  $+50 - (-70) = +120$  мВ. Процесс деполяризации, занимающий одну или две миллисекунды, сопровождается генерацией тока, направленного изнутри аксона к периферии. В волокнах, покрытых миелином, он обращается и происходит изменение проницаемости, сопровождаемое образованием потенциала действия, в той области, где потенциал покоя падает под действием этого тока по меньшей мере на 20 мВ. В волокнах, покрытых миелином, ток обращается в тех местах на поверхности аксона, где миелиновая оболочка прерывается (перехваты Ранвье). Постепенные изменения проницаемости мембраны являются, следовательно, условием *передачи возбуждения*.

Фактически нервная деятельность (особенно высшая) является результатом процессов, происходящих в *синапсах*. С морфологической точки зрения это те места, где контактируют две нервные клетки и где происходит передача возбуждения от одной клетки к другой. Синапс образован мембранами двух контактирующих клеток. Эти клетки, однако, не находятся в прямом контакте, а разделены пространством (20-30 нм), называемым синаптической щелью.

*Передача возбуждения* происходит благодаря веществам определенного химического строения, называемым *медиаторами* (нейропереносчиками). Механизм передачи возбуждения таков.

1. Нервное возбуждение, распространяющееся вдоль аксона к концевым пластинкам, вызывает изменение проницаемости пресинаптической мембраны. Значительное количество молекул медиатора, которые до этого момента хранились в синаптических пузырьках концевых пластинок нерва, высвобождаются через эту мембрану в синаптическую щель.

2. Молекулы медиатора диффундируют через синаптическую щель и, достигнув постсинаптической мембраны, взаимодействуют с находящимися в ней специфическими белковыми рецепторами.

3. Взаимодействие приводит к изменению конформации рецепторов, которое передается аденилатциклазе (реже гуанилатциклазе), локализованной в постсинаптической мембране. Этот фермент синтезирует циклический АМР, который вместе со специфическими протеинкиназами, также расположенными в этой мембране, катализирует фосфорилирование определенных белков. В результате эти белки становятся заряженными более отрицательно. Так как они служат компонентами каналов для транспорта ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$ , то взаимодействие медиатора с рецептором увеличивает проницаемость для обоих катионов, что приводит к образованию в постсинаптической мембране потенциала действия.

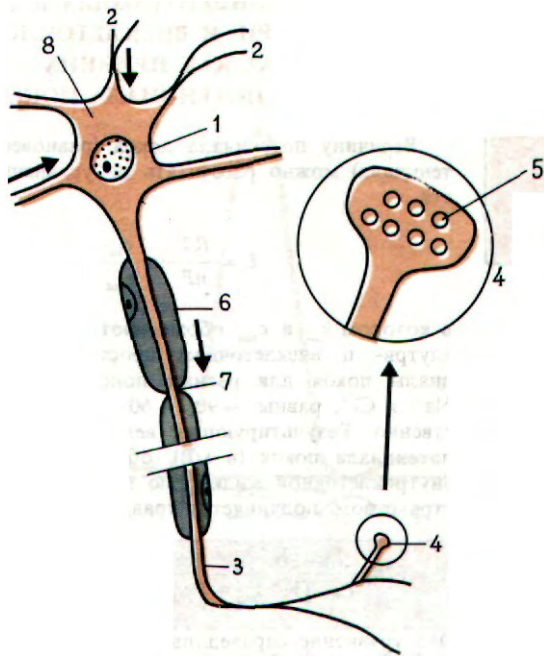
4. Избыток медиатора в синаптической щели инактивируется в результате его расщепления (например, гидролиза ацетилхолина ацетилхолинэстеразой) или химической модификации (например, метилирования адреналина катехол-О-метилтрансферазой).

Каждый тип синапса использует только определенный тип медиатора: холинэргические синапсы - ацетилхолин, адренэргические - норадреналин, допаминэргические - допамин, серотонинэргические - серотонин и т.д. Ни один из синапсов не использует два типа медиаторов. Специфичность определяется не только типом медиатора, но и химическим строением рецептора. Изучение происхождения и лечение психических и неврологических заболеваний и механизма действия болеутоляющих веществ сейчас основано на взаимодействии искусственно приготовленных веществ (лекарственных препаратов) с молекулами рецепторов.

В соответствии с их назначением синапсы делят на *возбуждающие* (передающие возбуждение) и *тормозящие* (не передающие возбуждение). Молекулярной основой их различия является неодинаковая концентрация  $\text{K}^+$  в клетках, которая в первом случае способствует, а во втором препятствует передаче возбуждения. Концентрация  $\text{K}^+$ , по-видимому, контролируется определенными медиаторами. Эффективным медиатором торможения является  $\gamma$ -аминомасляная кислота.

*Высшая нервная деятельность* основана на сложном взаимодействии примерно  $10^{10}$  нейронов мозга, которое связано с существованием до  $10^{13}$  взаимных контактов. Важным следствием этой деятельности является формирование памяти, в которой полученная информация хранится и время от времени дополнительно обрабатывается путем логических операций. Согласно современным теориям, возникновение памяти связано с синтезом новых типов белков, которые хранятся в определенных клетках серого вещества мозга.



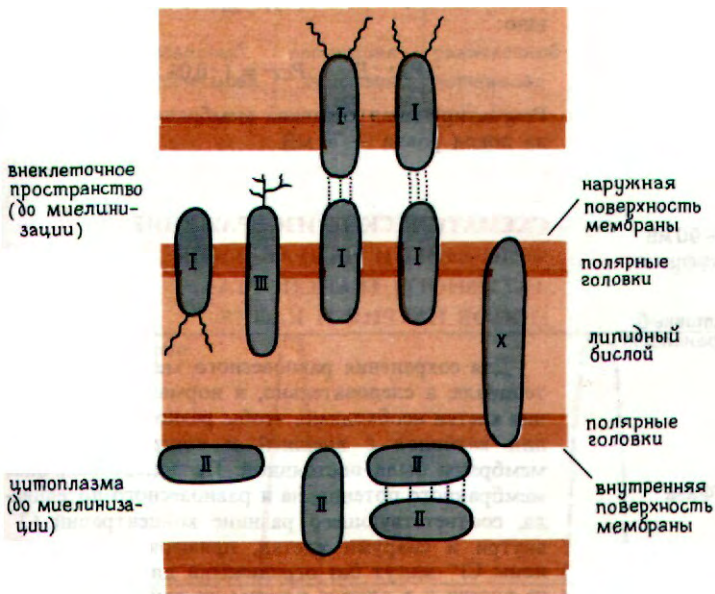


## НЕЙРОН

Нейрон служит морфологической и функциональной единицей нервной ткани. Он состоит из тела 1, отростков, называемых дендритами 2 и аксонами 3, и концевых пластинок 4. Дендриты передают возбуждение к нейрону, а аксоны - к периферии. Отростки по сути дела представляют собой полые трубки, образованные мембраной и наполненные цитоплазмой, которая течет внутри аксона по направлению к концевым пластинкам. Цитоплазма увлекает с собой белки (ферменты), образовавшиеся в структурах гранулярного эндоплазматического ретикулума (вещество Ниссля 8) и катализирующие синтез медиаторов в концевых пластинках. Медиаторы запасаются в синаптических пузырьках 5. Будучи окруженными мембраной, медиаторы биологически инертны. Аксоны некоторых нейронов защищены с поверхности миелиновой оболочкой 6, образованной шванновскими клетками, обвивающими аксон. Места, в которых он не покрыт миелиновой оболочкой, называются *перехватами Ранвье* 7.

## МИЕЛИН

Миелин представляет собой сложную смесь липидов и белков, получающуюся в результате не совсем понятного превращения цитоплазматических мембран шванновских клеток. Липиды составляют 78% миелина по весу, и их состав представлен в следующей таблице:

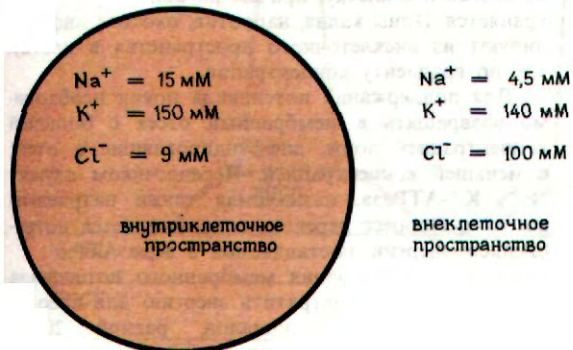


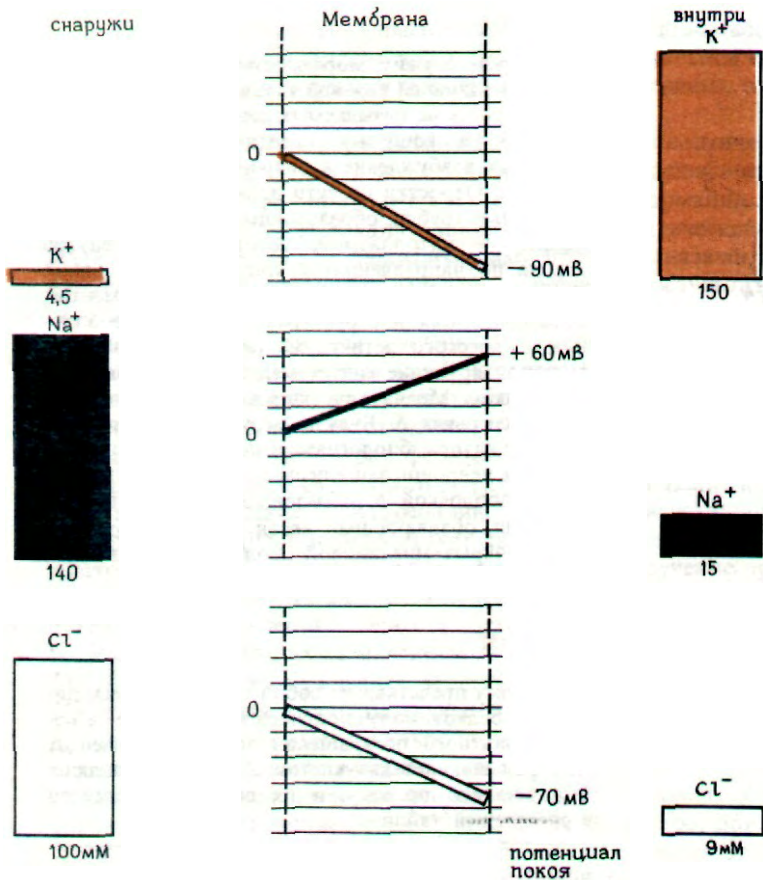
Липид	Количество липида в миелине, мкмоль/мг
Холестерин	0,775
Цереброзид	0,248
Лецитин	0,116
Кефалин	0,156
Плазмалоген	0,236
Триацилглицерины	—
Эфиры холестерина	—

Белки можно разделить на три группы: протеолипиды гликопротеиновой природы (I) с молекулярной массой 25000; основные белки (II), называемые также энцефалитогенными белками, с молекулярной массой 18000, и так называемый белок Вольфрамма (III) (пара белков с молекулярными массами 54000 и 62000). Их ориентация в пространстве приведена на схеме.

## КОНЦЕНТРАЦИЯ ИОНОВ ВО ВНУТРИ- И ВНЕКЛЕТОЧНОМ ПРОСТРАНСТВАХ

Биологические функции живых объектов зависят от присутствия и концентрации ионов в биологических жидкостях. Следовательно, важно, чтобы и тип, и концентрация ионов сохранялись постоянными внутри данного пространства. Это постоянство обеспечивается за счет динамического равновесия между выходом ионов наружу и их поступлением извне. Неравномерное распределение ионов приводит к возникновению мембранного потенциала.





## РАЗЛИЧИЯ В КОНЦЕНТРАЦИЯХ $K^+$ , $Na^+$ и $Cl^-$ ВО ВНУТРИ- И ВНЕКЛЕТОЧНОМ ПРОСТРАНСТВАХ КАК ПРИЧИНА ОБРАЗОВАНИЯ ПОТЕНЦИАЛА ПОКОЯ

Величину потенциала покоя (равновесного потенциала) можно рассчитать по уравнению Нернста

$$E = \frac{RT}{nF} \ln \frac{c_{in}}{c_{out}}$$

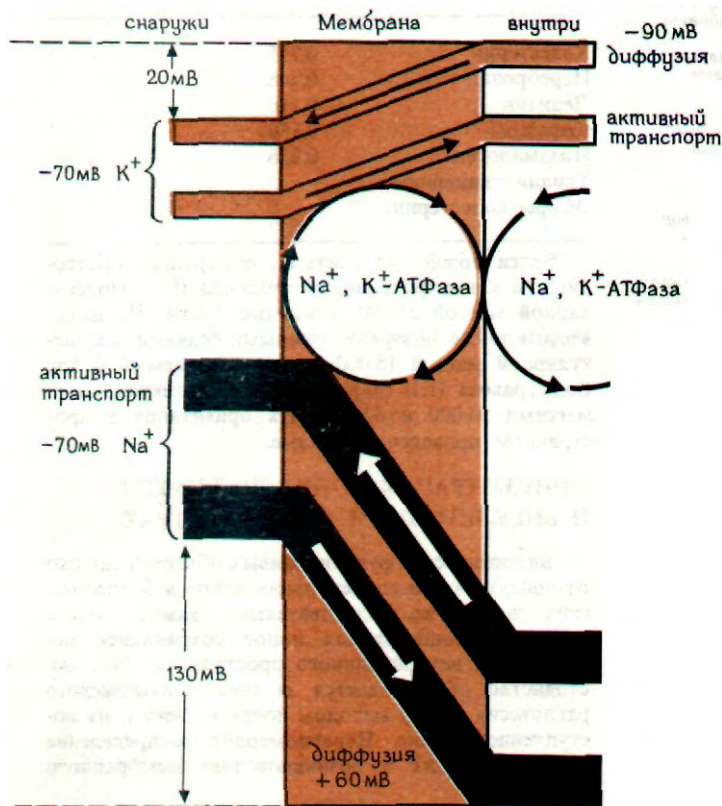
в котором  $c_{in}$  и  $c_{out}$  обозначают концентрации во внутри- и внеклеточном пространствах. Потенциалы покоя для разных ионов, например  $K^+$ ,  $Na^+$  и  $Cl^-$ , равны  $-90$ ,  $+60$  и  $-70$  мВ соответственно. Результирующая величина мембранного потенциала покоя (в мВ), образующегося между внутриклеточной жидкостью и внеклеточным пространством, подчиняется уравнению Гольдмана

$$\Psi = 62 \lg \frac{P_{K^+} [K^+]_{in} + P_{Na^+} [Na^+]_{in} + P_{Cl^-} [Cl^-]_{in}}{P_{K^+} [K^+]_{out} + P_{Na^+} [Na^+]_{out} + P_{Cl^-} [Cl^-]_{out}}$$

Это уравнение справедливо при экспериментально подтвержденном условии, что относительные проницаемости удовлетворяют следующему отношению:

$$P_{K^+} : P_{Na^+} : P_{Cl^-} = 1:0,04:0,45$$

Результирующая величина мембранного потенциала покоя равна  $-70$  мВ.



## СХЕМАТИЧЕСКОЕ ИЗОБРАЖЕНИЕ ВЕЛИЧИНЫ И НАПРАВЛЕНИЯ АКТИВНОГО ТРАНСПОРТА ИОНОВ НАТРИЯ И КАЛИЯ

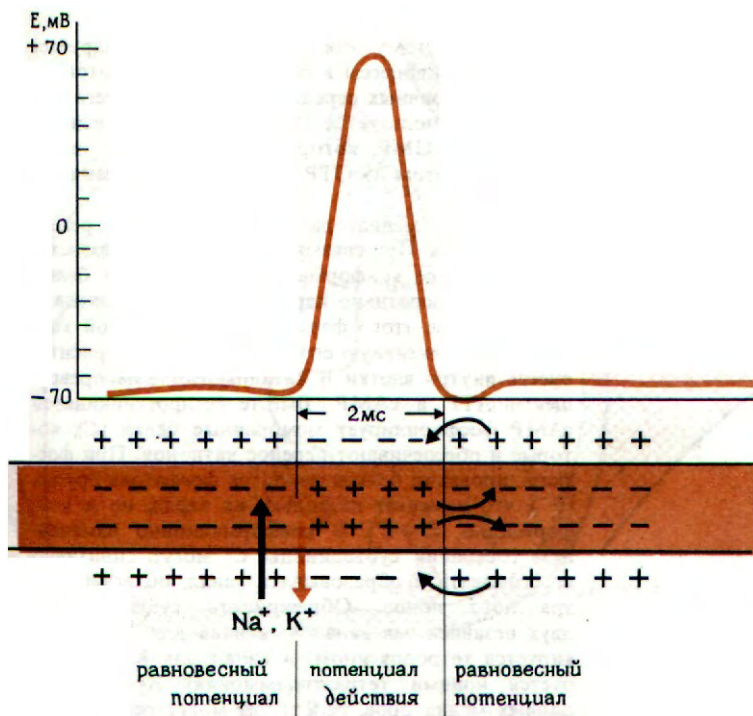
Для сохранения равновесного мембранного потенциала, а следовательно, и нормального состояния клетки необходимо, чтобы разность концентраций катионов с внешней и внутренней сторон мембраны была постоянной. Поскольку величины мембранного потенциала и равновесного потенциала, соответствующего разнице концентраций  $Cl^-$  внутри и снаружи клетки, примерно одинаковы, ионы  $Cl^-$  могут без ограничений диффундировать из клетки и в клетку, причем их концентрация сохраняется. Ионы калия, напротив, охотнее диффундируют из внеклеточного пространства в клетку, т.е. по градиенту концентрации.

Для поддержания потенциала покоя необходимо возвращать в мембранный отсек с большей концентрацией ионы, диффундировавшие в отсек с меньшей концентрацией. Переносчиком служит  $Na^+$ ,  $K^+$ -АТФаза, называемая также натриевым насосом. Процесс переноса сопровождается потреблением энергии, поставляемой в виде АТФ.

Из-за существования мембранного потенциала покоя необходимо затратить энергию для преодоления разности потенциалов, равной  $20$  мВ [ $-90$  мВ  $- (-70$  мВ)] для  $K^+$  и  $130$  мВ [ $+60$  мВ  $- (-70$  мВ)] для  $Na^+$ .



## ПРОИСХОЖДЕНИЕ ПОТЕНЦИАЛА ДЕЙСТВИЯ, ПРОХОЖДЕНИЕ НЕРВНЫХ ИМПУЛЬСОВ



Возбуждение нерва временно вызывает резкое возрастание проводимости мембраны нервного волокна для ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$ , приводящее к возникновению так называемого *потенциала действия*. Изменение проницаемости мембраны происходит в результате изменения заряда и конформации белковых молекул, образующих отдельные каналы для транспорта  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$ . Исходная отрицательная величина потенциала покоя ( $-70$  мВ) меняется на положительную (от  $+50$  до  $170$  мВ). Это происходит потому, что избыток ионов  $\text{Na}^+$  проникает через мембрану снаружи внутрь клетки, а избыток ионов  $\text{K}^+$  с небольшим запозданием по другому каналу переходит в обратном направлении. Изменение отношения их концентраций приводит к изменению знака потенциала. Величина потенциала действия равна алгебраической сумме потенциала покоя и потенциала, образованного движением двух ионов:  $+70$  мВ (или  $50$  мВ) —  $(-70$  мВ) =  $+140$  мВ (или  $120$  мВ).

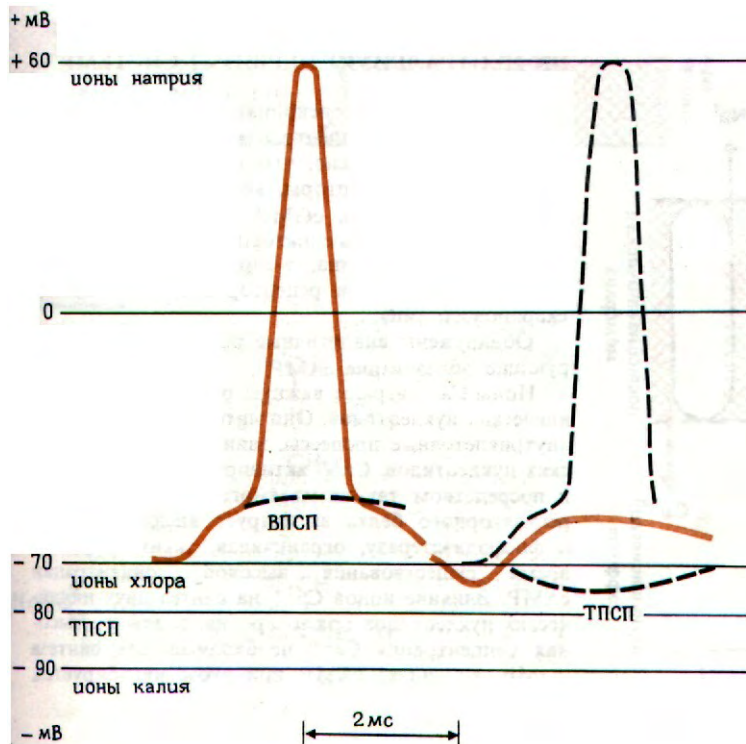
Потенциал действия сохраняется примерно  $10$  мс, из которых  $1-2$  мс приходится на соответствующий пиковый потенциал, после чего происходит восстановление исходного состояния в результате активного транспорта  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$ .

Электрический ток, генерируемый потенциалом действия, направлен через тело нейрона к периферийному участку, который сохраняет исходную проницаемость, далее через мембрану и обратно вдоль ее внешней поверхности. Так вызывается изменение проницаемости соседнего участка и происходит передача импульса вдоль нейрона. В результате возбуждение передается к синапсу.

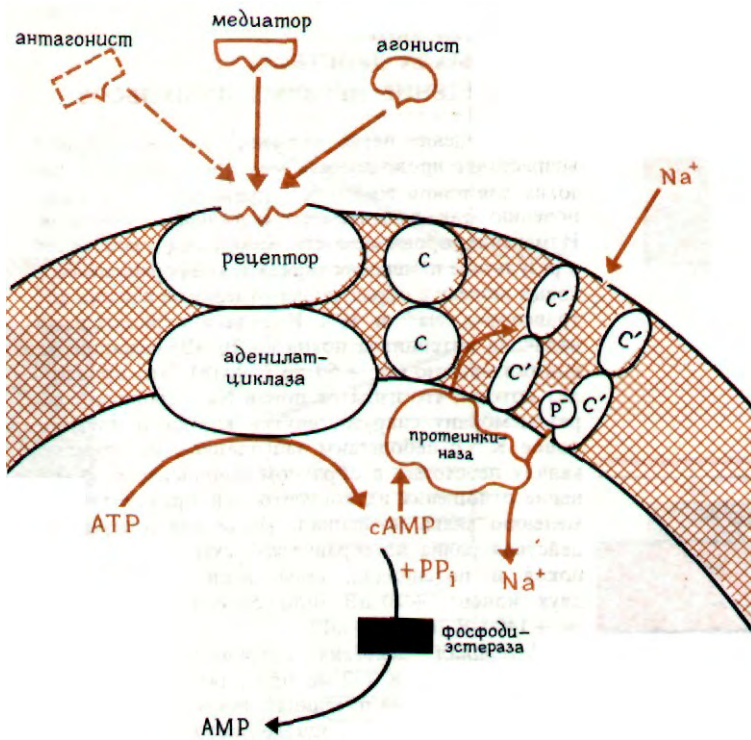
## МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ ОБРАЗОВАНИЯ ВОЗБУЖДАЮЩЕГО И ТОРМОЗНОГО ПОСТСИНАПТИЧЕСКИХ ПОТЕНЦИАЛОВ

*Возбуждающий постсинаптический потенциал* (ВПСП) возникает, когда под действием внешнего возбуждения или медиатора происходит изменение проницаемости для  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$ , проявляющееся изменением потенциала покоя по меньшей мере на  $20$  мВ (т. е. от  $-70$  мВ до  $-50$  мВ). К медиаторам возбуждения относятся ацетилхолин, норадреналин и серотонин.

*Тормозной постсинаптический потенциал* (ТПСП) возникает, когда под действием медиатора торможения, т. е.  $\gamma$ -аминомасляной кислоты, ионы  $\text{K}^+$  накапливаются внутри нейрона в результате активного транспорта до тех пор, пока величина потенциала покоя не снизится до  $-90$  мВ. Если в такую клетку ввести стимулятор, который посредством транспорта  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  изменит потенциал покоя на  $20$  мВ (до  $-70$  мВ), то его величина будет недостаточна для образования потенциала действия, поскольку он требует изменения концентрации ионов, эквивалентного по меньшей мере  $-50$  мВ. В этом случае клетка или ее синаптический комплекс теряет способность передавать возбуждение, и мы имеем дело с тормозным синапсом.



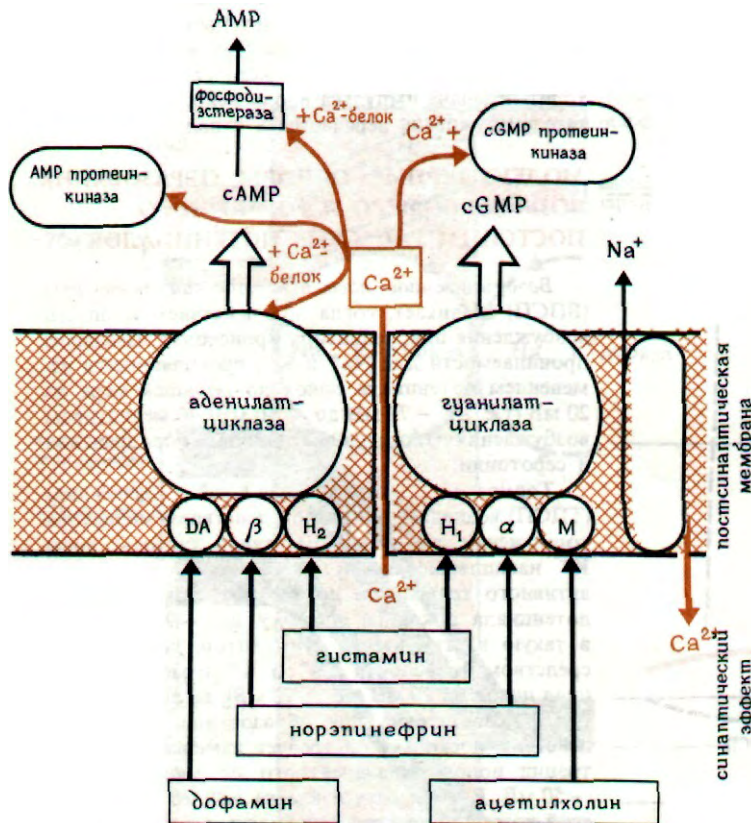




## МЕХАНИЗМ ВЛИЯНИЯ МЕДИАТОРОВ НА СИНАПСЫ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ (ЦНС)

Подобно тому как метаболизм регулируется гормонами, процессы в синапсах регулируются системой «вторичных передатчиков». Чаще всего для этой цели используется сАМР (хотя может использоваться и сGMP, который синтезируется аналогичным образом из GTP под действием гуанилатциклазы).

Действие медиатора направлено на рецепторный белок. При связывании медиатора происходит изменение конформации рецепторного белка, которое кооперативно передается аденилатциклазе. При переходе этого фермента из неактивной конформации в активную его активный центр ориентируется внутрь клетки и катализирует там превращение АТФ в сАМР. Вместе с протеинкиназой сАМР фосфорилирует мембранные белки (С), которые и обеспечивают перенос катионов. При фосфорилировании белков вводится фосфатная группа (Р'), что изменяет не только их заряд, но и конформацию (С→С'). В конформационно измененном состоянии субъединицы С' могут спонтанно агрегировать и образовывать канал, облегчающий транспорт ионов. Общепринято существование двух независимых каналов: канала для Na<sup>+</sup> (блокируется тетродоксином) и канал для K<sup>+</sup> (блокируется ионами тетраэтиламмония). Кроме природных медиаторов, рецепторы могут реагировать с веществами, приготовленными синтетически. В соответствии с их природой эти синтетические вещества или имитируют (агонисты) или ингибируют (антагонисты) действие медиаторов при взаимодействии с рецептором.



## ВЛИЯНИЕ ЦИКЛИЧЕСКИХ НУКЛЕОТИДОВ НА ЦЕНТРАЛЬНУЮ НЕРВНУЮ СИСТЕМУ

Кроме сАМР в нейронах ЦНС содержится сGMP, хотя его концентрация значительно ниже. Постепенно стало ясно, что в постсинаптической мембране есть рецепторы, которые специфически увеличивают уровень сGMP при взаимодействии с соответствующим медиатором. К ним относятся H<sub>1</sub>-рецептор гистамина, α-адренэргический рецептор норадреналина и рецептор ацетилхолина мускаринового типа.

Обнаружены аналогичные рецепторы, стимулирующие образование сАМР.

Ионы Ca<sup>2+</sup> играют важную роль в действии циклических нуклеотидов. Они интенсивно влияют на внутриклеточные процессы, зависящие от циклических нуклеотидов. Ca<sup>2+</sup> активирует протеинкиназы и посредством так называемого Ca<sup>2+</sup>-зависимого регуляторного белка активирует аденилатциклазу и фосфодиэстеразу, ограничивая, таким образом, время существования высокой концентрации сАМР. Влияние ионов Ca<sup>2+</sup> на синтез двух циклических нуклеотидов прямо противоположно. Высокая концентрация Ca<sup>2+</sup> необходима для синтеза сGMP, но синтез сАМР при этом ингибируется.

## ХОЛИНЭРГИЧЕСКАЯ ПРОВОДИМОСТЬ

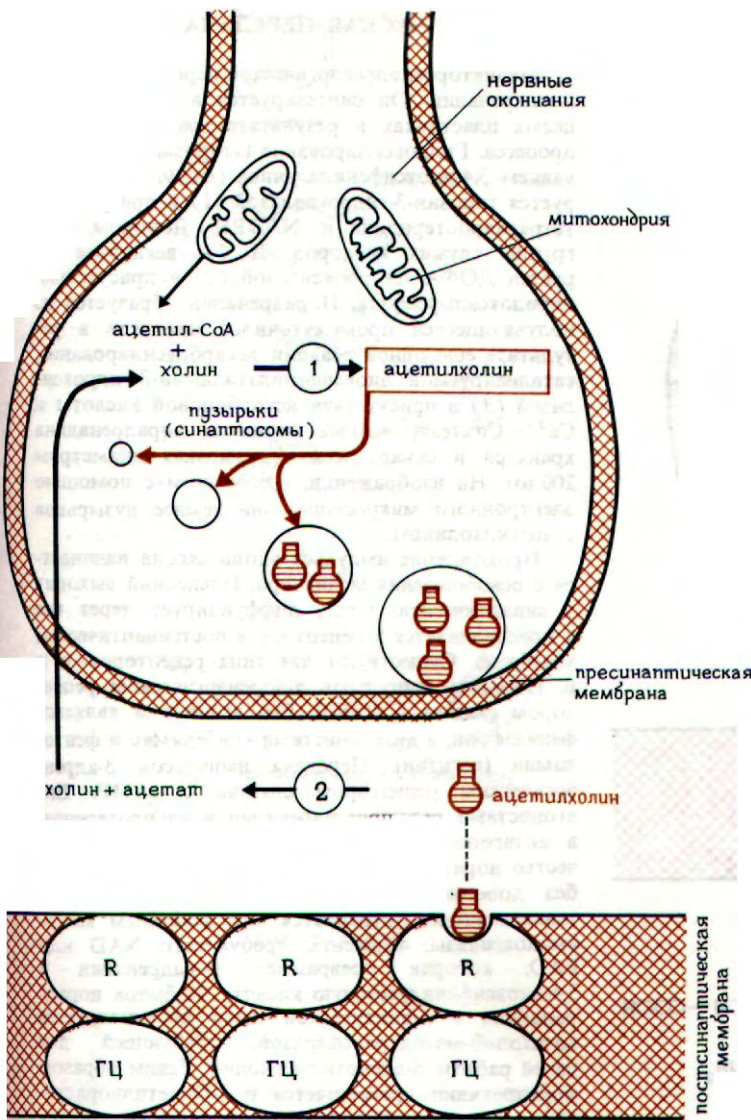
Медиатором холинэргической проводимости служит ацетилхолин (АХ). Он синтезируется в концевых пластинках нерва под действием холин-ацетилтрансферазы (1), которая транспортируется в концевые пластинки эндоплазматического ретикулума. Синтезированный ацетилхолин хранится в синаптических пузырьках. Пузырьки имеют диаметр около 50 нм и содержат примерно  $4 \cdot 10^4$  молекул ацетилхолина (концентрация 0,5 М). Высвобождение ацетилхолина из пузырьков происходит порциями в ответ на возбуждение, передаваемое от аксона. Один импульс вызывает выделение приблизительно 100–200 порций медиатора. Запаса ацетилхолина хватает для 2500–5000 импульсов. После исчерпания его запаса мембраны пузырьков повторно заполняются вновь синтезированными молекулами АХ. Холин, получающийся при расщеплении ацетилхолина, используется для его повторного синтеза, описанного далее.

После освобождения в синаптическую щель, ацетилхолин пересекает ее посредством диффузии. Рецепторные белки (R) находятся в противоположной постсинаптической мембране. Белки-рецепторы ацетилхолина бывают двух типов: мускаринового (медленного) и никотинового (быстрого). Как показывают их названия, эти белки активируются соответственно мускарином и никотином. Их роль заключается в передаче импульса постсинаптической мембране. Этот процесс оказывается возможным благодаря увеличению проницаемости мембраны для  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$ . В случае рецепторов мускаринового типа в процессе участвует cGMP [который синтезируется из GTP под действием гуанилатциклазы (ГЦ)].

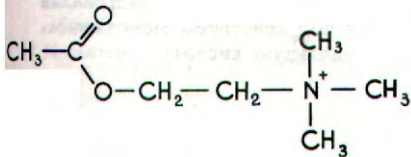
Наряду с активаторами рецепторных белков известны и их ингибиторы: для рецепторов мускаринового типа это атропин, а для рецепторов никотинового типа – суцинилхолин, D-тубокурарин (яд для окончаний стрел) и  $\alpha$ -бунгаротоксин (змеиный яд). Число рецепторов в нервно-мышечном синапсе было определено с помощью змеиного токсина и оказалось равным 13000 на квадратный микрон. Избыток ацетилхолина в районе синаптической щели вызывал бы постоянную передачу импульсов, но так как это нежелательно, его избыток разлагается под действием специфической гидролазы, ацетилхолинэстеразы (2). Гидролаза расщепляет ацетилхолин до ацетата и холина, которые затем транспортируются обратно в нервные окончания и используются для ресинтеза.

Карбаматы и метансульфонаты обладают ингибирующим действием на ацетилхолинэстеразу. Высокая токсичность органических производных фосфора (например, диизопропилфторфосфата) объясняется образованием прочной связи с ацетилхолинэстеразой и блокированием ферментативного гидролиза избытка ацетилхолина.

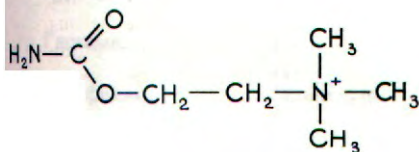
Одно из наиболее ядовитых соединений, ботулотоксин, блокирует выход ацетилхолина из пузырьков.



ацетилхолин:

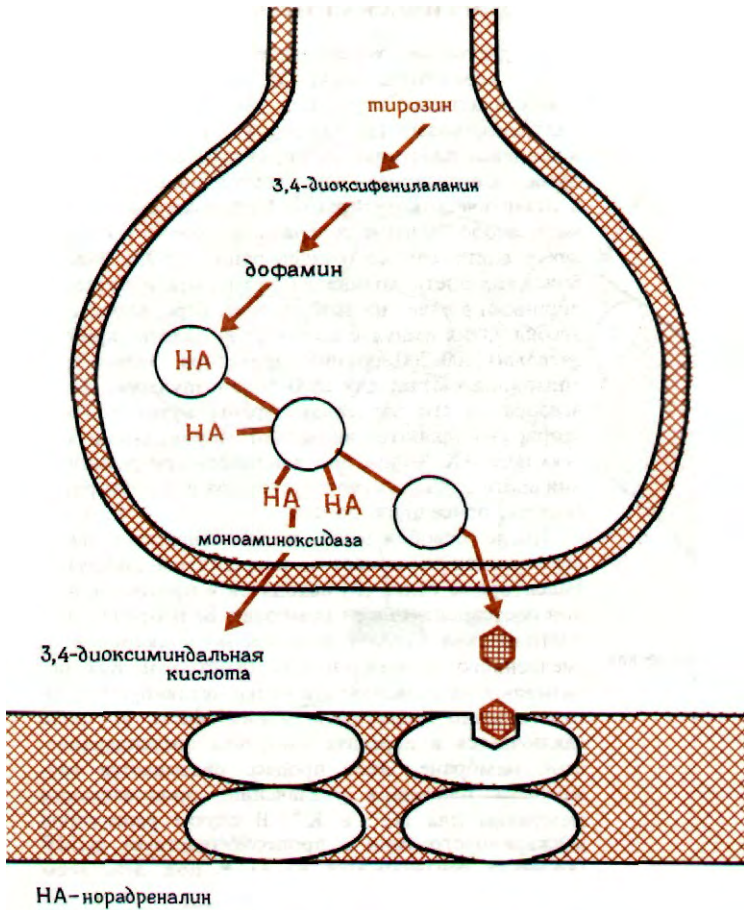


карбамоилхолин:

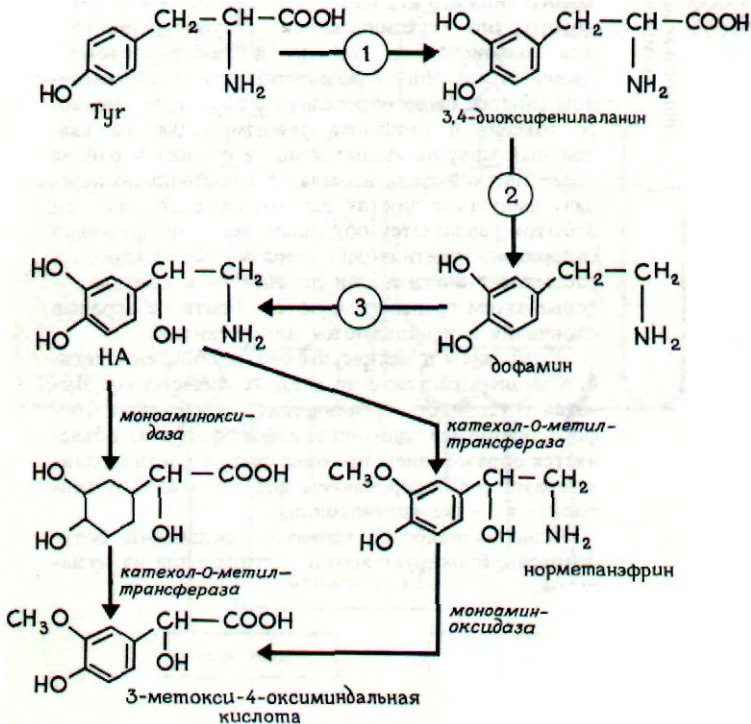




## АДРЕНЭРГИЧЕСКАЯ ПЕРЕДАЧА



НА — норадреналин



Медиатором адренэргической передачи является норадреналин. Он синтезируется в нервных концевых пластинках в результате многостадийного процесса. Гидроксилирование L-тирозина с образованием 3,4-диоксифенилаланина (ДОФА) катализируется тирозин-3-гидроксилазой (1) в присутствии тетрагидроптеридина и NADPH. Донором ОН-группы служит кислород. ДОФА декарбоксилируется ДОФА-декарбоксилазой (2) в присутствии пиридоксальфосфата. Норадреналин образуется из получающегося промежуточного продукта в результате еще одной реакции декарбоксилирования, катализируемой диоксифенилэтиламин-β-гидроксилазой (3) в присутствии аскорбиновой кислоты и  $\text{Ca}^{2+}$ . Синтезированные молекулы норадреналина хранятся в синаптических пузырьках диаметром 200 нм. На изображении, полученном с помощью электронного микроскопа, они темнее пузырьков с ацетилхолином.

Прохождение импульса вдоль аксона начинается с освобождения медиатора. Последний выходит в синаптическую щель, диффундирует через нее и присоединяется к рецептору в постсинаптической мембране. Существуют два типа рецепторов - α и β. Передача импульсов α-адренэргическим рецептором связана с cGMP. Его агонистом является фенилэфрин, а антагонистами - дибенамин и фентоламин (регитин). Передача импульсов β-адренэргическим рецептором связана с cAMP. Его агонистами являются адреналин и изопроterenол, а антагонистом - пропранолол. Небольшое количество норадреналина диффундирует из пузырьков без дополнительных воздействий. Эта нежелательная утечка устраняется под действием моноаминоксидазы, фермента, требующего NAD или FAD, которая превращает норадреналин в 3,4-диоксифенилуксусную кислоту. Избыток норадреналина в синаптической щели инактивируется катехол-О-метилтрансферазой, требующей для своей работы S-аденозилметионин. Таким образом норадреналин превращается в 3-О-метилнорадреналин (норметанэфрин), который далее окисляется в печени под действием моноаминоксидазы до 3-метокси-4-оксиминдальной (ванилилминдальной) кислоты. Эта кислота выводится с мочой.

Для полноты картины необходимо сказать, что этот же конечный продукт образуется из адреналина. Под действием катехол-О-метилтрансферазы адреналин превращается в 3-О-метиладреналин (метанэфрин), а затем под действием моноаминоксидазы в ванилилминдальную кислоту.

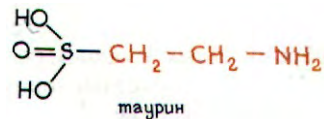
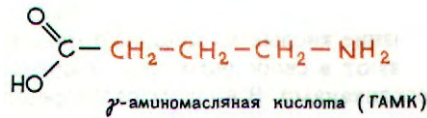
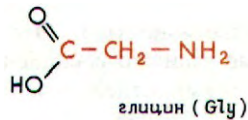
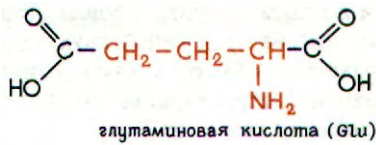
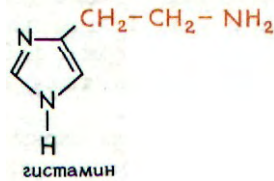
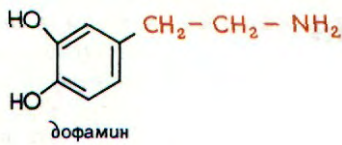


## НЕКОТОРЫЕ ДРУГИЕ МЕДИАТОРЫ

Кроме двух основных медиаторов известны также ряд других: дофамин, серотонин (5-окситриптамин),  $\gamma$ -аминобутират, гистамин, глицин, глутамат, таурин и т. п. Формулы, механизм действия и антагонисты основных из них приведены в таблице.

Изучение механизма действия наркотиков основано на предположении, что они являются соединениями, конкурирующими с природными медиаторами, которые, взаимодействуя с опиатным рецептором, оказывают обезболивающее действие. Эти предполагаемые медиаторы были названы энкефалинами. Недавно они были действительно выделены и синтезированы. Ими оказались два пептида следующего строения:

H-Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu-OH (лейциновый тип) и  
H-Tyr-Gly-Gly-Phe-Met-OH (метиониновый тип).



Медиатор	Тип рецептора	Взаимосвязь с		Агонисты	Антагонисты
		cAMP	cGMP		
Дофамин	Дофаминовый	Да	Нет	Апоморфин	Хлорпромазин и препараты против шизофрении
Серотонин	Серотониновый	Да	Нет	5-Метокси-N,N-диметилтриптамин	ЛСД
Гистамин	H <sub>1</sub>	Нет	Да?	2-Метилгистамин	Дифенгидрамин
Энкефалин	H <sub>2</sub>	Да	Нет	Бетазол	Циметидин
	Опиатный	Да	?	Морфин	Налоксан
				Героин	

## XVI

Соединительная ткань имеет мезенхимальное происхождение и состоит из клеток и межклеточного материала, образованного главным образом фибриллярными белками и основным веществом.

Она есть во всех органах и служит для их образования и исправления повреждений. В некоторых тканях ее значение весьма велико не только в структурном, но и функциональном плане. К этим тканям относятся сухожилия, хрящи, кости, кожа и стенки крупных кровеносных сосудов. Все они содержат фибриллярные белки и основное вещество, но их качественное и количественное соотношение может меняться, что, по-видимому, и объясняет принципиальное различие их свойств.

При осторожном выделении и очистке можно получить основные высокомолекулярные компоненты соединительной ткани. Фибриллярные белки представлены коллагеном и эластином. Коллаген образует нити (фибриллы) различной толщины. Расположение нитей определяет их функцию, которая состоит главным образом в придании тканям прочности на разрыв. Коллагеновые нити образованы субъединицами, называемыми тропоколлагеном, которые расположены регулярным образом и взаимно ориентированы как в продольном, так и поперечном направлении. Молекула тропоколлагена состоит из трех цепей двух видов:  $\alpha_1$  и  $\alpha_2$ , которые образуют тройную спираль. Каждая цепь образована примерно 1000 остатками аминокислот, среди которых присутствуют оксипролин и оксилизин. Известна первичная структура цепей. Существуют четыре генетически разные типа коллагена, различающиеся своими  $\alpha$ -цепями; тип I [ $(\alpha_1)_2\alpha_2$ ], тип II  $(\alpha_1\text{II})_3$ , тип III  $(\alpha_1\text{III})_3$  и тип IV  $(\alpha_1\text{IV})_3$ . Тип I обнаружен в сухожилиях, тип II - в хряще, тип III характерен для коллагена в патологически измененных тканях и тип IV найден в базальных мембранах.

В отличие от коллагена эластин образует структуру с характерной эластичностью. Это объясняется особой трехмерной упаковкой мономеров эластина (проэластина), которые взаимно соединены поперечными ковалентными связями. Они возникают в результате конденсации боковых цепей лизина двух-четырёх звеньев проэластина с образованием полифункциональных аминокислот десмозина и изодесмозина. Эти связи настолько прочны, что не разрушаются при кислотном гидролизе. Считается, что на пространственную организацию субъединиц проэластина в волокне влияют структурные гликопротеины.

Основное вещество образовано соединениями, получившими название кислых мукополисахаридов. Недавние исследования показали, что в тканях эти соединения не существуют в свободном виде, а присоединены ковалентной связью к белкам. По этой причине их называют протеогликанами. В водном растворе они образуют гели и в ткани заполняют пространство между клетками. Они сильно гидратированы и содержат много  $\text{Na}^+$ . Некоторые полимерные молекулы удалось выделить и охарактеризовать. К ним относятся гиалуроновая кислота, хондроитинсульфат, гепаритинсульфат, дерматансульфат и кератансульфат. Они представляют собой линейные полимеры, построенные из разных дисахаридных единиц, образованных уроновыми кислотами (глюкуроновой, галактуроновой и идуроновой), N-ацетилгексозаминами (N-ацетилглюкозамином и N-ацетилгалактозамином) и нейтральными сахарами (галактозой, маннозой и ксилозой). В некоторых случаях гидроксильные группы каждого дисахарида этерифицированы серной кислотой. Свободные карбоксильные и сульфогруппы, несущие отрицательный заряд, распределены более или менее равномерно по всей макромолекуле и определяют биологические свойства этих соединений.

Еще одним компонентом соединительной ткани являются гликопротеины, которые представляют собой сложные белки с различным числом ковалентно присоединенных олигосахаридных цепей. Эти цепи обычно связаны с остатками Ser (Thr) или Asn и содержат 10-20 остатков моносахаридов (галактозы, маннозы, N-ацетилглюкозамина, N-ацетилгалактозамина), последовательность которых зависит от типа гликопротеина. Концевое положение в олигосахариде обычно занято N-ацетилнейраминовой кислотой, реже - фукозой. Биологические свойства гликопротеинов (ферментативные, гормональные и иммунные активности) зависят от характера их белкового и сахарного компонентов.

Основными низкомолекулярными компонентами соединительной ткани являются вода и ионы натрия. Последние нейтрализуют отрицательный заряд кислых мукополисахаридов, а основная часть воды в соединительной ткани образует гидратную оболочку ионов.

*In vivo* полимерные компоненты соединительной ткани не разделены, а образуют непрерывную структуру, стабильность которой является следствием межмолекулярных взаимодействий отдельных макромолекул. Му-

кополисахариды ковалентно связаны с ядром гликопротеинов, и в зависимости от их природы и несущего гликопротеина образуются различные протеогликаны. Связь между мукополисахаридами и белком чаще всего ковалентная и осуществляется через трисахаридный фрагмент Gal-Gal-Xyl-(Ser). Более высоко организованные структуры мономерных протеогликанов ориентированы вдоль молекул гиалуроновой кислоты. В образовании этого комплекса участвуют так называемые связывающие гликопротеины. Взаимодействия между коллагеном и протеогликанами имеют обычно ионную природу и приводят к образованию коллагеновых фибрилл. Состав и количество протеогликанов являются факторами, определяющими образование, форму, направление и свойства волокон.

Кость представляет собой особый тип соединительной ткани, поскольку, кроме обычных макромолекулярных компонентов (органический костный матрикс), она содержит большое количество костного материала. По химической природе это апатиты (гидроксилапатит, карбонатапатит), которые являются сложными солями с центральным ионом  $Ca^{2+}$ . Апатиты образуют кристаллы, которые присоединены к поверхности коллагеновых волокон кости таким образом, что длинная ось кристалла ориентирована параллельно длинной оси коллагена. Кристаллы гидроксилапатита располагаются только в некоторых центрах на поверхности коллагеновых фибрилл определенного типа, что объясняет высокую степень организации костного материала, которая в свою очередь лежит в основе функционирования костей.

Для метаболизма компонентов соединительной ткани характерен ряд особенностей. Биосинтез основных макромолекул происходит внутри клеток соединительной ткани. Только после выхода этих макромолекул в межклеточное пространство между ними возникают взаимодействия (образуются протеогликаны, а также комплексы между коллагеном и протеогликанами и коллагеновые волокна). Среди отдельных компонентов соединительной ткани скорость метаболического оборота максимальна для мукополисахаридов (несколько дней или недель) и минимальна для коллагена (несколько месяцев). Эластин образуется только во время развития плода. В зрелом возрасте он не трансформируется, а лишь распадается. Образование и отложение костного материала связано с кругооборотом костного матрикса.

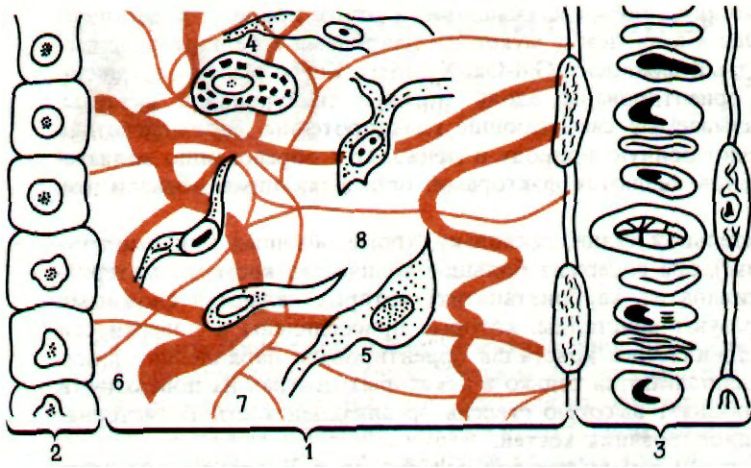


## СОЕДИНИТЕЛЬНАЯ ТКАНЬ

Специальные клетки соединительной ткани, фибриллярные белки (коллаген, эластин) и основной материал (мукополисахариды, гликопротеины) заполняют пространство между паренхиматозными клетками и кровеносными капиллярами.

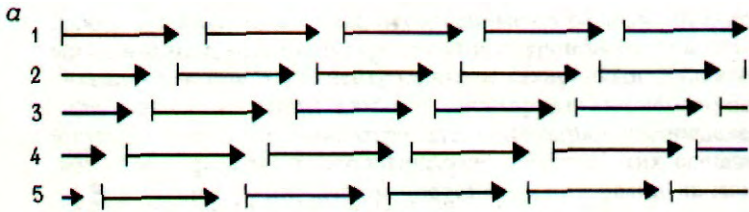
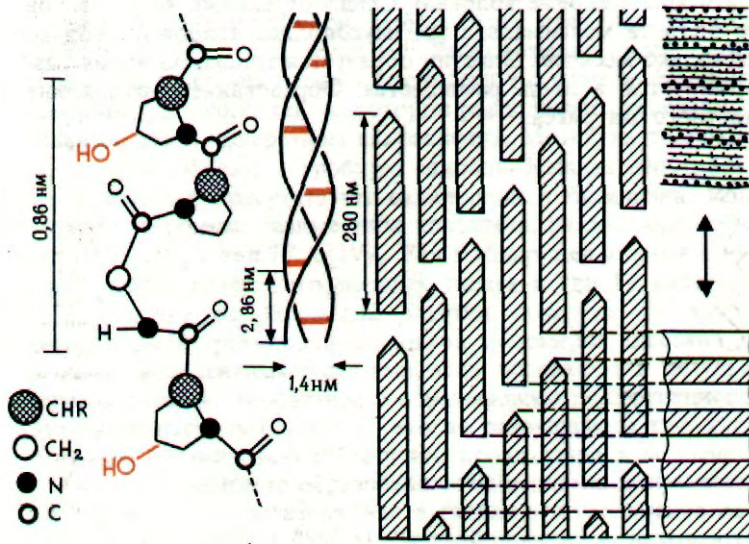
*Пояснения к схеме*

1 - Соединительная ткань; 2 - паренхиматозные клетки; 3 - капилляры и элементы крови; 4 - тучные клетки; 5 - фиброциты и фибробласты; 6 - волокно коллагена; 7 - волокно эластина; 8 - основной материал (матрикс).



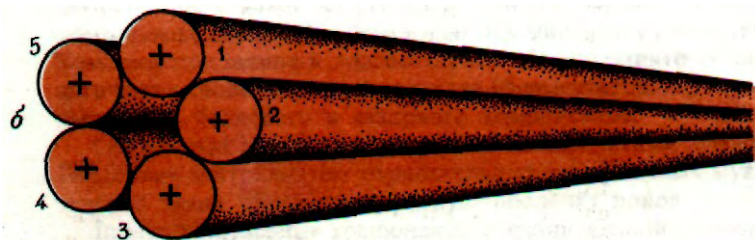
## СТРУКТУРА КОЛЛАГЕНА

Исчерченность среза, видимая методом электронной микроскопии, соответствует образованию цепей из молекул тропоколлагена длиной 280 нм, которые ориентированы параллельно в продольном направлении с постоянным сдвигом примерно на 1/4 длины (69 нм). Молекулы тропоколлагена не соприкасаются, так что между ними остается небольшая щель. Параллельные соседние молекулы слегка перекрывают друг друга. В целом существование щелей и перекрытий приводит к образованию темных и светлых полос. Если считать, что длина молекулы коллагена больше его диаметра в 4,4 раза, то ширина щелей составляет 0,6 от его длины, а перекрытий - 0,4. Тройная спираль тропоколлагена стабилизируется водородными связями между отдельными цепями. Это объясняет высокую прочность молекулы на разрыв.

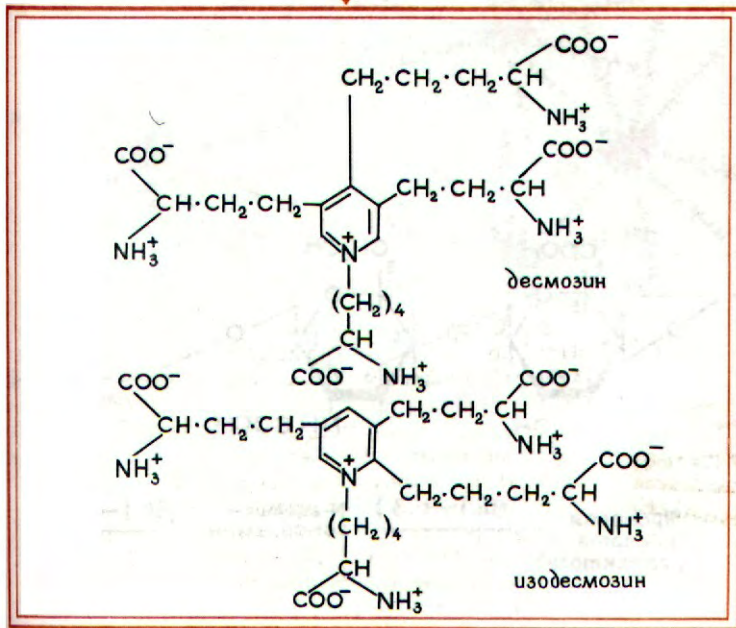
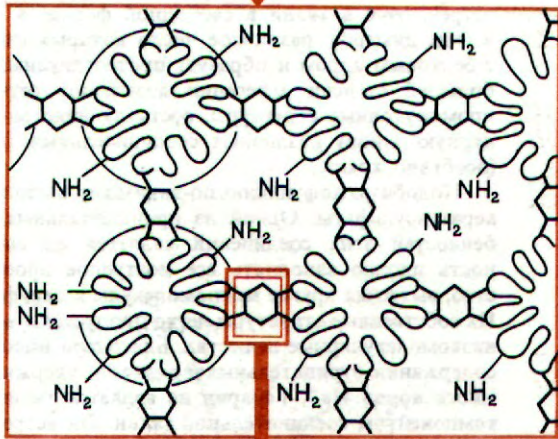
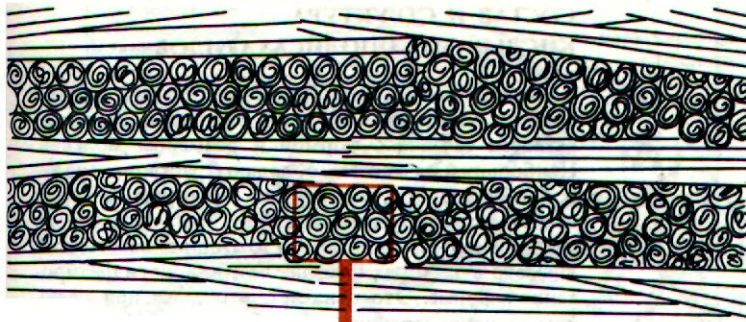


## ОБРАЗОВАНИЕ И СТРОЕНИЕ КОЛЛАГЕНОВЫХ ФИБРИЛЛ

Молекулы тропоколлагена, выделенные в окружающую среду, агрегируют, образуя микрофибриллы и фибриллы. Микрофибриллы обычно состоят из пяти спирализованных волокон (1-5) и возникают в результате линейной и боковой агрегации молекул тропоколлагена, смещенных на четверть их длины. Эти микрофибриллы вместе с различными гликопротеинами (фибринопектином, α<sub>1</sub>-гликопротеином, протеогликанами) образуют фибриллы. Молекулы гликопротеинов обычно находятся на поверхности фибрилл и защищают их от действия коллагеназы.







## СТРУКТУРА ЭЛАСТИНА

То, что гистологи называют эластичными волокнами и эластичными мембранами, представляет по существу многокомпонентную систему. Одним из компонентов являются тонкие, прямые и легко окрашиваемые фибриллы толщиной 11-12 нм. По составу это гликопротеины, которые, по-видимому, участвуют при эмбриональном развитии в образовании волокон эластина и влияют на их размер и пространственную организацию.

Гибкость эластина связана со свойствами его субъединиц (названных после их выделения  $\alpha$ -эластином). На электронно-микроскопическом изображении они представляются глобулами диаметром около 3 нм. Их молекулярная масса 74000. Известен аминокислотный состав  $\alpha$ -эластина, в котором преобладают Gly, Ala, Val и Pro, составляющие почти 70%. Цистеин отсутствует. Из-за малого содержания кислых и основных аминокислот молекула мономерного эластина практически неполярна. Изoeлектрическая точка смещена в слабокислую область, поскольку существует некоторое преобладание кислых групп. В водной среде цепи эластина принимают форму глобул, гидрофобные цепи аминокислот, образующие множество гидрофобных связей, спрятаны внутри молекулы, окруженной водой. В результате свободная энергия системы минимальна.

Некоторые субъединицы эластина связаны в сетчатую структуру с помощью соединений, называемых десмозинами (десмозин и изодесмозин). Это гетероциклические вещества, образованные при окислении лизиновых остатков мономерного эластина до  $\delta$ -полуальдегида аминоксадипиновой кислоты (аллизин). В результате его циклизации с участием нескольких нестабильных промежуточных соединений (например, меродесмозина) образуются гетероциклические соединения с характерным максимумом поглощения при 275 нм. Молекулы десмозина составляют около 1% аминокислот и образуют прочные связи между протомерами эластина. Для поддержания гибкости структуры эти связи должны быть на значительном расстоянии друг от друга.

Эластичные (вязкоэластичные) свойства нерастворимого полимерного эластина (волокна могут растягиваться в два и более раза и сохраняют высокую прочность на разрыв даже в полностью растянутом состоянии; сокращение происходит самопроизвольно, и после снятия нагрузки длина волокон восстанавливается до первоначальной величины) объясняются структурным расположением мономеров. При растяжении разрушаются гидрофобные взаимодействия и изменяется расположение молекул воды. После снятия нагрузки самопроизвольно восстанавливается исходное состояние. Прочность нитей связана с ковалентным характером связей.

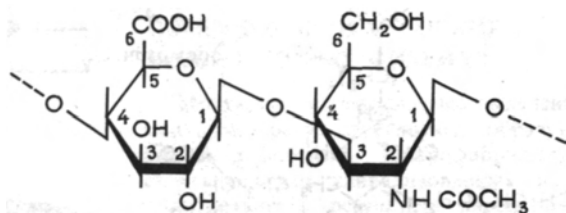
Эластин образуется только фибробластами эмбриона. На форму и пространственное расположение нитей эластина влияют структурные гликопротеины. Мономерные субъединицы эластина, попавшие в межклеточное пространство, взаимодействуют с определенными участками поверхности и образуют агрегаты. Детали этого процесса неизвестны.

## СОСТАВ И СТРУКТУРА КИСЛЫХ МУКОПОЛИСАХАРИДОВ

Кислые мукополисахариды хорошо растворимы в воде с образованием вязких растворов. Величина вязкости связана с формой и размером молекул. Наибольшей вязкостью обладают растворы гиалуроновой кислоты, вытянутые молекулы которой имеют молекулярную массу до  $7 \cdot 10^6$ . В растворе они сильно гидратированы и их гидродинамический диаметр в 1000 раз больше, чем в моногидратированной форме. Это означает, что даже при очень низкой концентрации (в ткани 0,02-0,3%) гиалуроновая кислота образует гелеобразные структуры, что и соответствует в ряде случаев функциональным требованиям (эндолимфа, синовиальная жидкость). Молекулярная масса хондроитинсульфатов ( $14 \cdot 10^3$ - $18 \cdot 10^3$ ), поэтому вязкость их растворов ничтожна. В отличие от гиалуроновой кислоты они не встречаются в ткани в свободной форме, а лишь в виде димеров, различное число которых связано с белковым ядром и образует протеогликаны. При большей степени агрегации возникают сетчатые промежуточные структуры, составляющие молекулярную основу различных соединительных тканей (особенно хряща).

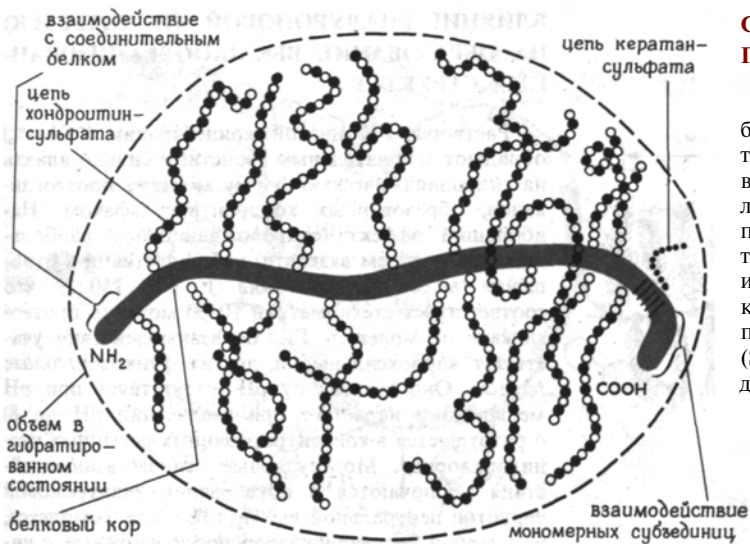
Подобную же функцию, по-видимому, выполняют кератансульфаты. Одной из принципиальных особенностей этих соединений является их способность плотно заполнять все доступное пространство, вытесняя другие макромолекулы к периферии. Их собственные структуры легко пропускают воду и низкомолекулярные вещества. Благодаря высокому содержанию отрицательных зарядов они удерживают много ионов  $\text{Na}^+$ . Гепарин не является типичным компонентом соединительной ткани. Он встречается в тучных клетках и связан с белком-носителем, составляющим около 15% всей молекулы.

	Уроновая кислота	Аминосохар	Сульфат	Связь		
				в дисахаридной единице	между дисахаридными единицами	с белком
Гиалуроновая кислота	D-GlcUA	D-GlcNAc	—	$\beta(1 \rightarrow 3)$	$\beta(1 \rightarrow 4)$	?
Хондроитин	D-GlcUA	D-GalNAc	—	$\beta(1 \rightarrow 3)$	$\beta(1 \rightarrow 4)$	Gal-Gal-Xyl-Ser
Хондроитин-4-сульфат	D-GlcUA	D-GalNAc	O-SO <sub>4</sub>	$\beta(1 \rightarrow 3)$	$\beta(1 \rightarrow 4)$	Gal-Gal-Xyl-Ser
Хондроитин-6-сульфат	D-GlcUA	D-GalNAc	O-SO <sub>4</sub>	$\beta(1 \rightarrow 3)$	$\beta(1 \rightarrow 4)$	Gal-Gal-Xyl-Ser
Гепарин	D-GlcUA	D-GlcNAc	N-SO <sub>4</sub>	$\alpha(1 \rightarrow 1)$	$\alpha(1 \rightarrow 4)$	Gal-Gal-Xyl-Ser
	L-IdUA	D-GlcNAc	N-SO <sub>4</sub>	$\alpha(1 \rightarrow 6)$	$\alpha(1 \rightarrow 4)$	Gal-Gal-Xyl-Ser
Гепаритинсульфат	D-GlcUA	D-GlcNAc	N-SO <sub>4</sub>	$\alpha(1 \rightarrow 4)$	$\alpha(1 \rightarrow 4)$	Gal-Gal-Xyl-Ser
	L-IdUA	D-GlcNAc	O-SO <sub>4</sub>	$\alpha(1 \rightarrow 6)?$	$\beta(1 \rightarrow 3)$	Asp
Кератансульфат I	(Gal)	D-GlcNAc	O-SO <sub>4</sub>	$\beta(1 \rightarrow 4)$	$\beta(1 \rightarrow 3)$	Gal-Ser
Кератансульфат II	(Gal)	D-GlcNAc	O-SO <sub>4</sub>	$\beta(1 \rightarrow 4)$	$\beta(1 \rightarrow 3)$	Gal-Ser
Дермантансульфат	L-IdUA	D-GalNAc D-GlcUA	O-SO <sub>4</sub>	$\alpha(1 \rightarrow 3)$	$\beta(1 \rightarrow 4)$	Gal-Gal-Xyl-Ser



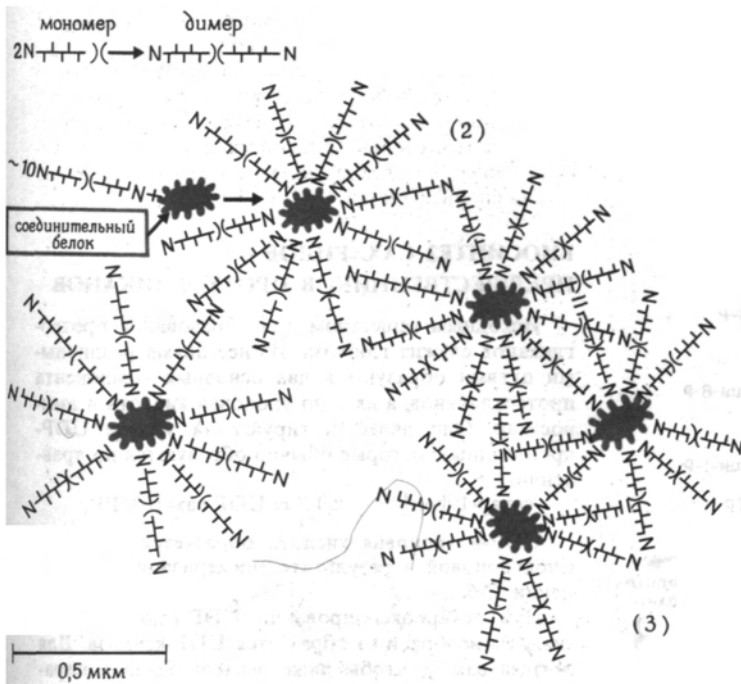
Уроновая кислота (галактоза)  $\beta(1 \rightarrow 3)$  N-ацетил-гексозамин  $\beta(1 \rightarrow 4)$





## СТРУКТУРА МОНОМЕРНОГО ПРОТЕОГЛИКАНА

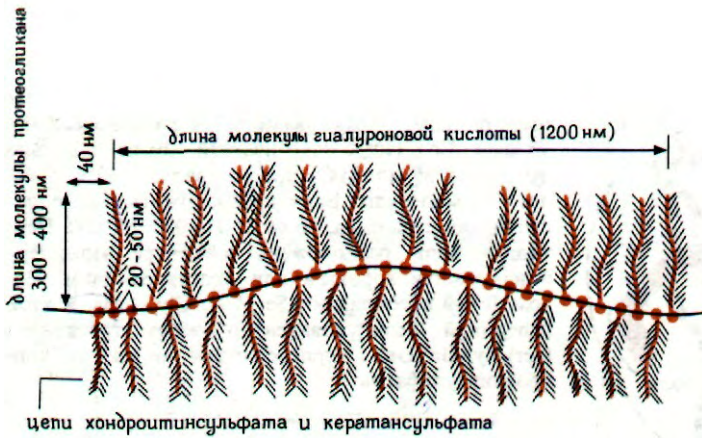
Мономер протеогликанов ( $M \sim 2,5 \cdot 10^6$ ) не может быть разделен на составные части физическими методами. Его гидродинамический объем довольно высок (до 55 мл/г). Сахара составляют 93%, а белок 7% молекулы. Если предположить, что полипептидная цепь одна, то ее  $M$  110000-140000. Пептидная цепь расположена в центре мономера и называется коровым или акцептирующим белком. В ней преобладают Ser, Gly, Glu и Ala. К этой пептидной цепи ковалентно через трисахарид (Ser)-Xyl-Gal-Gal... присоединены молекулы хондроитинсульфатов.



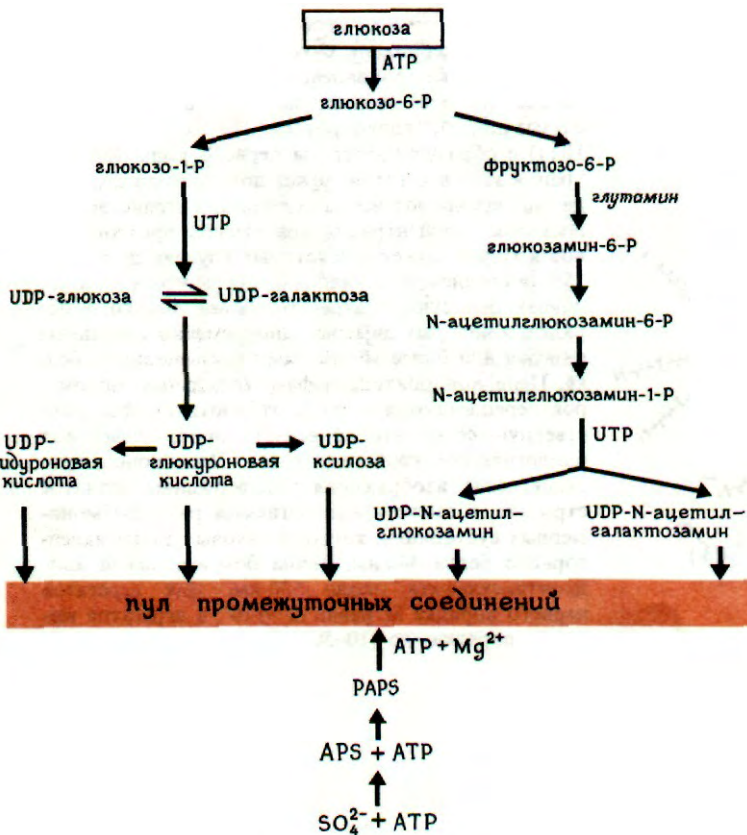
## МОЛЕКУЛЯРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ПРОТЕОГЛИКАНОВ В ХРЯЩЕВОЙ ТКАНИ

Мономер протеогликанов может образовывать димер при ассоциации С-концевых участков акцепторного белка. N-концевые участки акцепторных белков димера взаимодействуют с молекулами связывающего гликопротеина (в отношении до 10:1) и образуют агрегаты первого рода. Концентрация этих агрегатов может достигать до 2%, когда они заполняют все доступное пространство. Но поскольку концентрация комплексов протеогликанов в хряще может в некоторых случаях достигать 15% (в среднем 8%), надо допустить, что в этих условиях образуются агрегаты более высокого порядка, в которых димеры одновременно соединены с двумя или более молекулами связывающего белка. Цепи хондроитинсульфата отдельных мономеров переплетаются и создают плотную пространственную сетку, что объясняет хорошо известные биологические свойства хряща. Электронномикроскопические изображения подтверждают сетчатое строение, а также предполагаемые размеры мономерных субъединиц, которые таковы: длина акцепторного белка 340 нм, длина боковых цепей хондроитинсульфата около 530 нм. Для агрегатов первого порядка  $M$  равно  $(2-4) \cdot 10^6$ , а агрегатов высшего порядка - до  $(10-50) \cdot 10^6$ .

## ВЛИЯНИЕ ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ (ГК) НА ОБРАЗОВАНИЕ ВЫСОКООРГАНИЗОВАННЫХ СТРУКТУР



Растворы ГК низкой концентрации (0,01-1%) обладают замечательным свойством сильно влиять на гидродинамическую форму молекул протеогликанов, образованных хондроитинсульфатом. Наибольший эффект (сопровождающийся наибольшим увеличением вязкости) наблюдается при отношении масс протеогликана и ГК 150:1, что соответствует стехиометрии 10-30 молекул протеогликана на молекулу ГК. Во взаимодействии участвуют карбоксильные и другие функциональные группы. Оно зависит от pH (отсутствует при pH меньше 3 и нарастает при увеличении pH до 8) и разрушается в концентрированных растворах гуанидинхлорида. Молекулярные основы взаимодействия заключаются в образовании гиалуроновой кислотой центральной вытянутой части комплекса, на которой перпендикулярно продольной оси с интервалом, соответствующим примерно 10 моносахаридным звеньям, расположены молекулы протеогликанов. Молекулы ГК связывающего гликопротеина и корового белка удерживаются вместе связями многих типов: ионными, водородными и S-S-мостиковыми.



## БИОСИНТЕЗ САХАРИДОВ-ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ ПРОТЕОГЛИКАНОВ

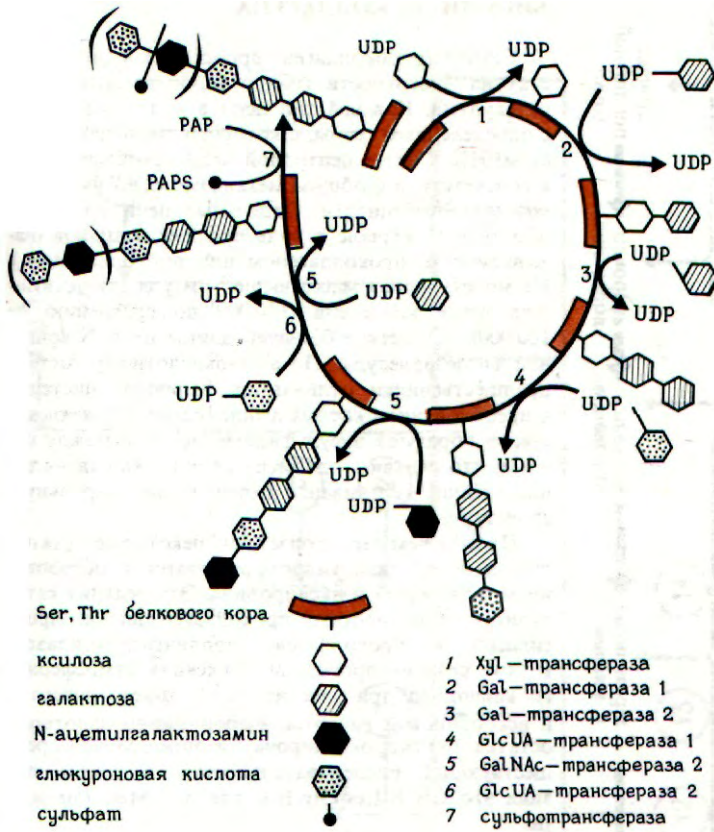
Исходным веществом для образования протеогликанов служит глюкоза. Из нее двумя различными путями образуются два основных компонента протеогликанов, а именно уоновая кислота и аминсахар. Они далее реагируют на уровне UDP-производных, которые обычно образуются по уравнению



UDP-идуроновая кислота образуется из UDP-глюкуроновой в результате эпимеризации в положении C-5.

При декарбоксилировании UDP-глюкуроновой кислоты необратимо образуется UDP-ксилоза. Для синтеза важно, чтобы даже пентоза была в пиранозной форме. Синтез большинства промежуточных соединений происходит в цитоплазме фибробластов. Сульфогруппы вводятся в молекулы протеогликанов сульфотрансферазами с участием фосфоаденозилсульфата (PAPS). Предполагается, что в синтезе хондроитинсульфата участвуют два таких фермента: один из них катализирует присоединение сульфогруппы к C-4, а другой - к C-6 гексозаминов.

## БИОСИНТЕЗ ПРОТЕОГЛИКАНОВ



Процесс синтеза протеогликанов на рибосомах активных фибробластов начинается с образования пептидной части (так называемого корового белка). Гликозаминогликан соединяется с остатком Ser белка через трисахарид -Xyl-Gal-Gal. Этот процесс протекает в несколько стадий под действием ксилотрансферазы и двух различных галактозилтрансфераз, локализованных в структурах гранулярного эндоплазматического ретикулаума. Только затем присоединяется первая молекула глюкуроновой кислоты под действием глюкуронозилтрансферазы 1. Дальнейший синтез осуществляется N-ацетилгалактозаминтрансферазой и глюкуронозилтрансферазой 2 и продолжается до присоединения 30-50 дисахаридных звеньев. После образования цепи длиной около 90 звеньев начинают работать сульфотрансферазы, которые вводят в молекулу сульфогруппы.

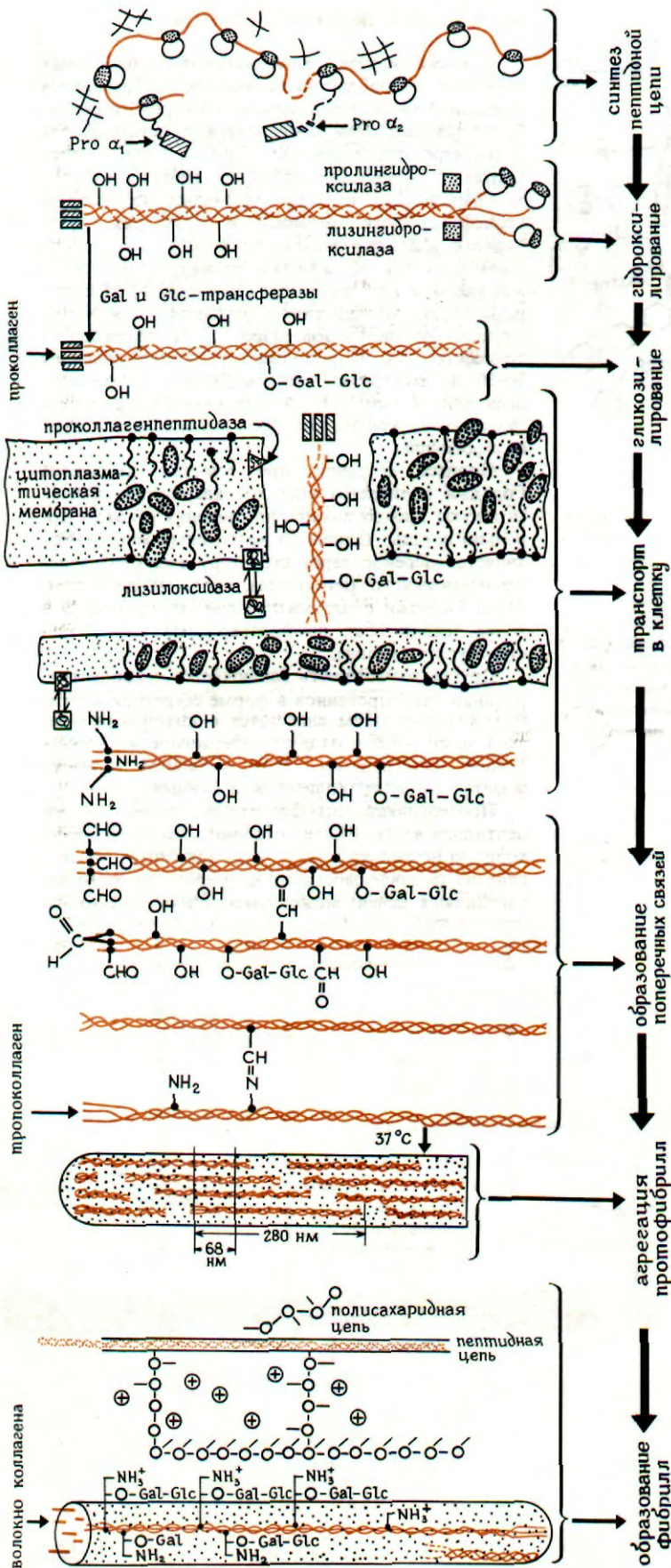
Процесс секреции при участии комплекса Гольджи начинается еще до завершения синтеза молекулы протеогликана, но сведения об этом довольно скудны. Одним из возможных механизмов является перенос через структуру гладкого эндоплазматического ретикулаума, соединяющего комплекс Гольджи с плазматической мембраной. Эта точка зрения пока не подтверждена на ультраструктурном уровне.

Другая возможность заключается в концентрировании гликопротеинов в форме секреторных гранул, которые затем сливаются с цитоплазматической мембраной и отдают содержимое во внеклеточное пространство. Этот механизм подтверждается большим количеством данных.

Протеогликан синтезируется медленнее, чем его пептидная часть. Синтез обычного пептида происходит за несколько минут, тогда как синтез протеогликана (в зависимости от размера гликозаминогликановых цепей) может занимать несколько часов.



## БИОСИНТЕЗ КОЛЛАГЕНА

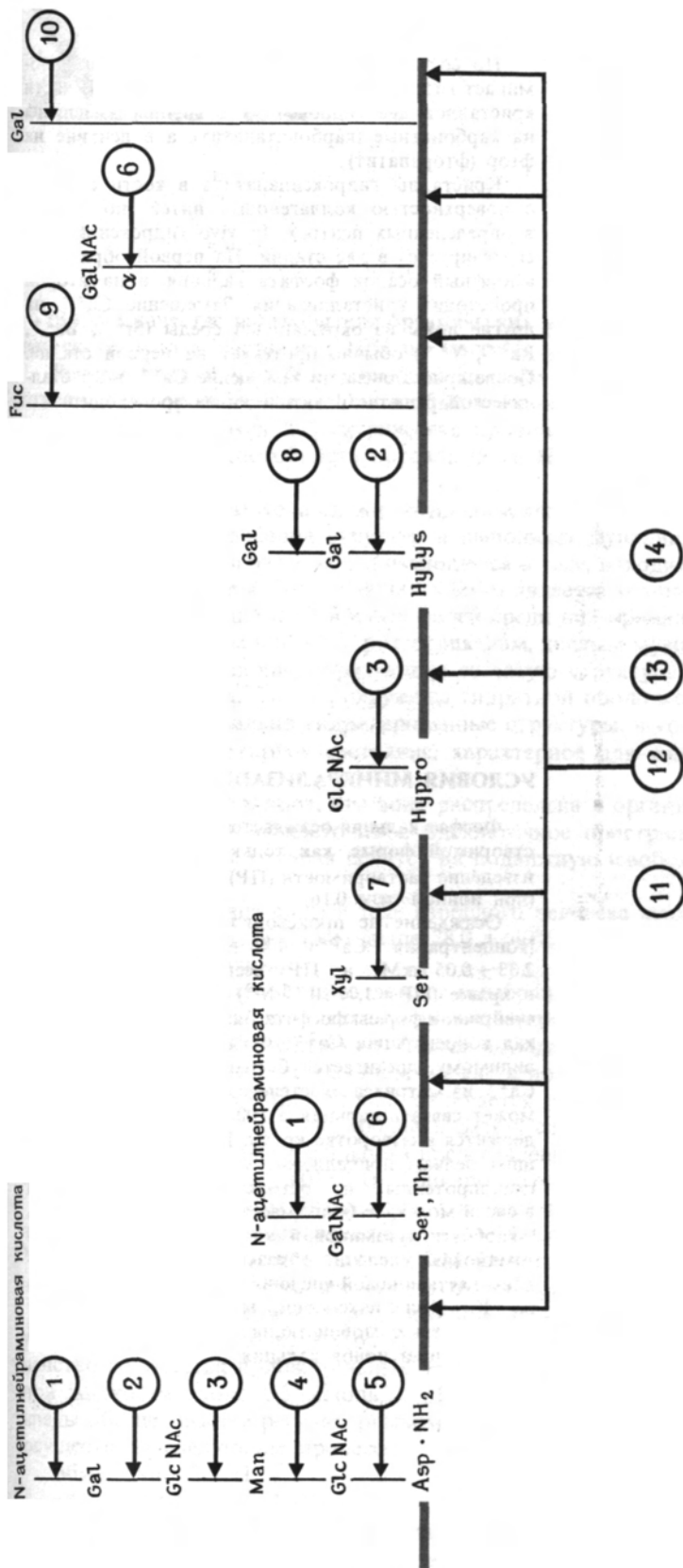


Синтез тропоколлагена происходит в фибробластах на поверхности гранул эндоплазматического ретикулума. Каждый тип цепи в коллагене связан с определенным геном, с которого транскрибируется мРНК. Синтез пептидной цепи протекает далее в соответствии с общим механизмом, но имеет некоторые особенности. Отдельные цепи коллагена образуются вначале в виде предшественников (называемых  $\alpha_1$ -проколлагеном или проколлагеном<sub>1</sub>). Их молекулярная масса выше, чем у соответствующих цепей коллагена (120000 по сравнению со 100000), вследствие большей длины цепи N-концевой части молекулы. По аминокислотному составу предшественники отличаются наличием цистеина и преобладанием кислых аминокислот. Остатки цистеина образуют дисульфидные мостики между цепями, что считают одной из причин, вызывающих постепенное скручивание цепей в трехспиральную структуру.

Прежде чем это произойдет, некоторые остатки лизина и пролина гидроксилируются с образованием оксипролина и оксипролина. Эта реакция катализируется ферментами проколлаген: лизингидроксилазой и проколлаген: пролингидроксилазой. В этой реакции происходит фиксация атмосферного кислорода при участии Fe<sup>2+</sup>,  $\alpha$ -кетоглутарата и аскорбиновой кислоты. Выбор аминокислотного остатка при гидроксилировании определяется предшествующей последовательностью - в случае лизина это Gly-X-Lys-Gly-His, где X = Met, Phe или Ile.

После гидроксилирования происходит гликозилирование, в результате которого к оксигруппам O-гликозидной связью присоединяются галактоза или 2O- $\beta$ -глюкопиранозил-O- $\beta$ -D-галактопираноза. Реакцию катализируют UDP-галактоза: коллагенгалактозилтрансфераза и UDP-глюкоза: коллагенглюкозилтрансфераза. И гидроксилирование, и гликозилирование происходит в структурах агранулярного эндоплазматического ретикулума, и их продуктом является проколлаген. В процессе транспорта через плазматическую мембрану во внеклеточное пространство (экзоцитоза) он превращается в тропоколлаген. Под действием проколлагенпептидазы, локализованной в мембране, отщепляется N-концевой пептид, и образовавшийся тропоколлаген выходит из клетки и образует микрофибриллы (см. выше). При старении между отдельными молекулами тропоколлагена образуются шивки. Этот процесс катализируется лизиноксидазой, которая окисляет  $\epsilon$ -NH<sub>2</sub>-группу лизина в альдегидную с образованием аллизина. Последний образует основание Шиффа с расположенной рядом NH<sub>2</sub>-группой, в результате чего отдельные цепи соединяются прочными ковалентными связями.

Более толстые нити образуются при взаимодействии коллагеновых фибрилл с протеогликанами разного типа.



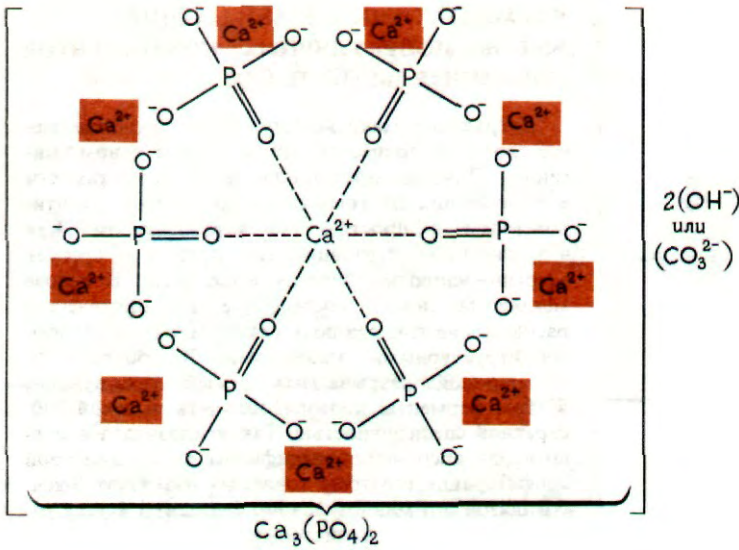
## ФЕРМЕНТАТИВНОЕ РАСЩЕПЛЕНИЕ ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ КОМПОНЕНТОВ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ

Деградация макромолекул представляется менее сложным процессом при его формальном описании. Для ее протекания нет необходимости в образовании сложных структур с точно ориентированным в пространстве катализатором. Как и другие типы деградации, этот процесс не требует энергии - напротив, энергия выделяется. В основе механизма лежит постепенное гидролитическое расщепление гликозидных связей между отдельными структурными элементами. В соответствии с природой разрываемых связей участвующие в этом ферменты должны обладать высокой субстратной специфичностью. Так, ксилозидаза и маннозидаза абсолютно специфичны к определенной конфигурации (поэтому точнее их называют  $\beta$ -ксилозидазой и  $\alpha$ -маннозидазой). Ферменты класса гидролаз находятся в лизосомах, и большинство из них имеет оптимум действия в кислой области pH. Во время катаболизма они действуют чрезвычайно согласованно, вследствие чего отдельные сахара сахаридной части молекул гликопротеина отщепляются один за другим в той же последовательности, в которой они соединялись при синтезе. На схеме расщепления гипотетического протеогликана (гликопротеина) указаны места действия отдельных ферментов: 1 - нейраминидаза, 2 -  $\beta$ -D-галактозидаза, 3 - N-ацетил- $\beta$ -D-глюкозаминидаза, 4 -  $\alpha$ -D-маннозидаза, 5 - 4'-L-аспартилглюкозамин-амидогидролаза, 6 - N-ацетил- $\alpha$ -D-галактозаминидаза, 7 -  $\beta$ -D-ксилозидаза, 8 -  $\beta$ -D-гликозидаза, 9 -  $\alpha$ -L-фукозидаза, 10 -  $\alpha$ -D-галактозидаза, 11 - катепсины A, B, C, D, 12 - коллагеназа, 13 - ариламидаза, 14 - карбокси-пептидаза (ферменты 11-14 расположены в лизосомах). Отсутствие какого-либо из ферментов может приводить к возникновению наследственных дефектов метаболизма. При этом в ткани накапливается неразрушенный протеогликан, а с мочой выделяются значительные количества метаболитов.

## КОСТНЫЙ МАТЕРИАЛ

По составу и структуре материал кости напоминает гидроксилapatит  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ . В части кристаллов две гидроксильные группы замещены на карбонатные (карбонатапатит), а в дентине на фтор (фторапатит).

Кристаллы гидроксилapatита в кости связаны с поверхностью коллагеновых нитей, но только в определенных центрах. *In vivo* гидроксилapatит синтезируется в две стадии. На первой образуется аморфный осадок фосфата кальция, а на второй происходит кристаллизация. Замещение  $\text{Ca}^{2+}$  на другие ионы из окружающей среды ( $\text{Sr}^{2+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Ra}^{2+}$ ,  $\text{Y}^{3+}$ ) обычно протекает на первой стадии. После кристаллизации замещение  $\text{Ca}^{2+}$  в кристаллической решетке практически не происходит.



$$\text{ПР} = [\text{Ca}^{2+}] \cdot A_{\text{Ca}^{2+}} \cdot [\text{PO}_4^{3-}] \cdot A_{\text{PO}_4^{3-}}$$

$A_{\text{Ca}^{2+}}$ ,  $A_{\text{PO}_4^{3-}}$  – коэффициенты активности

ПР

	ПР
Гидроксилapatит	$2,7 \cdot 10^{-7}$
Кровь	$2,25 \cdot 10^{-7}$
Хрящ	$1,77 \cdot 10^{-7}$
$A_{\text{Ca}^{2+}} = 0,36$	$A_{\text{PO}_4^{3-}} = 0,23$

## УСЛОВИЯ МИНЕРАЛИЗАЦИИ

Фосфат кальция осаждается из раствора в нерастворимой форме, как только превышаете произведение растворимости (ПР), равное  $2,7 \cdot 10^{-7} \text{ M}^2$  (при ионной силе 0,16).

Осаждение не происходит в сыворотке крови (концентрация  $\text{Ca}^{2+}$   $1,46 \pm 0,05 \text{ мкМ}$ , фосфата  $2,33 \pm 0,05 \text{ мкМ}$ , а ПР всего  $2,25 \cdot 10^{-7} \text{ M}^2$ ) и в хряще (ПР =  $1,77 \cdot 10^{-7} \text{ M}^2$ ). Образованию нерастворимой формы фосфата благоприятствует высокая концентрация  $\text{Ca}^{2+}$ . Физиологически это, по-видимому, достигается быстрым высвобождением  $\text{Ca}^{2+}$  из матрикса окостеневающей ткани, который может связать кальция в 100 раз больше, чем содержится в сыворотке крови. К кальций-связывающим белкам принадлежит протеогликаны, сиалогликопротеины и остеокальцин, содержащий в своей молекуле (мол. масса 6500) четыре остатка  $\gamma$ -карбоксиглутаминовой кислоты.  $\gamma$ -Карбоксиглутаминовая кислота образуется карбоксилированием глутаминовой кислоты в присутствии витамина К. При патологии минерализация может происходить в любой ткани при повышении в ней концентрации ионов кальция.



# XVII

Вода в качестве растворителя органических и минеральных веществ является главным компонентом человеческого тела и составляет 60% по массе в зрелом и 67-70% в раннем возрасте.

Важная роль воды в биологических системах обусловлена способностью ее молекул образовывать множественные водородные связи. Они и объясняют особые физические и химические свойства воды (точки кипения и замерзания, высокая диэлектрическая проницаемость, высокая критическая температура, универсальность как растворителя, способность образовывать  $\text{H}^+$  и  $\text{OH}^-$  и участвовать в качестве структурного элемента макромолекул).

В живых системах вода служит основным компонентом внутренней среды, принимает участие в процессах транспорта и образования структур и выполняет функцию изолятора.

Лишь небольшая часть воды, имеющейся в теле, находится в истинно мобильном состоянии, характерном для неживой природы. Основная часть воды является компонентом структур, причем не только клеточных, но и внеклеточных. Одна из основных ролей среди них принадлежит соединительным тканям, особенно их гликопротеиновому компоненту (протеогликанам, кислым мукополисахаридам). Они представляют собой макромолекулярные полиионы, образующие сетчатую структуру. Отрицательные заряды этих макромолекул нейтрализованы ионами  $\text{Na}^+$  и окружены гидратной оболочкой. В результате всех взаимодействий образуются гелеобразные или сильно гидратированные структуры, в которых вода и ионы быстро обмениваются и устанавливается стационарное состояние, характерное для живых систем. Подобным образом вода связана и в структуре клеток.

При расчетах полагают, что вода распределена в организме между двумя пространствами, называемыми внутриклеточным и внеклеточным. Внеклеточное пространство включает также плазму крови и интерстициальную жидкость, которая делится на подвижную (свободную) и связанную со структурой соединительной ткани.

Общее содержание воды в теле взрослого человека массой 70 кг составляет 42 л, из которых на внутриклеточное пространство приходится 28,0 л (40%), а на внеклеточное 14,0 л (20%; из них 3,5 л, т.е. 5%, представляет вклад плазмы).

Отдельные пространства разделены мембранами, свойства которых определяют транспорт воды и растворенных в ней веществ и являются причиной неравномерного распределения растворенных веществ, т.е. образования градиента концентрации. Состав *внутренней среды* (интерстициального пространства и плазмы крови) поддерживается на постоянном уровне с помощью ряда динамических компенсационных процессов. По составу электролитов она сильно отличается от внутриклеточной жидкости. Основным катионом внутри клетки является  $\text{K}^+$  (около 160 мМ). Затем следуют ионы  $\text{Mg}^{2+}$  (около 13 мМ) и  $\text{Na}^+$  (около 10 мМ). Анионы внутриклеточной жидкости представлены белками (20% от массы клетки, т.е. около 8 мМ), фосфатами (50 мМ), сульфатом (10 мМ) и бикарбонатом (около 11 мМ).

Основным катионом внеклеточной жидкости является  $\text{Na}^+$  (142 мМ в плазме и 144 мМ в интерстициальной жидкости). Концентрация  $\text{K}^+$  - 4 мМ,  $\text{Ca}^{2+}$  - 2,5 мМ в плазме и 1 мМ в интерстициальной жидкости,  $\text{Mg}^{2+}$  - 1,5 мМ, но может быть и 1 мМ. Основной анион -  $\text{Cl}^-$  (103 мМ в плазме и 114 мМ в интерстициальной жидкости). Еще меньшая концентрация приходится на долю  $\text{HCO}_3^-$  (27 мМ) и фосфатов.

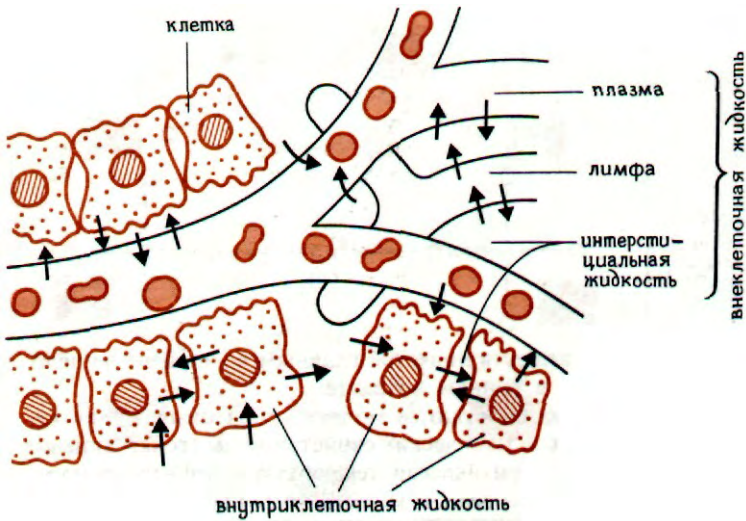
Что касается содержания воды и ионов, то между плазмой и остальной внеклеточной жидкостью быстро устанавливается равновесие. При этом, конечно, соблюдается условие электронейтральности раствора, т.е. равенство количества положительных и отрицательных зарядов. Общая *осмоляльная концентрация* внеклеточной жидкости около 0,3 осмоль/л; рН находится в диапазоне 7,35-7,45. Постоянство состава внутренней среды обеспечивается регуляторным механизмом легких и почек. *Почки* участвуют в поддержании рН среды, осуществляя следующие процессы:

обмен  $\text{Na}^+$  на  $\text{H}^+$ ,

обмен  $\text{HPO}_4^{2-}$  на  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ,

присоединение  $\text{H}^+$  к  $\text{NH}_3$  с образованием  $\text{NH}_4^+$ . Почки принимают участие в сохранении осмотического давления и ионного состава посредством дифференцированного образования мочи. Они же производят выделение отходов метаболизма (мочевины, креатинина и др.) и чужеродных веществ.

## РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ВОДЫ В ОРГАНИЗМЕ



Вода распределена в организме между двумя основными пространствами: внутриклеточным (внутриклеточная жидкость) и внеклеточным (внеклеточная жидкость - интерстициальная жидкость, плазма, лимфа). Вода свободно диффундирует между этими пространствами, тогда как движение растворенных в ней веществ строго регулируется. Распределение воды между отсеками зависит от общего количества растворенных веществ, так как вода движется в направлении осмотического градиента.

## ИОННЫЙ СОСТАВ ЖИДКОСТЕЙ ТЕЛА

Постоянство состава и отношения концентраций ионов в отдельных отсеках является одним из основных условий для постоянного протекания химических реакций.

Это служит причиной очень точного регулирования состава. В каждом пространстве поддерживаются постоянные значения осмотического давления, pH (активности ионов  $H^+$ ) и отношения концентраций отдельных ионов.

Электронейтральность среды обеспечивается равенством суммарных количеств анионов и катионов, выраженных в мэкв/л.

	Внутриклеточная жидкость		Плазма		Интерстициальная жидкость	
	мМ	мэкв/л	мМ	мэкв/л	мМ	мэкв/л
<b>Катионы</b>						
$Na^+$	10	10	142	142	144	144
$K^+$	160	160	4	4	4	4
$Ca^{2+}$	1	2	2,5	5	1	2
$Mg^{2+}$	13	26	1,5	3	1	2
		198		154		152
<b>Анионы</b>						
$Cl^-$	3	3	103	103	114	114
$HCO_3^-$	11	11	279	27	30	30
$HPO_4^{2-}$	50	100	1	2	1	2
$SO_4^{2-}$	10	20	0,5	1	0,5	1
<b>Органические анионы</b>			5	5	5	5
Белки	8	64	2	16	(0,1)	5
		198		154		152

1. На мембране образуется равновесный электрический потенциал  $E_d$

$$E_d = \frac{RT}{F} \ln \frac{[B^+]_{in}}{[B^+]_{out}} = \frac{RT}{F} \ln \frac{[A^-]_{out}}{[A^-]_{in}} \quad (1)$$

Это уравнение можно упростить

$$\frac{[B^+]_{in}}{[B^+]_{out}} = \frac{[A^-]_{out}}{[A^-]_{in}} \text{ или} \\ [B^+]_{out} [A^-]_{out} = [B^+]_{in} [A^-]_{in} \quad (2)$$

$$2. \quad [B^+]_{out} = [A^-]_{out}, \quad (3)$$

$$[B^+]_{in} = [A^-]_{in} + [Prot^-] \quad (4)$$

Следовательно,

$$[A^-]_{in} ([A^-]_{in} + [Prot^-]) = [A^-]_{out}^2, \quad (5)$$

$$[B^+]_{in} ([B^+]_{in} + [Prot^-]) = [B^+]_{out}^2 \quad (6)$$

Из уравнений (5) и (6) следует, что для диффундирующих анионов и катионов

$$[A^-]_{in} < [A^-]_{out}, \quad (7)$$

$$[B^+]_{in} > [B^+]_{out} \quad (8)$$

Пример:

Исходное состояние		Конечное состояние	
1	2	1	2
	10 Prot <sup>-</sup>		10 Prot <sup>-</sup>
15 Na <sup>+</sup>	5 Cl <sup>-</sup>	12 Na <sup>+</sup>	8 Cl <sup>-</sup>
15 Cl <sup>-</sup>	15 Na <sup>+</sup>	12 Cl <sup>-</sup>	18 Na <sup>+</sup>

Полупроницаемая мембрана разделяет два пространства одинакового и постоянного объема. После установления равновесия Доннана диффундирующие ионы распределены неравномерно. При этом выполняются оба термодинамических условия равновесия.

## РАВНОВЕСИЕ ДОННАНА

Оно описывает два раствора электролитов, которые разделены мембраной, проницаемой только для низкомолекулярных веществ, но не для белков. По условию электронейтральности обоих отсеков заряд не диффундирующих частиц должен быть компенсирован.

Белки плазмы при pH 7,4 имеют в основном отрицательный заряд. Присутствие этих не способных к диффузии анионов в крови вызывает появление разности концентраций электролитов в плазме и интерстициальной жидкости, в которой белков нет. Для установления равновесия необходимо выполнение двух термодинамических условий.

1. При равновесии произведения концентраций диффундирующих анионов и катионов в обоих отсеках должны быть равны.

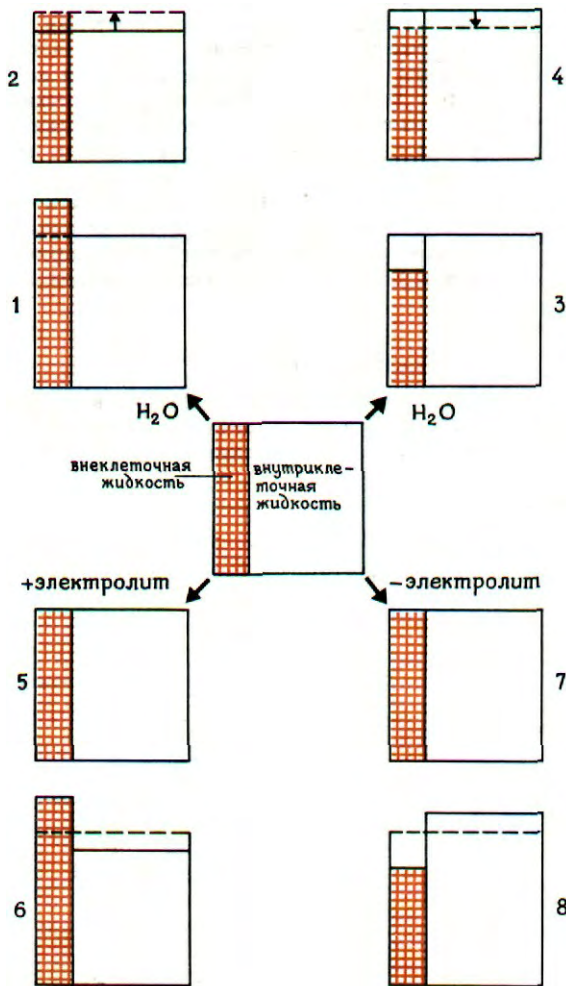
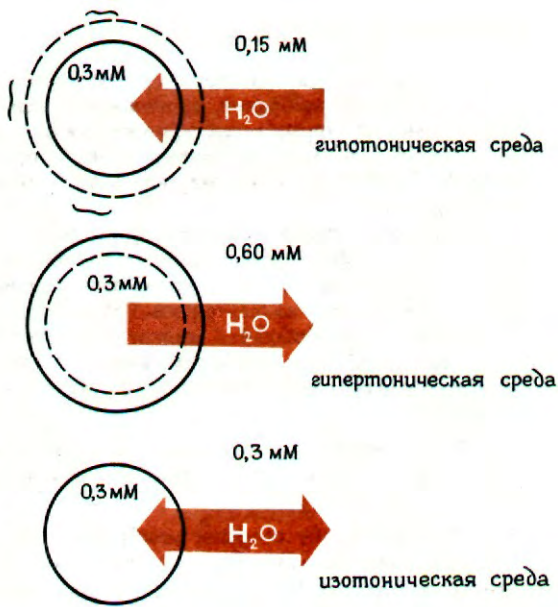
2. Раствор по обе стороны мембраны должен быть электронейтральным [уравнения (3) и (4)]. Отрицательный заряд белков компенсирован большей концентрацией катионов и меньшей анионов с этой стороны мембраны [уравнения (5) и (6)].

Установление доннановского равновесия приводит к тому, что в той части раствора, которая содержит белки, повышается концентрация осмотических частиц по сравнению с другой частью. Если объемы отсеков могут изменяться, то вода будет переходить в зону с большим осмотическим давлением (т.е. в направлении, противоположном осмотическому градиенту). Таким образом, пространство, содержащее белки, увеличивается за счет другого. Так называемое онкотическое давление плазмы крови вызывается не только присутствием белков, но и преобладанием диффундирующих ионов в результате установления равновесия Доннана.

### Пояснения к схеме

in - раствор, содержащий белки, внутри капилляра, out - раствор снаружи капилляра, B<sup>+</sup> - катион, A<sup>-</sup> - анион, Prot<sup>-</sup> - белки.





## КЛЕТКА КАК ОСМОМЕТР

При наличии в растворе вещества, которое не проникает в клетку (например, сахарозы), вода диффундирует из области, где ее термодинамическая активность выше, в область, где она ниже. Осмотическая активность клетки определяется суммой осмолярных активностей проникающих и непроникающих ионов и молекул (см. разд. «Равновесие Доннана»). Если клетку поместить в раствор с концентрацией растворенных веществ меньшей, чем осмолярная активность внутри клетки (гипотоническая среда), вода будет поступать в клетку до тех пор, пока не установится равенство осмотических активностей раствора снаружи и внутри. При этом объем клетки увеличивается. Если это увеличение происходит выше предела, определяемого прочностью (эластичностью) плазматической мембраны, то она разрывается.

Если клетку поместить в раствор с концентрацией растворенных веществ большей, чем осмолярная концентрация внутри клетки (гипертоническая среда), то вода будет выходить из клетки до тех пор, пока не сравняются осмотические активности снаружи и внутри. При этом объем клетки уменьшается. Если клетка находится в изотонической среде, то вода свободно проходит (диффундирует) через мембрану в обоих направлениях.

## ДВИЖЕНИЕ ВОДЫ МЕЖДУ ВНУТРИ- И ВНЕКЛЕТОЧНЫМ ПРОСТРАНСТВАМИ

Поступление небольшого количества воды извне во внеклеточное пространство приводит к уменьшению осмотической активности внеклеточной жидкости (1), что вызывает перенос воды во внутриклеточное пространство (2). При отборе воды из внеклеточного пространства его осмотическая активность увеличивается (3), что вызывает перенос воды в него из внутриклеточного пространства (4) до установления равенства осмотических давлений. Поступление во внеклеточное пространство небольшого количества электролитов повышает в нем осмотическое давление (5), что вызывает перенос небольшого количества воды из внутри- во внеклеточное пространство (6). Напротив, отбор небольших количеств электролитов из внеклеточного пространства приводит к переносу воды из него внутрь клетки (7) и (8).

Перемещение воды сопровождается изменением объемов внутри- и внеклеточного пространств, так что исходное осмотическое состояние восстанавливается.

	Вода мл/сут	Na <sup>+</sup> , мЭКВ./сут	K <sup>+</sup> , мЭКВ./сут
<b>Поступление</b>			
питье	1300		
пища	850	150	100
метаболическая вода	350		
	2500		
<b>Выход</b>			
моча	1500	80-100	30-100
выдыхаемый воздух	400		
пот	500	4	5
фекалии	100	1,5	4
	2500		
<b>Кругооборот в пищеварительном тракте</b>			
слюна	500-1500	600	50
желудочный сок	2000-3000		
панкреатический сок	300-1500		
желчь	250-1100		
кишечный секрет	~300		

Вещество	Молекулярная масса	Размер молекулы, нм	Проникающая способность, %
Вода	18	0,06	100
Мочевина	60	0,12	100
Глюкоза	180	0,20	100
Инсулин	5500	1,1	98
Яичный альбумин	43500	3,13	22
Гемоглобин	68000	3,91	3
Сывороточный альбумин	69000	3,94	1

## СУТОЧНЫЙ КРУГООБОРОТ ВОДЫ И ЭЛЕКТРОЛИТОВ В ТЕЛЕ ЧЕЛОВЕКА

Содержание воды в организме определяется равновесием между ее поступлением и выходом. Объем внеклеточного пространства и содержание в нем электролитов зависят от поступления жидкостей, потерь за счет испарения (через кожу и при дыхании) и почечной регуляции. Основная часть необходимой воды поступает с питьем и пищей. Вода, получающаяся в метаболических процессах окисления сахаров, жиров и белков, составляет лишь небольшую часть. Так, при окислении 1 г глюкозы и 1 г жира образуется 0,6 и 1 г H<sub>2</sub>O соответственно, а при превращении 1 г белка в мочевину 0,4 г воды. Основная часть воды выделяется в виде мочи. Для экскреции продуктов превращения сахаров, жиров и белков необходим определенный объем воды. Так, например, при разложении белков объем экскретируемой воды является лимитирующим фактором. Кроме мочи существенно выделение воды с потом и фекалиями.

Выделяемая организмом вода, за исключением той, которая теряется в виде паров при выдыхании, уносит с собой ионы натрия и калия.

### ФУНКЦИЯ ПОЧКИ (ГЛОМЕРУЛЯРНАЯ ФИЛЬТРАЦИЯ)

Почки участвуют в стабилизации внутренней среды путем сохранения постоянного объема, осмоляльности, pH и концентрации солей во внеклеточной жидкости. Это достигается фильтрацией плазмы (внеклеточной жидкости) в почечных клубочках (glomerulus), реабсорбцией нужных веществ в канальцах и выделением некоторых веществ в мочу. Плазма фильтруется гломерулярной мембраной, состоящей из трех слоев: эндотелия капилляров, базальной мембраны и слоя эпителиальных клеток на внутренней стенке клубочка. Эндотелий образует большое количество пор диаметром 50-100 нм, занимающих около 30% всей поверхности. Собственно фильтрующим слоем является базальная мембрана толщиной около 300 нм. Она образована ворсистой структурой тонких (около 2-5 нм) коллагеновых фибрилл в виде молекулярного сита. Вещества с молекулярной массой до 10000 проходят через это сито свободно, а с молекулярной массой более 50000 - только в ничтожных количествах. На основании этих данных максимальный размер пор базальной мембраны оценивается в 4 нм. В таблице приведена проницаемость мембраны для различных веществ по сравнению с креатином, который проходит без ограничений (проницаемость для него принята за 100%). Этот процесс называют ультрафильтрацией.

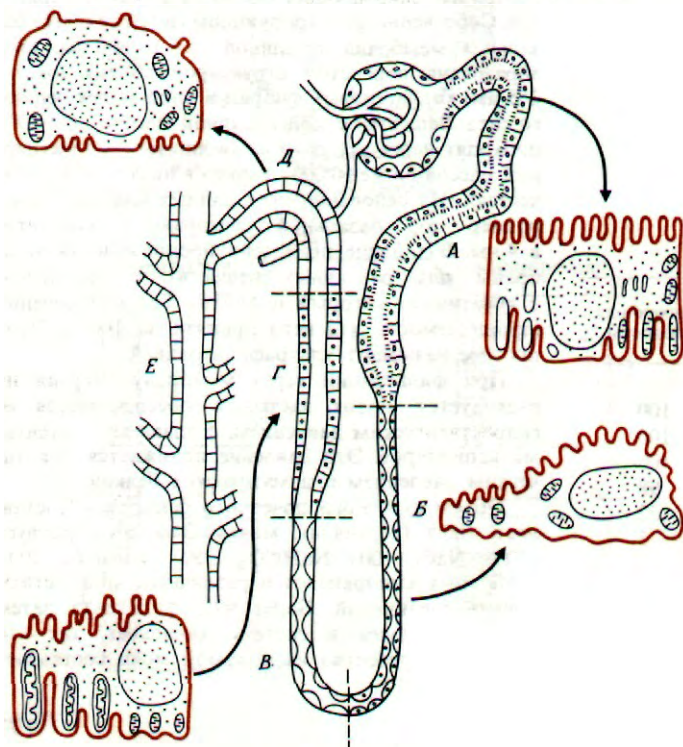
При фильтрации через мембрану энергия не расходуется, поток жидкости обеспечивается ее гидростатическим давлением, создаваемым стенками капилляров. Это давление понижается онкотическим давлением плазматических белков.

Объем суточного почечного фильтрата составляет 180 л (первичная моча), Это соответствует 1000 г NaCl, 500 г NaHCO<sub>3</sub>, 250 г глюкозы, 100 г свободных аминокислот и различным количествам других соединений. Более 99% фильтрата затем реабсорбируются в системе канальцев, так что суточное количество выделяемой мочи составляет 1000-1500 мл.

**Фильтрация, реабсорбция и выделение веществ почкой**

Вещество	Концентрация в плазме, мМ	Всего фильтруется, мМмоль/24ч	Выделяется, мМоль/24ч	Реабсорбируется, мМоль/24ч	Концентрация в моче, мМ	% Реабсорбции	Отношение концентрации моча/плазма
Na <sup>+</sup>	142	25 560	250	25 310	170	99	1,01
K <sup>+</sup>	4	720	120	600	80	83	8
Ca <sup>2+</sup>	2,5	450	5	445	3,8	98,9	1,5
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	27	4 860	2	4 858	—	99,9	—
Cl <sup>-</sup>	103	18 540	250	18 290	170	98,6	1,7
HPO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	1	180	12,5	167,5	20	93	26
Ураты	0,44	80	66	14	44	17,5	100
Мочевина	5	850	500	350	330	41	66
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	0,5	90	45	45	30	50	100
Глюкоза	3,6	648	0-5	643-648	0-3	99	—
Креатинин	0,09	17	16,6	0,5	12	2	133
Вода*	кг/л	кг/24 ч	кг/24 ч	кг/24 ч	кг/24 ч	99,1	—
	0,93	167,4	1,5	165,9			

\* 1 л плазмы содержит 0,93 кг (51,7 моля) воды, т. е. 0,94 л.



**МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РАБОТЫ ОТДЕЛЬНЫХ ЧАСТЕЙ НЕФРОНА**

В отдельных частях нефрона находятся клетки разного типа, которые различаются по свойствам и функции. Они содержат разнообразные рецепторы для транспорта веществ из первичной мочи в кровь.

*Клубочек.* При ультрафильтрации плазмы крови образуется первичная моча, состав которой соответствует составу небелковой части плазмы.

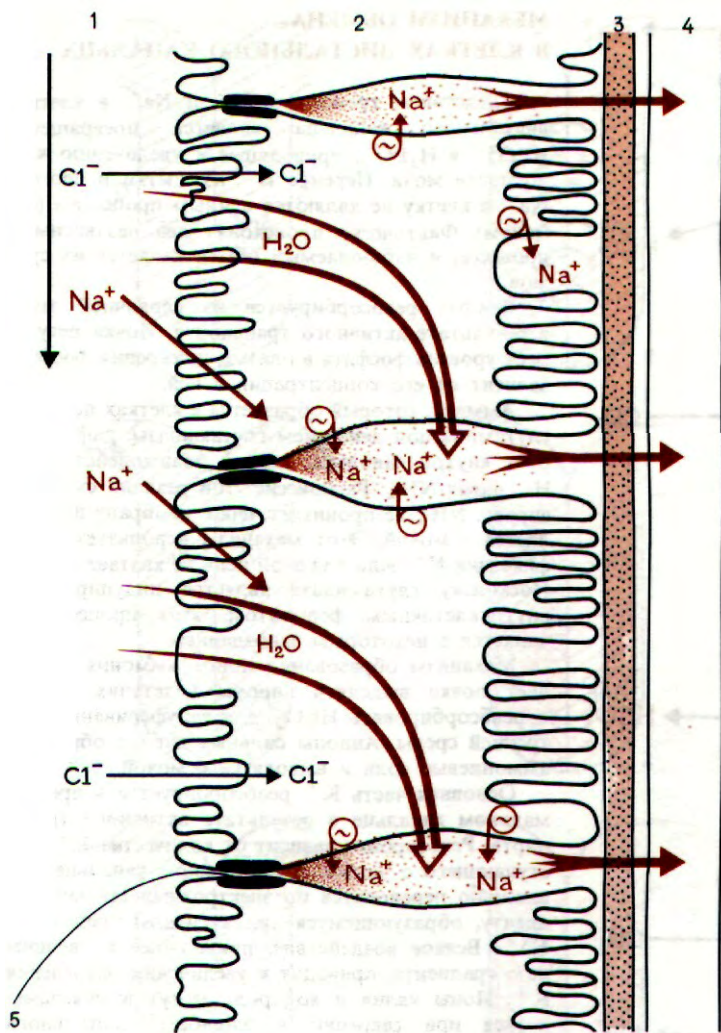
*Проксимальный каналец (А).* Количество реабсорбированного натрия прямо пропорционально количеству реабсорбированной воды, так что молярная концентрация Na<sup>+</sup> не изменяется. Реабсорбция других растворенных соединений также пропорциональна реабсорбции воды, но коэффициент пропорциональности может быть больше (глюкоза) или меньше (мочевина). В реабсорбции Na<sup>+</sup> участвует активный транспорт. Для воды этот процесс определяется пассивным транспортом, так что осмотическое равновесие не нарушается. Мочевина реабсорбируется пассивным транспортом, причем так быстро, что в любом месте проксимальный каналец находится в равновесии с окружающим пространством. Глюкоза транспортируется активно против градиента концентрации особым переносчиком, локализованным в мембране клеток канальца. Вместе с глюкозой транспортируется Na<sup>+</sup>. Этот переносчик имеет определенную пропускную способность, и при ее превышении часть глюкозы экскретируется с мочой. Реабсорбция аминокислот происходит активно с участием переносчиков, специфичных по отношению к основным, кислым и нейтральным аминокислотам. Этот процесс также происходит совместно с транспортом Na<sup>+</sup>.

*Петля Генле.* Механизмы процессов в петле определяются ее особым строением. Нисходящая ветвь петли (Б) состоит из тонкого участка, а восходящая - как из тонкого (В), так и толстого (Г). Клетки в различных частях петли различаются по своим свойствам, главным образом проницаемости по отношению к воде и способу переноса Na<sup>+</sup>. В тонкой и толстой частях восходящей части петли этот ион активно транспортируется из канальца наружу, а в нисходящей ветви - пассивно по градиенту концентрации (так же, как и мочевина). Вода переносится из канальца пассивно в нисходящей части петли. Система противоточного уможножения вызывает в этой части нефрона изменение осмолальности жидкости канальца таким образом, что градиент концентрации увеличивается в направлении к полюсу петли.

Мочевина поступает в результате пассивного транспорта из восходящей ветви петли и собираетельного протока в мозговой интерстиций. Эти процессы образуют на уровне кортиккомедулярного соединения небольшой поперечный градиент концентрации между нисходящей и восходящей ветвями петли, который увеличивается по направлению к полюсу петли. В результате этого в нижней части петли находится гипертоническая моча.

*Дистальный каналец (Д) и собираетельная трубка (Е):* вода реабсорбируется в зависимости от антидиуретического гормона. Na<sup>+</sup> активно транспортируется в интерстиций, за исключением капиллярной части собираетельной трубки, которая проницаема только для воды, но не для растворенных веществ.

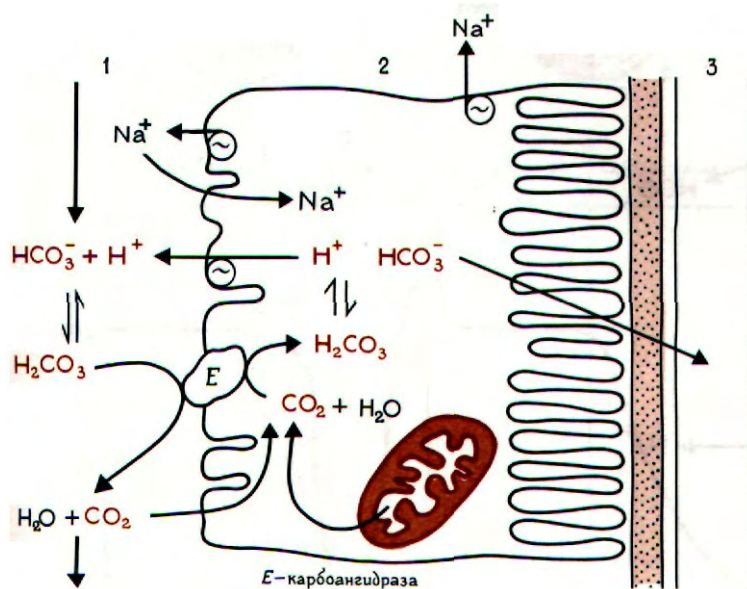




## МЕХАНИЗМЫ РЕАБОРСЦИИ ВОДЫ И $\text{Na}^+$ В КЛЕТКАХ ПРОКСИМАЛЬНЫХ КАНАЛЬЦЕВ

Выделение  $\text{Na}^+$  с мочой строго регулируется. В нормальных условиях около 99%  $\text{Na}^+$  первичной мочи реабсорбируются, причем примерно 2/3 всего количества в проксимальных канальцах. Этот процесс представляет собой изосмотический, но активный транспорт. Он требует затраты большого количества энергии, источником которой в клетках почки служит катаболизм жирных кислот,  $\alpha$ -кетоглутарата и лактата.

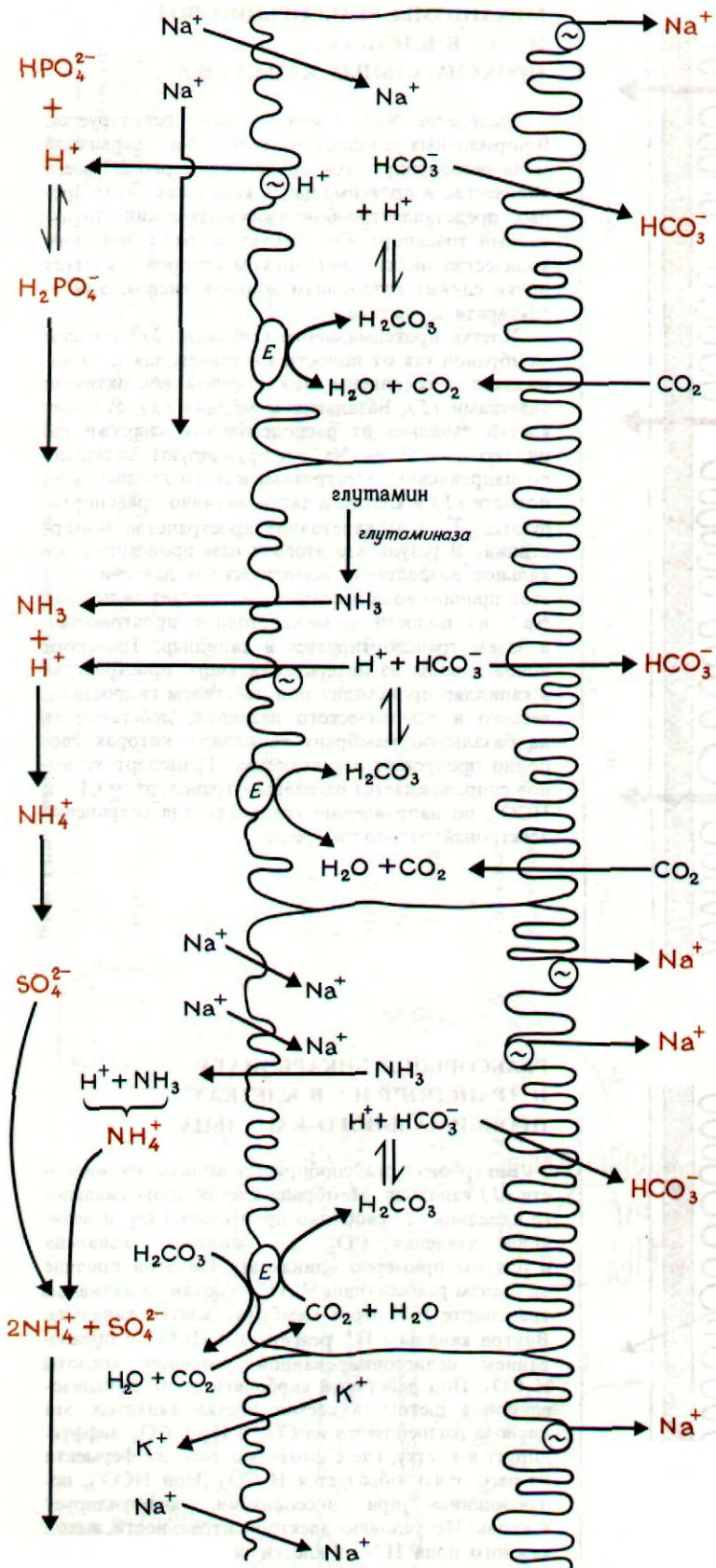
Клетки проксимального канальца (2) отделены мембраной как от полости канальцев, так и от капилляра и соединены между собой контактными участками (5). Базальная мембрана (3) отделяет клетки канальца от расположенного снаружи капилляра (4). Ионы  $\text{Na}^+$  диффундируют (пассивно) по направлению электрохимического градиента из полости (1) в клетку, а затем активно транспортируются ( $\theta^-$ ) в межклеточное пространство (интерстиций). В результате этого в нем происходит локальное возрастание осмотического давления. По этой причине вода пассивно ( $\rightarrow$ ) следует за ионами  $\text{Na}^+$  из полости в межклеточное пространство, а затем транспортируется в капилляр. Транспорт ионов и воды из интерстициального пространства в капилляр происходит под действием гидростатического и осмотического давлений, действующих на базальную мембрану капилляра, которая свободно пропускает эти вещества. Транспорт катионов сопровождается пассивным транспортом  $\text{Cl}^-$  и  $\text{HCO}_3^-$  по направлению градиента для сохранения электронейтральности среды.



## РЕАБОРСЦИЯ БИКАРБОНАТА И ТРАНСПОРТ $\text{H}^+$ В КЛЕТКАХ ПРОКСИМАЛЬНОГО КАНАЛЬЦА

Бикарбонат реабсорбируется кровью из жидкости (1) канальца. Мембрана клеток проксимального канальца (2) свободно пропускает  $\text{CO}_2$ , и величины давления  $\text{CO}_2$  для жидкости канальца и плазмы примерно одинаковы. По этой причине механизм реабсорбции  $\text{HCO}_3^-$  основан на активном транспорте  $\text{H}^+$  через мембрану клетки канальца. Внутри канальца  $\text{H}^+$  реагирует с  $\text{HCO}_3^-$  с образованием недиссоциированной угольной кислоты  $\text{H}_2\text{CO}_3$ . Под действием карбоангидразы, локализованной в щеточной каемке клетки канальца, эта кислота расщепляется на  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ .  $\text{CO}_2$  диффундирует в клетку, где с помощью того же фермента из него опять образуется  $\text{H}_2\text{CO}_3$ . Ион  $\text{HCO}_3^-$ , получающийся при диссоциации, диффундирует в кровь. По условию электронейтральности выход каждого иона  $\text{H}^+$  из клетки сопровождается входом одного иона  $\text{Na}^+$ .

## МЕХАНИЗМ ОБМЕНА В КЛЕТКАХ ДИСТАЛЬНОГО КАНАЛЬЦА



Следствием транспорта  $\text{H}^+$  и  $\text{Na}^+$  в клетках дистального канальца является превращение  $\text{HPO}_4^{2-}$  в  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ , приводящее к увеличению кислотности мочи. Перенос  $\text{H}^+$  из клетки и перенос  $\text{Na}^+$  в клетку не являются единым процессом (обменом). Фактически происходят два независимых процесса, и наблюдаемый обмен является их суммой.

Фосфат реабсорбируется из первичной мочи в результате активного транспорта. Почка регулирует уровень фосфата в плазме, и секрция фосфата зависит от его концентрации в ней.

Аммиак, который образуется в клетках почки из глутамин под действием глутаминазы, диффундирует внутрь канальца, где он взаимодействует с  $\text{H}^+$ , давая  $\text{NH}_4^+$ . Равновесие этой реакции смещено вправо.  $\text{NH}_4^+$  не проникает через мембрану и выделяется с мочой. Этот механизм используется для фиксации  $\text{H}^+$ , если для этой цели не хватает  $\text{HCO}_3^-$ . Поскольку глутаминидаза является индуцируемым внутриклеточным ферментом, этот процесс начинается с некоторым запозданием.

Механизм образования ионов аммония позволяет почке выделять анионы нелетучих кислот и реабсорбировать  $\text{HCO}_3^-$  для забуферивания внутренней среды. Анионы сильных кислот образуют аммониевые соли и выводятся с мочой.

Основная часть  $\text{K}^+$  реабсорбируется в проксимальном канальце в результате активного транспорта. Реабсорбция зависит от количества  $\text{K}^+$ , поступающего с пищей. В дистальном канальце  $\text{K}^+$  пассивно переносится по электрохимическому градиенту, образуемому при активном транспорте  $\text{Na}^+$ . Всякое воздействие, приводящее к увеличению градиента, приводит к увеличению выделения  $\text{K}^+$ . Ионы калия и водорода могут взаимозаменяться при секрции в жидкость дистального канальца. При низкой концентрации  $\text{K}^+$  во внутриклеточной жидкости секретируются ионы  $\text{H}^+$ , и наоборот.



## СИСТЕМА ПРОТИВОТОЧНОГО УМНОЖЕНИЯ

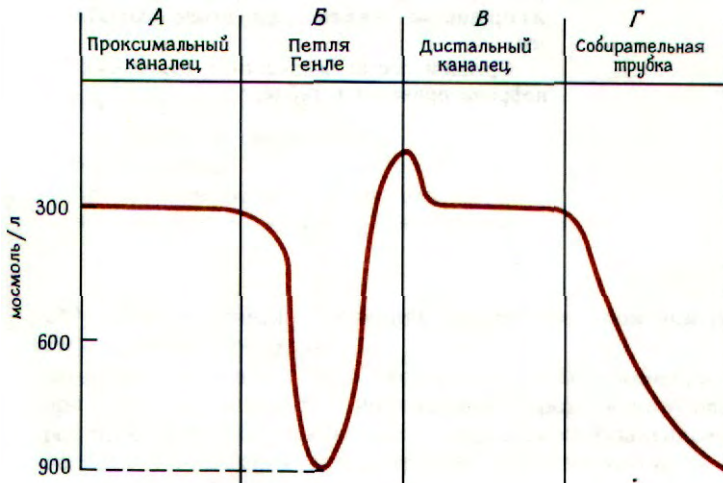
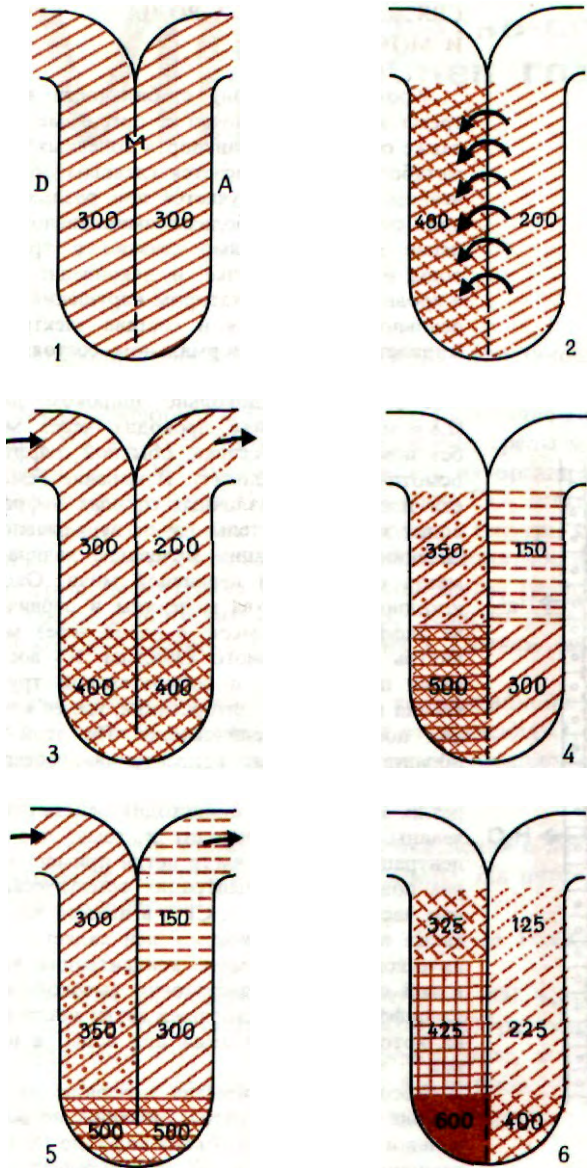
Система противоточного умножения реализуется при работе петли Генле. Моделью этой системы служит U-образная трубка, нисходящая ( $D$ ) и восходящая ( $A$ ) ветви которой разделены мембраной ( $M$ ). Эта мембрана не пропускает растворитель, тогда как ионы  $\text{Na}^+$  могут проходить через нее из восходящей ветви в нисходящую путем активного транспорта. Такая мембрана способна образовывать по всей длине постоянный осмотический градиент между растворами в двух ветвях (активный транспорт  $\text{Na}^+$ ). В почках величина этого градиента около 0,2 осмоль/л.

Образование градиента можно наблюдать в следующем опыте. *Состояние 1.* U-образная трубка заполнена раствором определенной осмоляльности. *Состояние 2.* Вследствие активного транспорта  $\text{Na}^+$  через мембрану от  $A$  к  $D$  вдоль всей мембраны образуется постоянный осмотический градиент. *Состояние 3.* Жидкость в трубке приходит в движение, и часть ее выливается. Другое колено заполняется исходной жидкостью. Поток прекращается. *Состояние 4.* Равновесие восстановлено, т.е. во всех частях трубки существует постоянный осмотический градиент. *Состояние 5.* Часть жидкости опять выливается и потеря восполняется исходной жидкостью. Поток прекращается. *Состояние 6.* По всей поверхности мембраны устанавливается постоянный осмотический градиент. Значения осмоляльности в отдельных частях трубки не такие, как в состояниях 2 и 4. В результате концентрация  $\text{Na}^+$  и осмоляльность максимальны в нижней части U-образной трубки. На выходе из трубки жидкость гипоосмоляльна по сравнению с входящей. При постоянном потоке жидкости через трубку на каждом уровне трубки устанавливается равновесие.

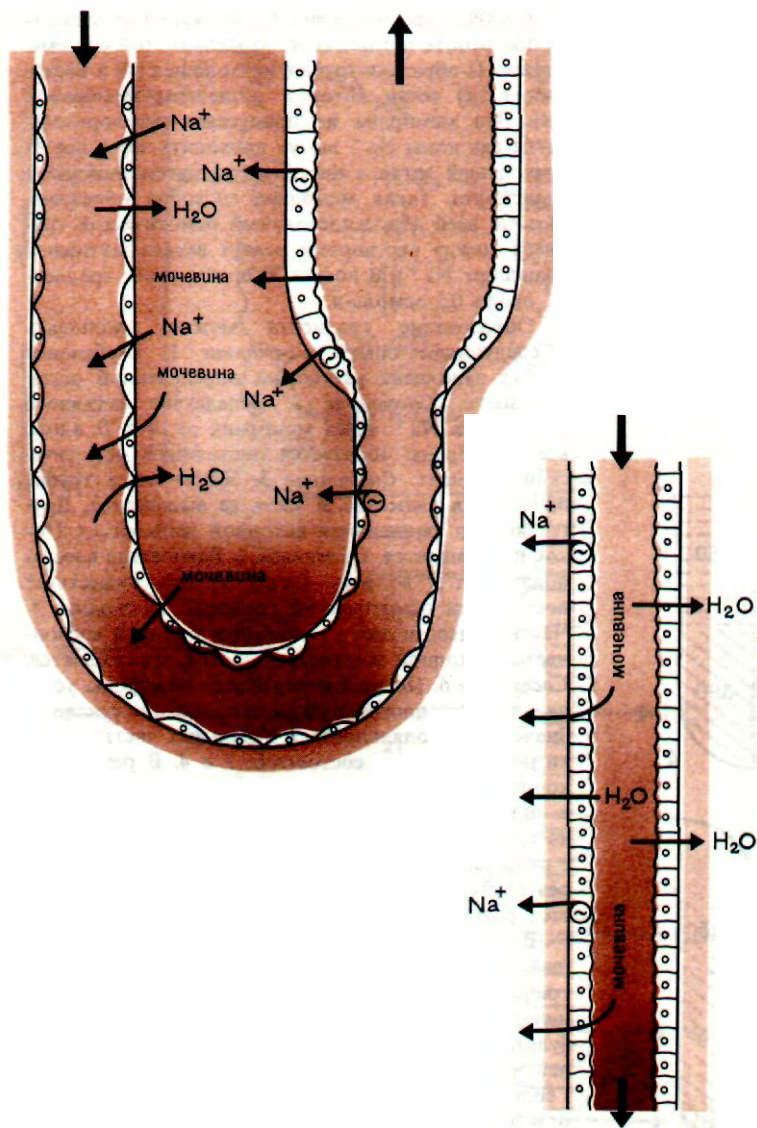
В почке активный транспорт  $\text{Na}^+$  из восходящей ветви петли, сопровождаемый пассивным транспортом  $\text{Cl}^-$ , происходит не прямо в нисходящую ветвь, а в интерстициальную жидкость. В результате осмотические давления в верхней и нижней частях петли сильно различаются. Из петли Генле выходит гипоосмотическая жидкость, что соответствует разбавлению мочи в результате понижения содержания растворенных веществ.

## ОСМОЛЯЛЬНОСТЬ ПЕРВИЧНОЙ МОЧИ

Первичная моча в проксимальных канальцах ( $A$ ) изотонична.  $\text{Na}^+$  и  $\text{Cl}^-$  транспортируется из восходящей ветви в интерстициальную жидкость. Поскольку мембрана этой части петли не пропускает воду, пространство вблизи петли становится гипертоническим в результате работы системы противоточного умножения. Сюда диффундирует вода из прилежащих участков, главным образом из дистального канальца  $B$  и собирательной трубки  $Г$ . Транспорт  $\text{Na}^+$  и  $\text{Cl}^-$  в восходящей ветви петли Генле  $B$  приводит к разбавлению мочи. Гипотоническая моча из верхней части петли Генле поступает в дистальный каналец, мембрана которого достаточно хорошо пропускает воду, так что на выходе из канальца жидкость становится изотонической. В собирательной трубке реабсорбция  $\text{Na}^+$  и  $\text{Cl}^-$ , а также воды продолжается, в результате чего объем жидкости еще более уменьшается. Проницаемость мембраны для воды регулируется антидиуретическим гормоном.







## СВЯЗЬ ТРАНСПОРТА ВОДЫ И МОЧЕВИНЫ

Кроме поддержания стабильности внутренней среды к функциям почки в организме относится также обеспечение транспорта конечных продуктов метаболизма. Это касается главным образом мочевины, которая получается при разложении белков (см. гл. «Метаболизм аминокислот»). Выделение мочевины прямо связано с транспортом воды и ионов в почке, и накопление мочевины в крови служит индикатором нарушения кислотно-основного равновесия и состава электролитов в жидкостях тела. В нормальном состоянии почка поддерживает концентрацию мочевины в плазме в определенном, довольно широком диапазоне (2,8-9 мМ). Мочевина проходит через мембрану без помощи переносчика, обычной диффузией по осмотическому градиенту. Изменение осмоляльности жидкости в различных отделах нефрона приводит к последовательному и непрерывному увеличению концентрации мочевины, начиная с момента образования первичной мочи. Около 50% исходного количества мочевины в первичной моче диффундирует вместе с водой через мембрану внутрь проксимального канальца. Из восходящей ветви петли Генле и собирательной трубки мочевина поступает в интерстиций, где ее концентрация постоянно увеличивается. По этой причине образуется градиент концентрации, обеспечивающий диффузию мочевины в нисходящую ветвь петли. В результате происходит рециркуляция мочевины, которая приводит к тому, что ее концентрация в нижней части петли примерно в сорок раз повышена. Концентрация осмотически активных частиц ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ) в нижней части петли также выше, и жидкость в ней является гипертонической. Тем не менее концентрация мочевины в ней сохраняется достаточно высокой, несмотря на диффузию из восходящей ветви петли (мембрана которой непроницаема для воды) в интерстиций.

Абсолютные количества мочевины на входе и выходе из нефрона почти одинаковы, но вследствие сильного уменьшения объема воды (до 1% исходной величины на выходе из собирательной трубки) раствор мочевины концентрируется. Выделяемая из организма моча содержит около 300 мМ мочевины.

Средний состав жидкости в отдельных частях нефрона приведен в таблице.

Отдел нефрона	Концентрация веществ в жидкости канальцев, мМ			Общая осмоляльность, осмоль/л
	$\text{Na}^+$	мочевина	$\text{K}^+$	
Клубочек	144	5	5	0,310
Выход из проксимального канальца	144	12,5	4	0,320
Петля Генле	300	180	18	0,900
Вход в дистальный каналец	55	51,7	1,2	0,230
Выход из дистального канальца	100	80	28,2	0,350
Выход из собирательной трубки	130	300	60	0,900

При метаболических процессах окисления-восстановления и декарбоксилирования поглощается  $O_2$  и выделяется  $CO_2$  в количествах, эквивалентных 13000 ммоль в сутки. К кислотным продуктам метаболизма относятся также фосфорная и серная кислоты (нелетучие кислоты), количества которых эквивалентны примерно 70 ммоль  $H^+$  в сутки. Так как pH внутренней среды может изменяться лишь в очень узком диапазоне, выделяющиеся ионы  $H^+$  необходимо удалять из организма.

Основные пути вывода  $H^+$  - это выделение  $CO_2$  легкими и ионов  $H^+$  почками (см. гл. «Вода и ионы»). На пути этих продуктов от места их образования (внутри клеток) до выхода из организма, когда их концентрация велика, нужно предотвратить их неблагоприятное действие. Для этой цели существует ряд буферных систем, которые, несмотря на огромные количества транспортируемых протонов, сохраняют значение pH внутренней среды в допустимых границах. Важную роль в этих процессах играет кровь, одна из основных функций которой - перенос  $O_2$  от легких к клеткам ткани и поддержание pH.

*Кислород* присоединяется в шестом координационном положении  $Fe^{2+}$  в геме гемоглобина. Связывание обратимо, и степень насыщения зависит от давления  $O_2$ . Присоединение  $O_2$  к части субъединиц тетрамера гемоглобина приводит к активации свободных субъединиц (аллостерический эффект). Оксигемоглобин является более сильной кислотой по сравнению к гемоглобином и легче диссоциирует.

$CO_2$  образуется в клетке в реакциях окисления и декарбоксилирования. Его необходимо удалять из организма, чтобы не допустить закисления среды. На пути из клетки ткани в альвеолы легких устанавливаются следующие равновесия:



Положения этих равновесий таковы, что на 800 частей  $CO_2$ , растворенных в воде, приходится 1 часть в виде  $H_2CO_3$  и 0,03 части в виде  $HCO_3^-$ . Образующиеся ионы  $H^+$  могут нарушать кислотно-основной баланс. Для того чтобы этого не происходило, в организме есть буферные системы, образуемые бикарбонатом, гемоглобином, белками и фосфатами.

Вклад отдельных систем в буферную емкость крови:

### Бикарбонатная система

бикарбонаты плазмы	35%
бикарбонаты эритроцитов	18%

---

53%

### Небикарбонатные системы

гемоглобин (в эритроцитах)	35%
белки плазмы	7%
органические фосфаты (в эритроцитах)	3%
неорганические фосфаты (в эритроцитах и плазме)	2%

---

47%

$CO_2$ , образующийся в реакциях декарбоксилирования (главным образом в цикле лимонной кислоты), участвует в ряде процессов:

- облегчает выделение  $O_2$  из комплекса с гемоглобином в тканях;
- при большом количестве понижает pH крови и нарушает кислотно-основное равновесие;
- реагирует с водой; реакция катализируется карбоангидразой. Равновесие смещается в ту или иную сторону за счет уменьшения концентрации соответствующего реагента ( $HCO_3^-$  в эритроцитах ткани и  $CO_2$  в эритроцитах альвеол легких);

связывается белковой частью гемоглобина с образованием соединений типа карбаминовой кислоты. Эта связь лабильна и разрушается при увеличении концентрации  $H^+$ .

Кисотно-основной баланс организма зависит от концентраций сопряженных оснований и кислот и их отношения. Это отношение и определяет рН внутренней среды.

Нормальное значение рН крови и жидкостей тела  $7,4 \pm 0,03$  (концентрация  $H^+$   $4,0 \cdot 10^{-8}$  М). Предельные значения рН 6,8-7,7 (концентрация  $H^+$  от  $16 \cdot 10^{-8}$  до  $2 \cdot 10^{-8}$  М). Нормальное значение давления в альвеолярном воздухе и крови 40 торр (5,32 кПа). Соответствующая равновесная эффективная концентрация  $CO_2$  в растворе ( $s \cdot pCO_2$ ) равна 1,2 мМ. Нормальная концентрация  $HCO_3^-$  в плазме  $24 \pm 2$  мМ. Ранее содержание углекислого газа измеряли в мл  $CO_2$  на 100 мл плазмы (резервная щелочность). В норме эта величина составляет  $55 \pm 2$  мл/100 мл.

В физиологических условиях в легких устанавливается стационарное состояние, при котором количества выделяемого и образуемого в организме  $CO_2$  равны.

В патологическом состоянии этот баланс может нарушаться, что вызывает изменение концентрации  $H^+$  в крови. Это нарушение называется *ацидезией* (при снижении рН) или *алкаемией* (при повышении рН).

Нарушения функции организма, приводящие к отклонениям в содержании анионов кислот в крови, называют *ацидозом* или *алкалозом*.

Термины *гиперкапния* и *гипокапния* используются для обозначения увеличения и уменьшения давления  $CO_2$  в крови.



## Состав воздуха

Химическая формула	Газ	
	Название	Состав, %
N <sub>2</sub>	Азот	~70
O <sub>2</sub>	Кислород	~21
Ar, Ne, He, Kr, Xe	Инертные газы	~1
CO <sub>2</sub>	Оксид углерода(IV)	~0,03
H <sub>2</sub> O	<b>Пары воды</b> <b>Аммиак</b> <b>Водород</b> <b>Озон</b> <b>Оксид серы(IV)</b> <b>Сероводород</b>	Содержание переменное
NH <sub>3</sub>		
H <sub>2</sub>		
O <sub>3</sub>		
SO <sub>2</sub>		
H <sub>2</sub> S		

## Примерный состав альвеолярных газов

Газ	Концентрация, %	Парциальное давление		Вычисление
		торр	кПа	
N <sub>2</sub>	68	516,8	68,73	760 • 0,68
O <sub>2</sub>	20	152	20,22	760 • 0,20
CO <sub>2</sub>	5	38	5,05	760 • 0,05
H <sub>2</sub> O	7	53,2	7,08	760 • 0,07

CO<sub>2</sub> (газообразный)

↓



(растворенный) гидратация диссоциация

$$s \cdot p\text{CO}_2 = [\text{CO}_2]_{\text{раств}} + [\text{H}_2\text{CO}_3] = [\text{H}_2\text{CO}_3]_{\text{эфф}}$$

## ВОЗДУХ

Воздух состоит из смеси газов, которая окружает поверхность Земли и образует ее атмосферу.

Кислород воздуха необходим для дыхания всех аэробных организмов. Оксид углерода(IV) выделяется этими организмами и поглощается растениями. Состав воздуха, главным образом содержание кислорода, изменяется с подъемом над уровнем моря.

## АЛЬВЕОЛЯРНЫЕ ГАЗЫ

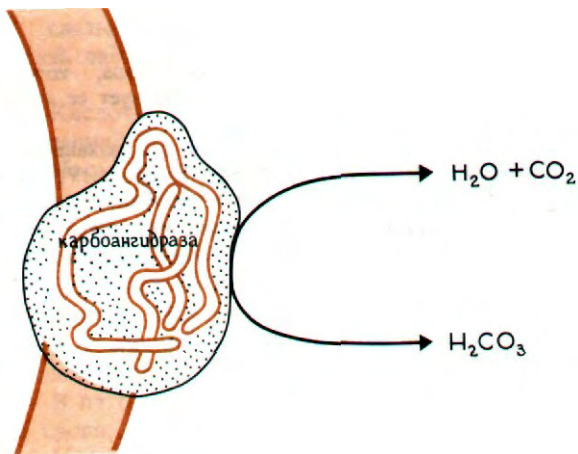
Альвеолярные газы представляют собой смесь газов и паров воды в альвеолах легких. Общее давление этой смеси равно атмосферному (в среднем 760 торр или 101,08 кПа). Парциальные давления отдельных компонентов этой смеси равны общему давлению, умноженному на долю соответствующего компонента.

## СОТНОШЕНИЕ МЕЖДУ СОДЕРЖАНИЕМ CO<sub>2</sub> В ВОЗДУХЕ И ЖИДКОСТЯХ

Количество растворенного в жидкости CO<sub>2</sub> пропорционально  $p\text{CO}_2$  (закон Генри) и коэффициенту растворимости  $s$ . Истинная (эффективная) концентрация угольной кислоты в крови представляет собой сумму концентраций растворенного CO<sub>2</sub> и продуктов его гидратации.

## КАРБОАНГИДРАЗА

Этот фермент катализирует образование угольной кислоты из  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  и имеет большое значение для поддержания кислотно-основного баланса организма. Этот фермент сосредоточен главным образом в эритроцитах, но он есть и в щеточной каемке почки. Под действием карбоангидразы процесс гидратации  $\text{CO}_2$  ускоряется в  $1,3 \cdot 10^4$  раз. Фермент катализирует и обратную реакцию. Карбоангидраза имеет молекулярную массу 31000 и обладает строгой специфичностью. При увеличении pH от 6 до 10 активность фермента возрастает, причем равновесие реакции смещается в сторону синтеза угольной кислоты.



Уравнение Гендерсона-Хассельбалха

$$\text{pH} = \text{pK} + \lg \frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{H}_2\text{CO}_3]_{\text{эфф}}}$$

$$\text{pH} = \text{pK} + \lg \frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{CO}_2] + [\text{H}_2\text{CO}_3]}$$

$$\text{pH} = \text{pK} + \lg \frac{[\text{HCO}_3^-]}{s \cdot p\text{CO}_2}$$

$\text{pH} = 7,4$	$s \cdot p\text{CO}_2 = 1,2 \text{ mM}$
$p\text{CO}_2 = 40 \text{ торр} (5,32 \text{ кПа})$	$\text{HCO}_3^- = 24 \text{ mM}$
$s = 0,03$	$\text{pK} = 6,1$

## СВЯЗЬ pH С БИКАРБОНАТНОЙ СИСТЕМОЙ КРОВИ

Уравнение Гендерсона-Хассельбалха для бикарбонатной системы содержит три неизвестных - концентрация бикарбоната, давление  $\text{CO}_2$  и pH, и две константы - коэффициент растворимости  $s$  и  $\text{pK}$  (отрицательный десятичный логарифм константы диссоциации угольной кислоты). Для полного описания системы необходимо определить лишь две переменные величины, поскольку третью можно получить из них расчетом.

pH крови зависит от соотношения концентраций суммарной недиссоциированной кислоты ( $[\text{CO}_2] + [\text{H}_2\text{CO}_3] = s \cdot p\text{CO}_2$ ) и бикарбоната. Величина  $\text{pK}$  определяется следующим образом:

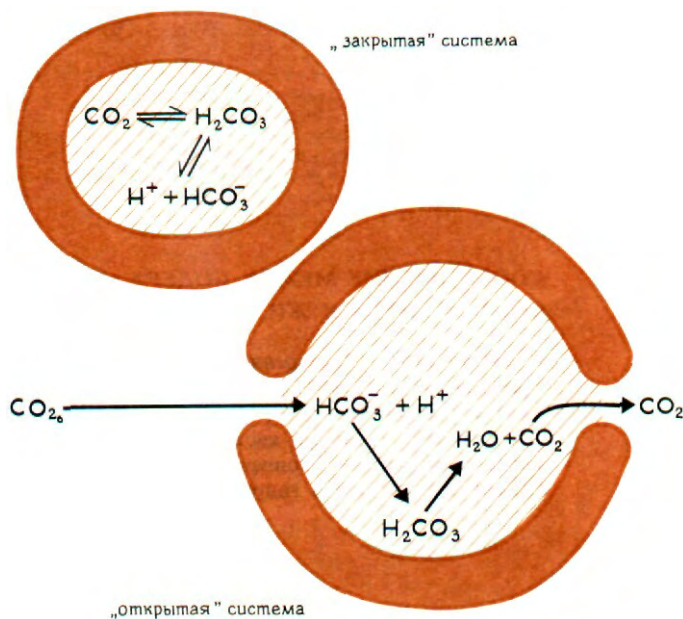
$$K = \frac{[\text{H}^+][\text{HCO}_3^-]}{[\text{CO}_2] + [\text{H}_2\text{CO}_3]} = 7,95 \cdot 10^{-7} \text{ M}; \text{pK} = 6,1$$

Как видно, определение  $K$  отличается от принятого в физической химии, по которому она равна  $1,32 \cdot 10^{-4} \text{ M}$  ( $\text{pK} = 3,88$ ).

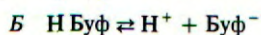
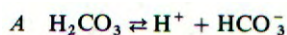
## CO<sub>2</sub> В ЗАКРЫТОЙ И ОТКРЫТОЙ СИСТЕМАХ

В закрытой системе компоненты бикарбонатного буфера присутствуют в равновесных концентрациях, которые зависят от pH. Их отношение не изменяется во времени.

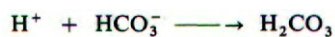
Для открытой системы характерно равенство количеств  $\text{CO}_2$ , поглощаемого и выделяемого в единицу времени. pH внутренней среды также не изменяется. Организмы являются открытыми системами. Кровь забирает  $\text{CO}_2$  из тканей, где он образуется в метаболических процессах, и переносит его в легкие, где он выделяется из организма при дыхании.



## ОСНОВНОЕ УРАВНЕНИЕ ДИССОЦИАЦИИ ДЛЯ БИКАРБОНАТНОГО И НЕБИКАРБОНАТНЫХ БУФЕРОВ КРОВИ



Влияние сильной кислоты:



Влияние сильного основания:



В соответствии с теорией Брёнстеда вещество называется кислотой, если оно образует протон при диссоциации. Основаниями называют вещества, способные связывать протон с образованием недиссоциированной молекулы:



Сопряженное основание представляет собой анион кислоты. Слабым кислотам (которые слабо диссоциированы и прочно связывают протон) соответствуют сильные сопряженные основания, а сильным кислотам (которые сильно диссоциированы и легко отдают протон) соответствуют слабые основания. Сопряженной парой называют кислоту и основание, которые взаимосвязаны посредством протона.

Сумма концентраций всех сопряженных оснований бикарбонатного и небикарбонатных буферов крови образует общее сопряженное основание и называется основанием буфера. Оно представляет собой общую концентрацию сопряженных оснований и измеряется в мМ. Отклонение основания буфера от нормального значения называется избыточным основанием и может быть как положительным, так и отрицательным.

### ОСНОВНЫЕ БУФЕРНЫЕ СИСТЕМЫ КРОВИ

Кровь является сложной жидкостью и содержит шесть основных буферных систем. Буферы распределены между эритроцитами и плазмой крови. Для простоты их делят на две группы:

а) бикарбонатная система (главным образом в плазме)

б) небикарбонатная система (в плазме и эритроцитах)

Небикарбонатная система крови представлена в основном гемоглобином и оксигемоглобином, вклад которых в общую буферную емкость крови равен 35%. При упрощенном рассмотрении влиянием мембраны эритроцитов пренебрегают и рассматривают кровь как гомогенную жидкость, хотя рН в эритроцитах всегда немного меньше, чем в плазме. рН внутри эритроцитов изменяется одновременно с рН плазмы, что указывает на хорошую проницаемость мембраны для бикарбоната.

### ВЛИЯНИЕ БУФЕРНЫХ СИСТЕМ НА рН КРОВИ

В поддержании рН крови участвуют небикарбонатная и бикарбонатная системы. Для расчета рН можно использовать рК любой системы, поскольку уравнения одинаковы. Между двумя системами существует равновесие: слабая кислота бикарбонатной системы реагирует с основаниями небикарбонатной системы и наоборот, бикарбонат реагирует с недиссоциированной формой буфера (НБуф) с образованием аниона Буф<sup>-</sup> и угольной кислоты.

Плазма

Бикарбонат

Белки плазмы

Фосфат



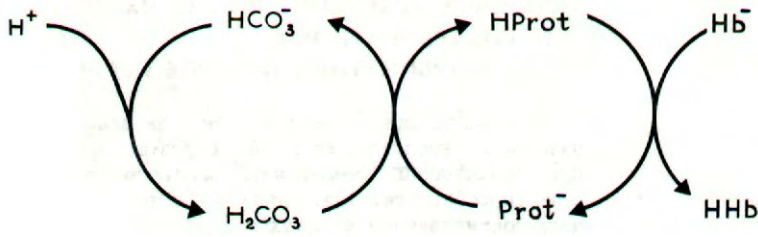
Эритроцит

$$\text{pH} = \text{pK} + \lg \frac{[\text{сопряженное основание}]}{[\text{недиссоциированная слабая кислота}]}$$

$$= \text{pK}_{\text{H}_2\text{CO}_3} + \lg \frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{CO}_2] + [\text{H}_2\text{CO}_3]}$$

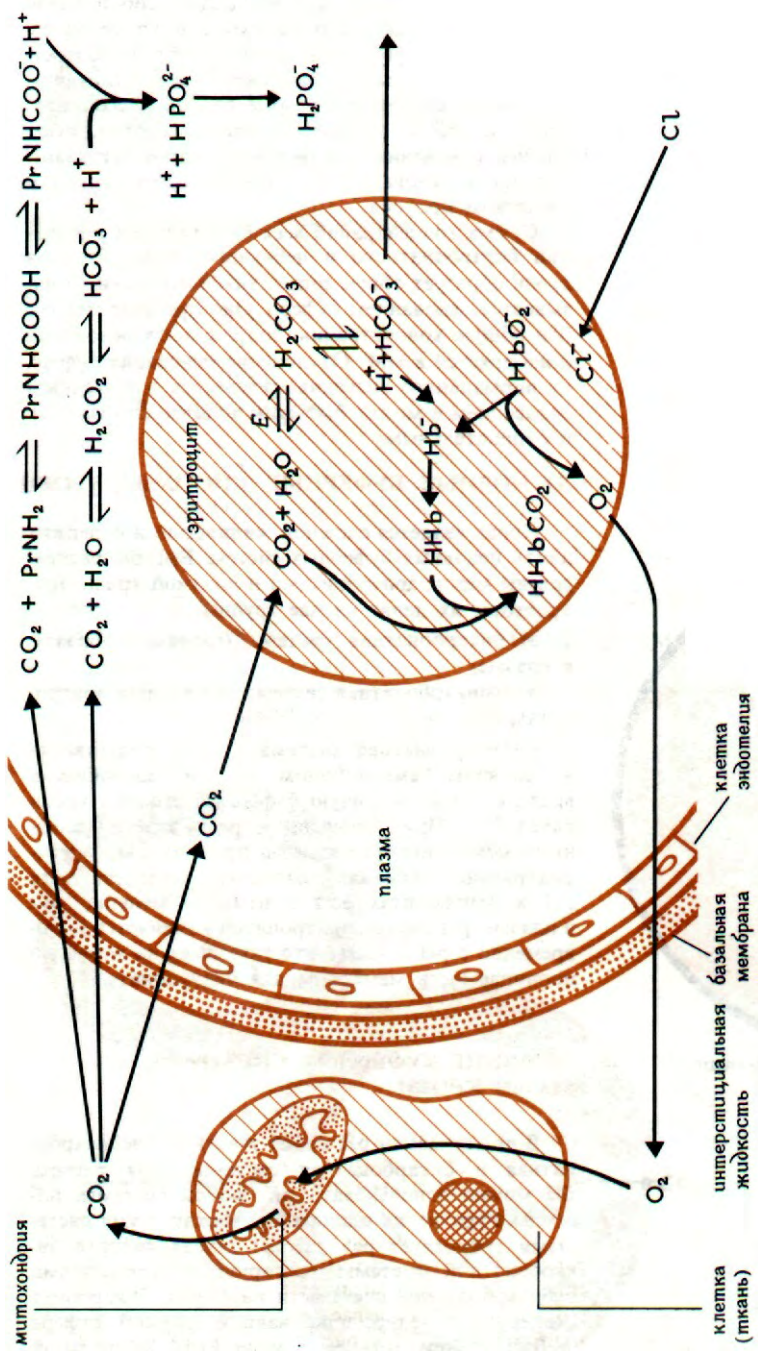
$$\text{pH} = \text{pK}_{\text{Буф}} + \lg \frac{[\text{Буф}^-]}{[\text{H Буф}]}$$





## ВЗАИМОСВЯЗЬ БУФЕРНЫХ СИСТЕМ КРОВИ

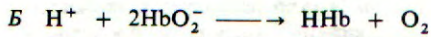
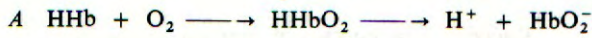
Протоны, образуемые клетками ткани, попадают во внеклеточное пространство, где они связываются бикарбонатной и в меньшей степени фосфатной системами. После перехода в кровь они нейтрализуются бикарбонатной системой и плазматическими белками. Из плазмы ион  $\text{H}^+$  передается внутрь эритроцитов гемоглобину, который служит основной буферной системой эритроцитов и обладает большой емкостью. Между всеми этими системами поддерживается равновесие.



## ПУТИ ПЕРЕНОСА CO<sub>2</sub> КРОВЬЮ

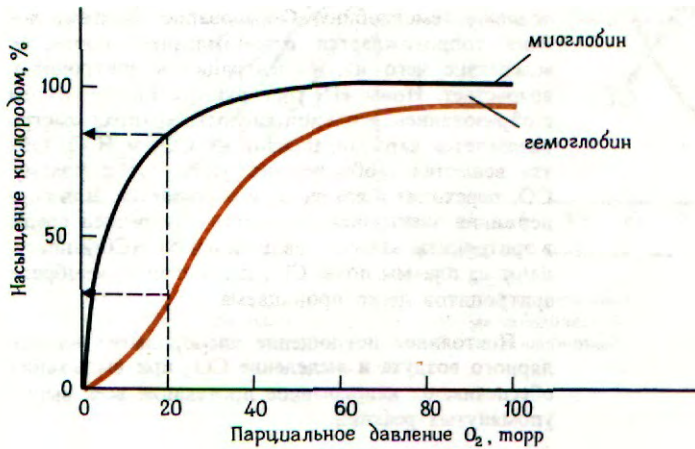
При образовании  $\text{CO}_2$  в клетке (в митохондриях) давление  $\text{CO}_2$  во внеклеточном пространстве увеличивается. Поскольку давление  $\text{CO}_2$  в кровеносных капиллярах меньше, углекислый газ свободно диффундирует в кровь. В небольшом количестве он растворяется в плазме и связывается с плазматическими белками. Реакция гидратации протекает медленно, так как в плазме нет карбоангидразы. С белками  $\text{CO}_2$  дает соединения типа карбаминовой кислоты. Протоны, образующиеся при их диссоциации, связываются фосфатом.

После поступления  $\text{CO}_2$  в эритроциты реакция гидратации сильно ускоряется под действием карбоангидразы. Ионы  $\text{H}^+$ , образующиеся при диссоциации  $\text{H}_2\text{CO}_3$ , связываются гемоглобином. Поскольку концентрация бикарбоната в эритроцитах выше, чем в плазме, он проходит через мембрану по градиенту концентрации. Ионы  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  не могут свободно проникать через мембрану, поэтому для сохранения электронейтральности в эритроцитах из плазмы поступает ион  $\text{Cl}^-$ . Часть  $\text{CO}_2$  взаимодействует в эритроцитах с гемоглобином, образуя карбаминогемоглобин. Эта реакция не требует катализатора. Ионы  $\text{H}^+$ , образующиеся при диссоциации  $\text{H}_2\text{CO}_3$  и карбаминогемоглобина, нейтрализуются гемоглобином и органическими фосфатами.



## ПРЕВРАЩЕНИЯ ГЕМОГЛОБИНА ПРИ ПЕРЕНОСЕ КИСЛОРОДА

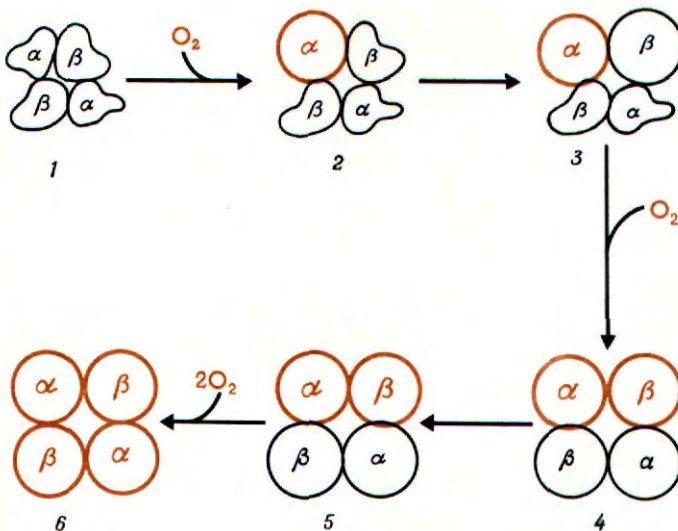
Реакция *A* происходит в легких. В артериальной крови гемоглобин присутствует главным образом в форме  $\text{HbO}_2$ , т.е. насыщен кислородом. Реакция *B* происходит в тканях. В венозной крови преобладает восстановленная форма гемоглобина. Освобождению  $\text{O}_2$  из гемоглобина способствует тот факт, что восстановленный гемоглобин является более сильным основанием, т.е. имеет большее сродство к  $\text{H}^+$ . Поэтому кислород легко освобождается при повышении концентрации  $\text{H}^+$ . Связывание  $\text{H}^+$  и буферные свойства гемоглобина обусловлены наличием функционально важных остатков гистидина в его белковой части. Кислород образует связь с ионом железа порфиринового цикла (см. гл. «Порфирины»).



## КРИВАЯ НАСЫЩЕНИЯ ГЕМОГЛОБИНА

Эта кривая показывает зависимость насыщения гемоглобина (в %) от парциального давления  $\text{O}_2$  ( $p\text{O}_2$ ). Кривые насыщения гемоглобина и миоглобина не совпадают, что объясняется различием структуры молекул этих белков. Миоглобин образован одной белковой цепью и одним гемом, тогда как гемоглобин представляет собой тетрамер (четыре белковых цепи и четыре гема на молекулу). Белки имеют разное сродство к кислороду, которое к тому же зависит от pH. У миоглобина (одна субъединица) сродство к кислороду велико, и кривая насыщения представляет собой гиперболу. У гемоглобина (четыре субъединицы) сродство к кислороду при низких его концентрациях меньше, и кривая насыщения сигмоидальна. Такой вид кривой объясняется тем, что первая молекула субстрата ( $\text{O}_2$ ), связанная тетрамером, облегчает присоединение остальных, т.е. увеличивает сродство белка к субстрату. Кинетика этого явления похожа на кинетику реакции, катализируемой аллостерическим ферментом (см. гл. «Ферменты»). Насыщение гемоглобина кислородом служит моделью проявления аллостерических свойств ферментами.

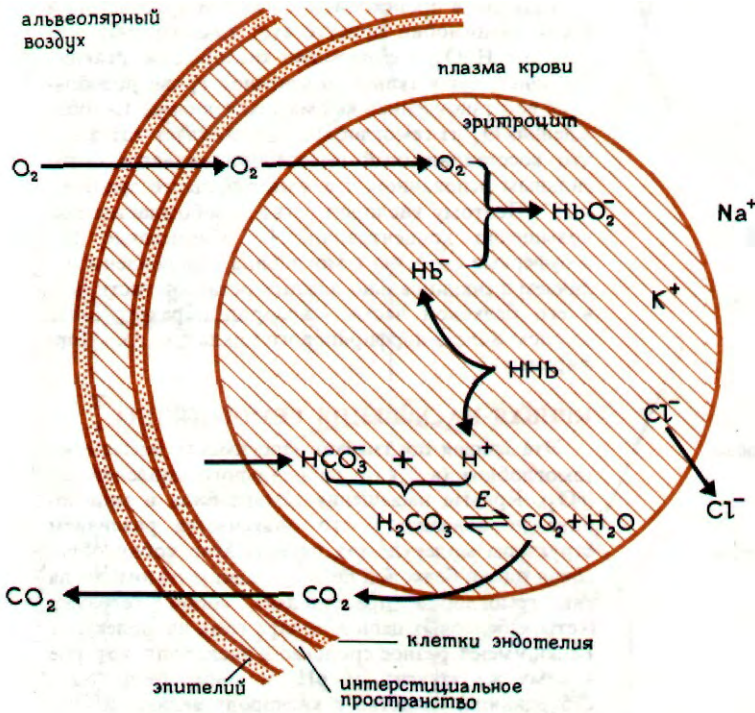
## ИЗМЕНЕНИЯ КОНФОРМАЦИИ МОЛЕКУЛЫ ГЕМОГЛОБИНА ПРИ СВЯЗЫВАНИИ $\text{O}_2$



Гемоглобин состоит из четырех пептидных цепей и четырех гемов, каждый из которых может связать одну молекулу кислорода. Присоединение  $\text{O}_2$  к одной из гемовых групп влияет на последующее присоединение  $\text{O}_2$  к трем остальным. Механизм этого явления, вероятно, следующий.

Молекулу гемоглобина можно представить себе состоящей из двух одинаковых частей, каждая из которых содержит одну  $\alpha$ -цепь и одну  $\beta$ -цепь (1). При взаимодействии  $\text{O}_2$  с одним из гемов происходит изменение конформации цепи (2). От  $\alpha$ -цепи оно механически передается на  $\beta$ -цепь (3). В новой (измененной) конформации сродство  $\beta$ -цепи к кислороду выше, чем в исходном состоянии, поэтому присоединение следующей молекулы  $\text{O}_2$  к  $\beta$ -цепи облегчено (4). Заполнение кислородом одной пары субъединиц  $\alpha\beta$  вызывает изменение конформации в другой паре (5), и она быстро и прочно связывает еще две молекулы  $\text{O}_2$  (6). На кривой насыщения эта фаза проявляется в виде резкого подъема, придающего кривой характерный сигмоидальный вид.

## ПРОЦЕСС ПЕРЕНОСА КИСЛОРОДА В КРОВИ



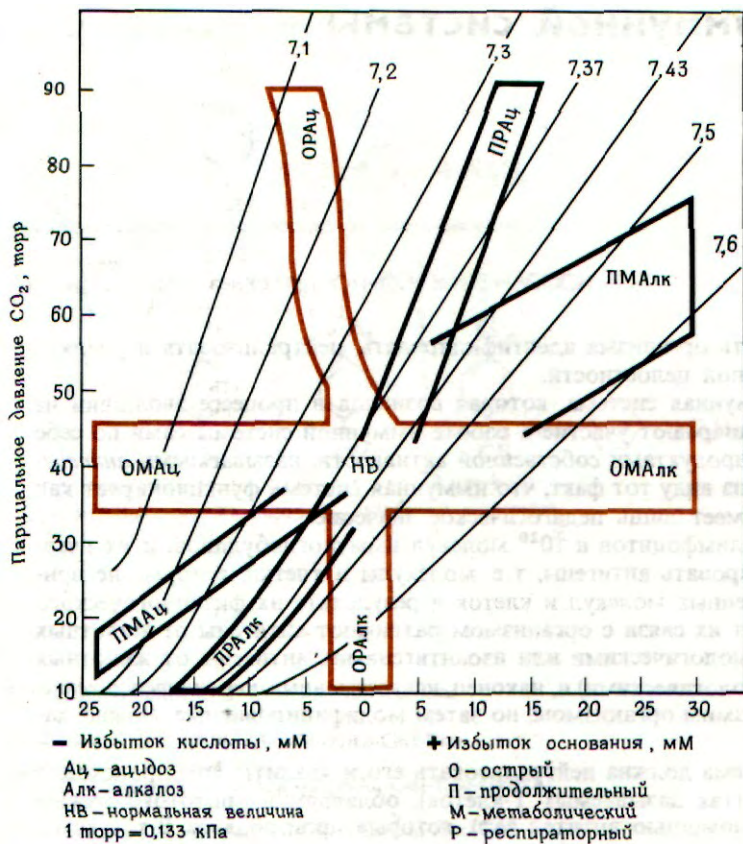
Кислород, переносимый гемоглобином, поступает в ткани, где он быстро расходуется на окислительные субстраты. Движение кислорода происходит по направлению градиента давления ( $pO_2$ ) в результате обычной диффузии. На пути к митохондриям, где он используется для получения энергии (см. гл. «Митохондрия, дыхание и фосфорилирование»), ему приходится преодолевать ряд барьеров в виде мембран различного типа и интерстициальных пространств.

Любое изменение толщины мембраны или ширины интерстиция удлиняет путь  $O_2$  к пункту назначения и вызывает нарушение энергетического метаболизма ткани.

В легких кислород присоединяется к восстановленному гемоглобину. Образование оксигемоглобина сопровождается освобождением протонов, вследствие чего их концентрация в эритроцитах возрастает. Ионы  $H^+$  реагируют с бикарбонатом с образованием угольной кислоты, которая быстро разлагается карбоангидразой на  $CO_2$  и  $H_2O$ . Оба эти вещества свободно диффундируют в плазму.  $CO_2$  переходит в альвеолы и выдыхается. Для поддержания электронейтральности внутренней среды в эритроциты взамен ушедших ионов  $HCO_3^-$  поступают из плазмы ионы  $Cl^-$ , для которых мембрана эритроцитов легко проницаема.

Постоянное поглощение кислорода из альвеолярного воздуха и выделение  $CO_2$  при выдыхании обеспечивают непрерывное протекание всех вышеупомянутых реакций.





## НАРУШЕНИЯ КИСЛОТНО-ОСНОВНОГО БАЛАНСА ОРГАНИЗМА И ИХ КОРРЕКЦИЯ И КОМПЕНСАЦИЯ

*Коррекцией* называют действие органа, компонент которого пострадал в результате некоторого нарушения. Так, почка корректирует нарушения метаболизма, а дыхательная система корректирует нарушения дыхания.

*Компенсацией* обозначают действие компонента, отличного от пострадавшего в результате нарушения. Дыхательная система компенсирует влияние компонентов метаболизма на рН организма, изменяя вентиляцию ( $p\text{CO}_2$ ). Ренальная регуляция обеспечивает выделение  $\text{H}^+$  и  $\text{HCO}_3^-$  в ответ на изменение рН, вызываемые изменением  $p\text{CO}_2$ .

При превышении потенциальных возможностей организма наблюдается отсутствие компенсации кислотно-основного баланса и рН выходит за допустимые пределы. В более благоприятном случае в результате компенсации рН стабилизируется в пределах нормы.

*Метаболический ацидоз* вызывается сокращением выделения  $\text{H}^+$  почкой или значительным перепроизводством  $\text{H}^+$  в организме при нарушении метаболизма. Примерами являются кетоацидоз, или лактатный ацидоз, возникающий в результате гипоксии мышц при анаэробном гликолизе. Это состояние компенсируется увеличением альвеолярной вентиляции, которое приводит к уменьшению  $p\text{CO}_2$ . Почечные каналцы (если они сами не являются причиной ацидоза) могут участвовать в устранении этого дефекта, удерживая бикарбонат.

*Метаболический алкалоз* наступает в результате большой потери ионов водорода, например, вследствие продолжительной рвоты и повышенного удержания бикарбоната у лиц с высоким уровнем минералокортикоида. Компенсация происходит путем уменьшения вентиляции и увеличивает уровень  $p\text{CO}_2$  в крови. Алкалоз, вызванный рвотой, частично корректируется ренальным выделением бикарбоната.

*Дыхательный ацидоз* возникает при уменьшении вентиляции легких, например при их заболеваниях и нарушениях функции дыхательных мышц под воздействием лекарственных препаратов (морфина, барбитуратов) на дыхательный центр. Он компенсируется увеличением выделения  $\text{H}^+$  почкой. Эта реакция организма развивается медленно, но приводит к полной компенсации.

*Дыхательный алкалоз* объясняется усиленной вентиляцией легких. Примером служит интенсификация дыхания при сильном эмоциональном возбуждении. Компенсируется уменьшением выделения  $\text{H}^+$  почкой.

# XIX

*Иммунитет* можно определить как способность организма идентифицировать, нейтрализовать и удалять чуждые структуры с целью сохранения собственной целостности.

Эту способность организма обеспечивает иммунная система, которая возникла в процессе эволюции из клеток двух типов: лимфы и макрофагов. Они принимают участие в работе иммунной системы сами по себе (клеточный иммунитет) или вместе с белковыми продуктами собственной активности, называемыми *антителами* (гуморальный иммунитет). Нельзя упускать из виду тот факт, что иммунная система функционирует как единое целое, так что разделение на два типа имеет лишь педагогическое значение.

Иммунная система состоит примерно из  $10^{12}$  лимфоцитов и  $10^{20}$  молекул иммуноглобулинов, и их главная задача заключается в том, чтобы идентифицировать антигены, т. е. молекулы и клетки, которые не принадлежат организму или образовались из собственных молекул и клеток в результате их физиологического или патологического изменения. В зависимости от их связи с организмом различают антигены от животных того же вида (*аллогенные*; ранее их называли гомологическими или изоантигенами), антигены от животных другого вида (*экзогенные*, ранее их называли гетерологическими) и, наконец, *искусственные, или синтетические*, антигены. Аллогенные антигены, произведенные самим организмом, но затем модифицированные, можно называть *аутологическими*.

После идентификации антигена иммунная система должна нейтрализовать его и удалить. Это происходит двумя путями: с помощью специальных клеток (так называемых Т-клеток), обладающих цитотоксическим действием, и их продуктов (лимфокинов) или с помощью антител (Ат), которые производятся В-клетками. Для обоих способов характерна специфичность в отношении структуры, чуждой для тела.

Нейтрализацию и удаление чуждых структур осуществляют также гуморальные факторы, называемые *комплементом* и *пропердиновой системой*. Фагоцитоз и внутриклеточное разрушение антигенов производят макрофаги. Работа всех вышеперечисленных компонентов иммунной системы, которые образуют так называемую иммунологическую сеть, регулируется таким образом, что иммунная реакция наступает в нужный момент, направлена на определенный антиген, адекватна и ограничена во времени. Отсутствие одного из этих качеств вызывает нарушения в организме и серьезные заболевания, угрожающие самому его существованию. Наиболее серьезны следующие нарушения.

*Гиперчувствительность* является следствием избыточной иммунной реакции. Она может быть раннего и замедленного типа.

Противоположностью повышенной чувствительности являются *иммунотолерантность* и *иммунодефицитность*. В первом случае отсутствует селективная иммунная реакция, а во втором отсутствуют или повреждены некоторые компоненты иммунной системы. И наконец, существуют *аутоиммунные заболевания*, при которых аллогенные антигены превращаются в аутологические и иммунная система организма начинает работать против себя.



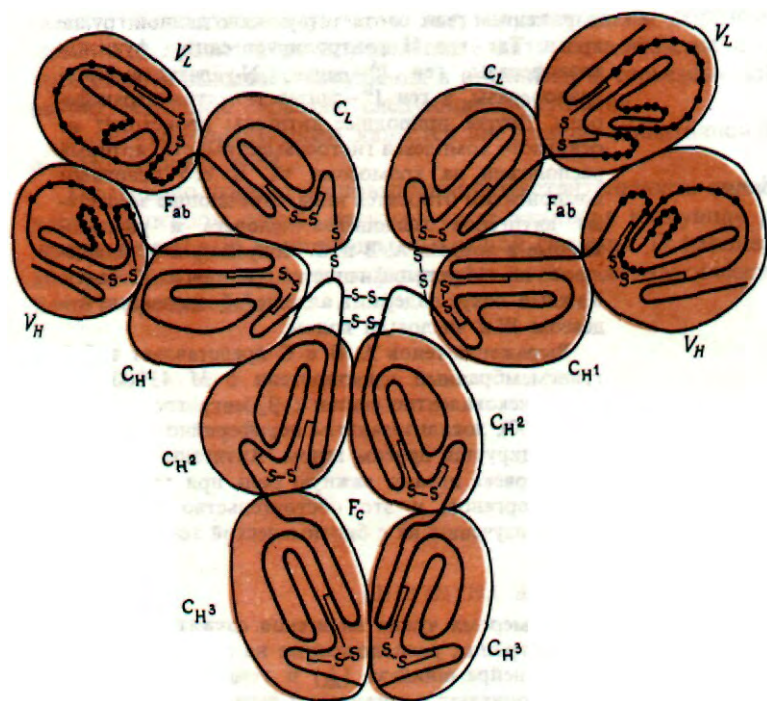


## ИДЕНТИЧНОСТЬ АНТИТЕЛ И ИММУНОГЛОБУЛИНОВ

Тип	Состав	Молекулярная масса $\cdot 10^{-3}$	Содержание в сыворотке крови, г/л	Полупериод жизни, сут
IgG	$\chi_2\gamma_2$ $\lambda_2\gamma_2$	143-149	9-15	23
IgM	$(\chi_2\mu_2)_5$ $(\lambda_2\mu_2)_5$	800-950	0,7-1,8	5,1
IgA	$(\chi_2\alpha_2)_{1-3}$ $(\lambda_2\alpha_2)_{1-3}$	158-162	1,5-2,6	5,8
IgD	$\chi_2\nu_2$ $\lambda_2\nu_2$	175-180	0,03	2,8
IgE	$\chi_2\varepsilon_2; \lambda_2\varepsilon_2$	185-190	0,05	2,5

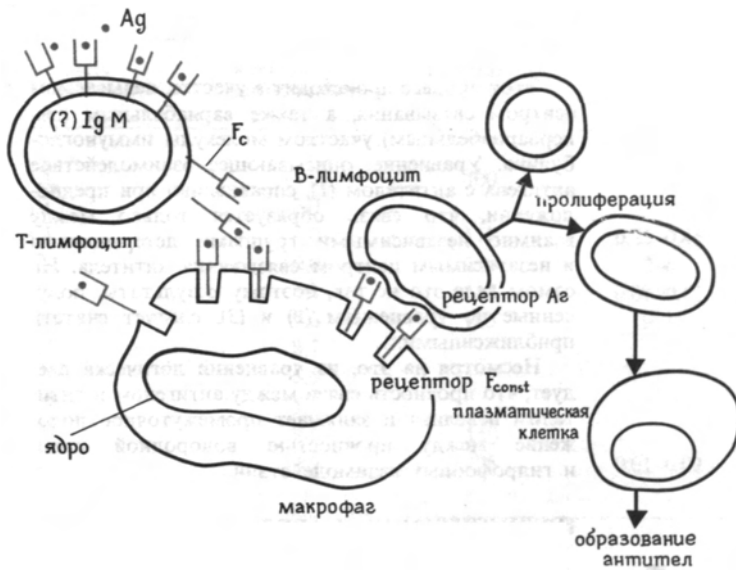
Антитела к различным антигенам представляют собой довольно однородную группу белков, которые при электрофорезе при pH 8,6 образуют так называемую зону  $\gamma$ -глобулинов. Отдельные компоненты этой смеси были выделены и названы иммуноглобулинами G, A, M, D и E, сокращенно IgG, IgA, IgM, IgD и IgE. Впоследствии обнаружили, что молекула каждого иммуноглобулина представляет собой тетрамер, образованный четырьмя полипептидными цепями. Эти цепи попарно идентичны и называются легкой L- (существует в двух видах -  $\lambda$  и  $\chi$ ) и тяжелой H-цепями (пять видов -  $\gamma$ ,  $\alpha$ ,  $\mu$ ,  $\delta$  и  $\varepsilon$ ). Классификация иммуноглобулинов основана на типе тяжелой цепи. В зависимости от вида H-цепь содержит разное число аминокислотных остатков (их последовательность установлена) и, следовательно, имеет различную M 50000-70000, а для L-цепей - 22500. Иммуноглобулины существуют в виде мономеров, димеров и тримеров (IgA) или пентамеров (IgM). Их состав, содержание в сыворотке и полупериод жизни приведены в таблице (в соответствии с данными Буддеке).

## ХИМИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ИММУНОГЛОБУЛИНОВ



Она изучена достаточно подробно. Легкая цепь состоит из 220 аминокислот, а тяжелая из 450-575. Анализ аминокислотной последовательности обнаружил, что некоторые участки цепей вариабельны ( $V_L$  и  $V_H$ ) т.е. имеют разную аминокислотную последовательность, а некоторые постоянны ( $C_L$  и  $C_H$  1-3). Из схемы видно, что отдельные участки цепей имеют форму внутренних петель из 60-70 остатков, соединенных дисульфидной связью. В пространстве они образуют два антипараллельных слоя со складчатой структурой. Центры связывания антигенов (по два на молекулу) расположены на участках  $V_H$  и  $V_L$ . Эти участки содержат так называемые гипервариабельные сегменты, которые и обеспечивают комплементарность антигену. Взаимодействие имеет скорее всего гидрофобный характер (по-видимому, с участием водородных связей), поскольку в зоне контакта преобладают гидрофобные аминокислоты. Существование большого числа иммуноглобулинов, отличающихся только последовательностью аминокислот в вариабельных участках, по-видимому, является результатом отбора при эволюции. Константная часть молекулы иммуноглобулинов ( $F_c$ ) обеспечивает одинаковую судьбу комплекса после связывания со специфическими антигенами. Методом рентгеноструктурного анализа установлено, что участки  $V_H$  и  $V_L$  сравнительно подвижны и что стабилизация структуры происходит только после присоединения антигена.

## ОБРАЗОВАНИЕ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ



На клеточном уровне. Для синтеза иммуноглобулинов необходима согласованная активность клеток трех типов - Т-лимфоцитов, В-лимфоцитов и макрофагов. Все они имеют ряд рецепторов на плазматической мембране. Клетки Т- и В-лимфоцитов содержат рецепторы иммуноглобулинов, и их специфичность различна. Кроме того, на них есть свободный рецептор для фрагмента  $F_c$ . Иммуноглобулины IgM и IgG с разными вариабельными участками  $V_H$  и  $V_L$  связываются В-клетками. Каждая клетка образует лишь один строго определенный тип молекул иммуноглобулина. Макрофаги имеют рецепторы для фрагмента  $F_c$  и компонента. Считается, что антиген, попавший в организм, помечается специфическим антителом и образовавшийся комплекс присоединяется своим концом  $F_c$  к Т-клетке или макрофагу (иногда антиген прямо связывается с поверхностью Т-клетки, а лишь затем с макрофагом, но чаще он присоединяется в виде комплекса с антителом к макрофагу без участия Т-клетки). Роль макрофагов состоит в превращении антигена в иммуноген, т.е. в вещество, способное индуцировать образование антител. Механизм этого процесса и природа иммуногена пока неизвестны. После получения иммуногенного стимула от макрофага В-клетки начинают размножаться и дифференцироваться и через стадию лимфобластов превращаются в плазматические клетки, которые и служат источником иммуноглобулинов.

На субклеточном уровне. Существуют две теории, касающиеся механизма образования иммуноглобулинов. Клонально-селекционная теория предполагает, что в организме есть достаточное количество предсуществующих В-лимфоцитов, способных обеспечить синтез большого количества иммуноглобулинов с различными участками  $V_H$  и  $V_L$ . Антиген связывается с лимфоцитом, рецептор которого лучше всего соответствует ему, и этот лимфоцит начинает размножаться и превращаться в плазматическую клетку (Бернет). Инструктивная теория предполагает, что каждый лимфоцит независимым образом синтезирует большое количество не связанных дисульфидными мостиками L- и H-цепей с различными участками  $V_H$  и  $V_L$ . S-S-связи образуются как только антиген (точнее, иммуноген) вызывает комплементарную пространственную ориентацию нужных участков тяжелых и легких цепей внутри клетки. Образование дисульфидных мостиков может катализировать тиолдисульфидтрансфераза в присутствии глутатиона. После образования тетрамера с антигеном (иммуногеном), фермент высвобождается и процесс повторяется.

## ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ АНТИГЕНА С АНТИТЕЛОМ



$$K = \frac{k_1}{k_2} = \frac{[\text{Ag}-\text{At}]}{[\text{Ag}][\text{At}]} = 10^{-6} \text{ до } 10^{-7} \quad (2)$$

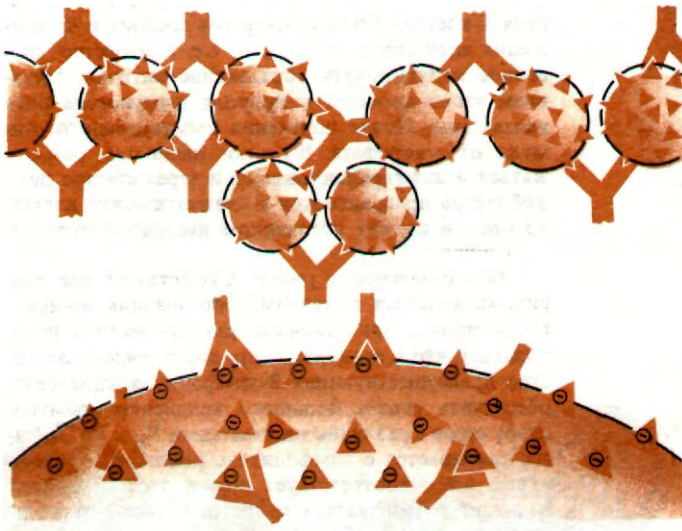
$$\begin{aligned} \Delta G^\circ &= -RT \ln K = \\ &= 47-72 \text{ кДж/моль} \end{aligned} \quad (3)$$

Этот процесс происходит в участке, называемом центром связывания, а также варибельным (гиперварибельным) участком молекулы иммуноглобулина. Уравнение, описывающее взаимодействие антигена с антителом (1), справедливо при предположении, что связь образуется только между взаимно независимыми группами детерминанты и независимым центром связывания антитела. На самом деле это не так, поэтому результаты, полученные по уравнениям (2) и (3), следует считать приближенными.

Несмотря на это, из уравнений логически следует, что прочность связи между антигеном и антителом невелика и занимает промежуточное положение между прочностью водородной связи и гидрофобных взаимодействий.

## ПРЕЦИПИТАЦИЯ И АГГЛЮТИНАЦИЯ

Взаимодействие антигена с антителом имеет ряд особенностей, связанных с валентностью антитела. Молекула антитела содержит два центра связывания и формально двухвалентна. Поэтому она может взаимодействовать с двумя детерминантами, принадлежащими двум разным молекулам антигена. Если антиген является белком, то его размеры в первом приближении такие же, как у антитела. При примерном равенстве их концентраций образуется структура с множеством внутренних контактов, растворимость уменьшается и образуется осадок. Теоретически похожая ситуация возникает в том случае, когда антигеном являются поверхностные структуры клеток. В этом случае, однако, сказывается различие размеров взаимодействующих компонентов. На поверхности клетки может находиться большое количество детерминант, которые связывают такое же количество антител. Если при этом происходит экранирование отрицательных зарядов на поверхности клеток, благодаря которым они отталкиваются друг от друга, то клетки начинают слипаться (агглютинировать).



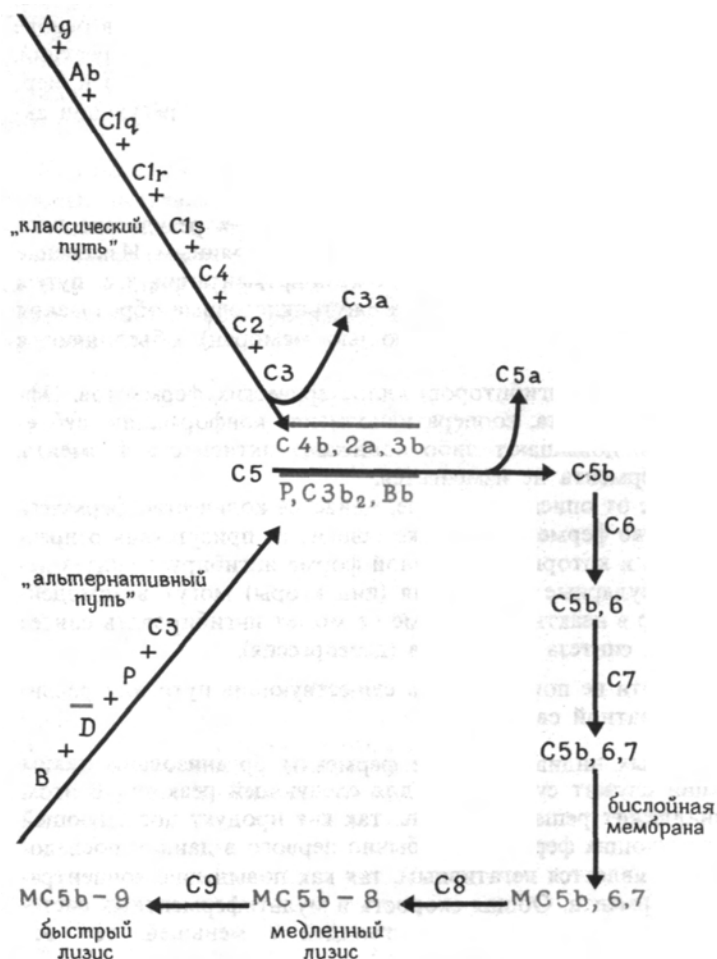
## КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПИСАНИЕ РЕАКЦИИ АНТИГЕНА С АНТИТЕЛОМ

Взаимодействие антиген-антитело лучше всего прослеживается *in vitro* в реакции преципитации. Если в серию пробирок с возрастающей концентрацией антигена прибавить одинаковое количество антитела, то преципитация произойдет лишь в пробирках с благоприятным соотношением между антигеном и антителом, т.е. в узком диапазоне концентраций антигена. При избытке одного из компонентов осадок не образуется. Определение титра служит основой количественных исследований в иммунологии. Полезно помнить, что все лабораторные методики, связанные с образованием осадка (обычная и двойная диффузия, иммуноэлектрофорез), следует применять при оптимальных концентрациях обоих реагирующих соединений.





Часть комплемента	Константа седиментации	Молекулярная масса $\cdot 10^3$	Концентрация в крови, мг/л
C1 <sub>q</sub>	11,0	400	1-2
C1 <sub>r</sub>	7,0		
C1 <sub>s</sub>	4,0	110	0,25-0,45
C4	10,0	230	2-6
C2	5,2	117	0,08-0,12
C3	9,0	185	9-15
C5	8,7		
C6	6,6		
C7	5,6		
C8	8,5	150	
C9	4,5	75	0,01-0,02



Сыворотка крови содержит группу белков с различными свойствами и размерами, образующих при последовательной ассоциации комплекс, называемый *активным комплементом* (C). Эта структура отвечает за уничтожение сенсibilизированных эритроцитов и грамотрицательных бактерий. Комплемент содержит 11 различных белков плазмы крови (C1-C9, причём C1 состоит из трех белков: C1<sub>q</sub>, C1<sub>r</sub> и C1<sub>s</sub>). В присутствии Ca<sup>2+</sup> C1 присоединяется к антителу, образовавшему комплекс с антигеном (Ag-At). Прочность связи с IgM выше, чем с IgG, тогда как IgA, IgD и IgE вообще не присоединяют комплемент, при связывании C1 появляется протеазная активность и становится возможным присоединение C4. Оно протекает так, что сначала C4 расщепляется на две части, C4<sub>a</sub> и C4<sub>b</sub>, из которых первая деградирует, а вторая образует комплекс с C1. После этого связывается компонент C2. Он также расщепляется на активный фермент C2<sub>a</sub> («конвертазу») и остаток C2<sub>b</sub>, который деградирует. Комплекс C1 • C4<sub>b</sub> • C2<sub>a</sub> присоединяет компонент C3, после чего он также распадается на C3<sub>a</sub> (имеющий анафилактическую функцию - способность высвобождать гистамин из гранул разнообразных клеток) и C3<sub>b</sub>. Так образуется ассоциат C1 • C4<sub>b</sub> • C2<sub>a</sub> • C3<sub>b</sub>, с протеазной активностью. Входящий в его состав компонент C3<sub>b</sub> может взаимодействовать с мембранами микробов. Такое взаимодействие, как бы коротко оно ни было, вызывает присоединение лейкоцитов и бактериальный фагоцитоз. Так же связывается C5, который распадается на анафилатин C5<sub>a</sub> и присоединяемую часть C5<sub>b</sub>. После последовательного связывания C6 и C7 образуется комплекс MC5<sub>b</sub>,6,7 (символом М обозначена его часть, способная взаимодействовать с плазматической мембраной). По данным электронной микроскопии механизм взаимодействия представляет последовательное внедрение отдельных белков в липидные слои мембраны. Внедрение облегчается за счет ассоциации с компонентами C8 и C9. Первый из них придает клетке способность к лизису, а благодаря второму этот процесс *очень ускоряется*. При лизисе комплекс (MC5<sub>b</sub>-9) образует множество круглых отверстий в мембране, которые пронизывают ее насквозь и образуют каналы для входа Na<sup>+</sup> и Ca<sup>2+</sup> и выхода K<sup>+</sup>. Это приводит к набуханию, а затем разрыву клетки.

Другой механизм лизиса клеток, основанный на работе *пропердиновой системы*. Он функционирует даже в отсутствие антител, поэтому может быть использован тогда, когда антитела не образуются. Пропердиновая система состоит из трех частей: пропердина (P, одного или нескольких), богатого глицином β<sub>2</sub>-гликопротеина (B) и протеазы (D), которая присутствует в виде профермента. Пропердин образован несколькими субъединицами, активируемыми зимозаном (дрожжевым полисахаридом), эндотоксином (бактериальным липосахаридом) и инулином. Активированный пропердин активирует компонент C3 комплемента, который приобретает свойства «конвертазы» (D). Фермент воздействует на фактор B, тот расщепляет C3 на C3<sub>a</sub> и C3<sub>b</sub>. Последний связывает C5-C9, как описано выше. Пропердиновая система, для которой не нужны антитела, по-видимому, возникла раньше комплемента и обнаружена даже у беспозвоночных.

# XX

И клетка, и организм в целом являются относительно изолированными системами, находящимися в квази-стационарном состоянии. Регуляция функций как организма в целом, так и его частей отвечает задаче максимального выживания. Поскольку биологические системы развиваются в пространстве и во времени, то они подчиняются и пространственной, и временной регуляции.

*Пространство* начинает играть роль на высших ступенях организации структуры. Примерами могут служить сохранение структурной стабильности белков, ассоциация ферментов с кооперативным действием в мультиферментные комплексы и их локализация в строго определенных частях клетки (митохондрия, эндоплазматический ретикулум), а также специализация клеток и тканей за счет процессов дифференциации.

*Время* участвует в регуляции главным образом посредством изменения скоростей реакций (метаболизма, транспорта и других). Практически и пространство, и время выступают в регуляции одновременно.

Механизмы регуляции начинают действовать на самых различных уровнях организации, однако в основе их всегда лежат молекулярные механизмы. Функции организма могут регулироваться посредством реакций, протекающих в клетке (метаболическая регуляция), а также на уровне всего организма (гормональный, нервный контроль). Метаболические процессы в клетке контролируются главным образом путем регуляции активности индивидуальных ферментов.

### **Активность ферментов может регулироваться несколькими путями**

1. *Изменением концентрации субстратов* или коферментов (метаболический сигнал), в результате чего происходит изменение активности фермента, при этом количество фермента остается постоянным. Изменение концентрации соединения, подающего сигнал, в основном достигается за счет компартментации, т.е. путем образования мембран, отделяющих клетку от внеклеточной среды и меньшие внутриклеточные образования от клетки в целом. Эти части клетки отделяются пространственно (с помощью мембран), объединяются функционально (с помощью переносчиков).

2. *Изменением концентрации эффекторов* (активаторов и ингибиторов) аллостерических ферментов. Эффекторы взаимодействуют с аллостерическим центром фермента, кооперативно меняя конформацию субъединиц, из которых состоит фермент, и, таким образом, повышают либо понижают активность фермента. В ходе этого процесса количество аллостерического фермента не изменяется.

3. *Индукцией или репрессией*. В этом случае, в отличие от описанных выше, меняется количество фермента в системе, и, следовательно, общая активность. Количество фермента в клетке зависит от присутствия репрессорного белка, который кодируется регуляторным геном и который в активной форме ингибирует синтез некоторых ферментов (репрессия). Некоторые низкомолекулярные соединения (индукторы) могут взаимодействовать с репрессором и дезактивировать его. Репрессор в неактивной форме не может ингибировать синтез данного фермента. Этот процесс называется индукцией синтеза ферментов (дерепрессия).

Существенно, что при этом новые метаболические пути не появляются, а существующие пути или реализуются, или блокируются в основном по принципу обратной связи.

*Мультиферментные системы* - это системы, в которых индивидуальные ферменты организованы таким образом, что продукт одной ферментативной реакции служит субстратом для следующей реакции. В этом случае регуляции по принципу *обратной связи* принадлежит решающая роль, так как продукт последующей реакции контролирует активность одного из предшествующих ферментов, обычно первого в данной последовательности. Контроль по типу обратной связи обычно является негативным, так как повышение концентрации продукта ингибирует образование регуляторного фермента. Общая скорость в мультиферментных системах определяется *скоростью лимитирующей реакцией*, т.е. реакцией, протекающей с меньшей, чем все остальные, скоростью.

Для регуляции на уровне всего организма необходимы специальные дифференцированные клетки и структуры, которые несут контрольные функции (нервные клетки, эндокринные железы). Известно, что эти клетки продуцируют некоторые соединения, которые можно рассматривать как материальные переносчики информации, несущие сигналы из одной части организма в другую.

*Нервная регуляция* достигается посредством глиальных клеток, взаимосвязанных через полые и очень длинные образования. Нервная регуляция адресуется особому рецептору и протекает очень быстро, однако она не может объять все клетки организма. Молекулярной основой этого типа регуляции является регуляция изменением концентрации ионов внутри и снаружи нервных клеток, которые начинают и продолжают передачу нервного импульса. В конце концов импульс передается к другой клетке с помощью молекул *медиаторов*.

*Гормоны* являются молекулярной основой *гормональной регуляции*. Гормоны могут достигать любых клеток организма, однако действуют лишь на некоторые из них (клетки тканей, которые являются мишенью действия гормонов), специфично чувствительные к гормональному воздействию. Эффективность регуляции повышается, если гормоны переходят от клеток, в которых они продуцируются, к клеткам тканей в комплексе со специфическими белками. Хотя такая регуляция протекает медленнее нервной регуляции, она может действовать на любые клетки организма при условии, что они имеют соответствующий рецептор. Предполагается, что основной процесс гормональной регуляции заключается в связывании гормона поверхностью белкового рецептора или же компонентом цитоплазмы.

В первом случае гормон не проникает сквозь мембрану, а реагирует с белком, связанным с аденилатциклазой, которая в свою очередь катализирует образование циклического АМР из АТФ. сАМР воздействует на большое число внутримолекулярных реакций (например, активация протеинкиназы), и поэтому он получил название «второго посредника».

Во втором случае гормон проникает через мембрану и реагирует с белковым рецептором цитоплазмы. Затем комплекс переходит в ядро, где он уже на уровне ДНК повышает количество синтезирующихся специфических мРНК и рРНК. Эти РНК затем контролируют синтез ферментов, которые участвуют в регуляции метаболических процессов,

Обе системы регуляции (нервная и гормональная) образуют своеобразную иерархию (т.е. продукт или импульс, поступающий из старшей системы, действует как регулятор на систему, занимающую более низкое место в иерархии). Как при регуляции каждой из систем (нервной или гормональной), так и при их совместном действии важную роль играет обратная связь.

*Центральная нервная система* является старшей в сравнении с другими путями нервных связей и гормональных регуляций, так как она способна хранить информацию, передаваемую сигналами, в *памяти*, т.е. в специфических структурах глиальных клеток, и использовать эту информацию по мере надобности.

Нервная и гормональная регуляции связаны между собой на уровне гипоталамуса и гипофиза. Молекулярной основой этой связи являются относительно простые пептиды, называемые *релизинг-факторами*. Примером является тиреотропинрелизинг-фактор, который представляет собой амид L-пироглутамил-L-гистидил-L-пролина.



## ИНФОРМАЦИЯ, ЕЕ СОДЕРЖАНИЕ И ПЕРЕНОС

Информация - это то, что несет отпечаток факта или события, которое произошло или должно произойти. Физический процесс, содержащий переносимую информацию, называется *сигналом*; он связан с материальным объектом или процессом.

Степень информации (энтропия), содержащейся в данном сообщении, равна сумме информации его элементов.

$$I = - \sum_{i=1}^{i=m} p_i \log_2 p_i$$

$i$  — число элементов, составляющих сообщение,

$P_i$  — вероятность осуществления этих элементов,

$\log_2$  — логарифм по основанию два (он наилучшим образом характеризует двойственную логику мышления: быть - не быть, да - нет, все - ничего и т.д.),

$I$  — энтропия. Используемый здесь термин «энтропия» не идентичен термодинамической энтропии ( $S$ ) и имеет с ней только формальную аналогию.

Информация определяет поведение системы. Количественное выражение переменных обозначается как информация. *Содержание* информации предельно важно. Степенью содержания информации является ее *энтропия* (по аналогии со степенью дезорганизации системы). Информация понижает энтропию (дезорганизацию) и повышает организацию системы.

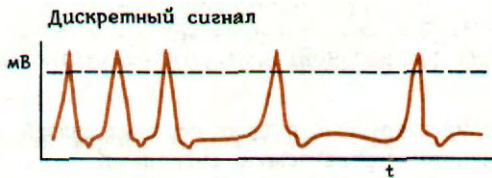
Как следствие вероятностного характера энтропии, более высокая организация системы связана с более низкой вероятностью случайных процессов; это одна из главных предпосылок успешного регулирования. Для того чтобы понять информацию, необходимо знать код, т.е. способ ее представления. В настоящее время в биохимии такой код известен только в случае так называемой *генетической информации*.

## СИГНАЛ

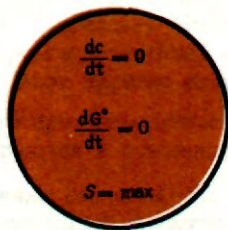
*Сигнал*, в котором обычно закодирована информация, - это материальный переносчик информации. Сигналы переносятся от одной системы к другой (или внутри системы) по так называемым *каналам связи*. Количество переносимой в единицу времени информации не может быть больше пропускной способности канала связи.

Сигналы могут быть *непрерывными* или *дискретными* (прерывными), но дискретные сигналы являются лишь частным случаем непрерывных.

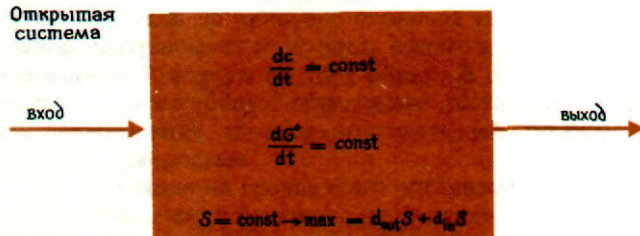
В биохимии данные, касающиеся *концентрации* (субстратов, продуктов, эффекторов и т.д.) можно рассматривать как непрерывный сигнал. Содержащаяся в нем информация отражает важнейшие данные, которые могут непосредственно использоваться в регуляции метаболических процессов.



Замкнутая система



Открытая система



$c$  — концентрация,  $G^0$  — свободная энергия,  $S$  — энтропия

## СИСТЕМА

Каждую систему можно изучать в двух аспектах:

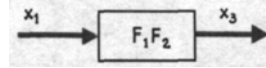
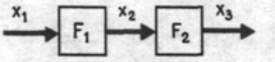
- 1) ее структуры;
- 2) ее поведения.

1. По своей структуре системы делятся на элементы (подсистемы), связанные между собой.

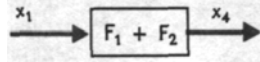
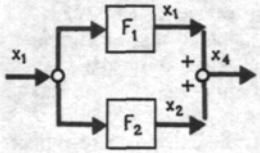
2. Поведение системы - это фактически совокупность ее реакций в ответ на воздействия, поступающие из окружающей среды.

Системы могут быть: замкнутые - совершенно изолированные от окружающей среды (существует связь только между собственными элементами), либо открытые - кроме внутренних связей имеются и внешние; *относительно изолированные* (открытые) - в которых также существуют внутренние и внешние связи. Внешние связи системы - это либо входы (через сенсоры), либо выходы (через эффекторы). Большинство живых объектов принадлежат к системам такого типа.

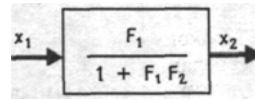
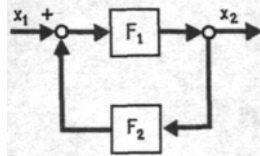
**Последовательная связь**



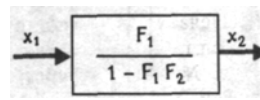
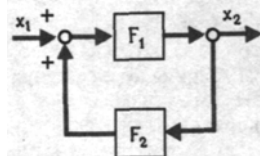
**Параллельная**



**Обратная связь отрицательная:**



**положительная:**



**ПРИМЕРЫ СВЯЗЕЙ МЕЖДУ ДВУМЯ СИСТЕМАМИ**

Две системы могут быть связаны тремя основными способами.

*Последовательно:* элементы следуют один за другим. Связанные между собой элементы по своей реакции на входное воздействие (передаточной функции) могут быть заменены на один элемент, включающий в себя произведение передаточных функций последовательно связанных элементов.

*Параллельно:* передаточная функция системы, состоящей из двух элементов, связанных параллельно, соответствует сумме передаточных функций связанных элементов.

*Через обратную связь:*

1. Отрицательную - часть выходного сигнала  $x_2$  передается через элемент  $F_2$  на вход системы таким образом, что величина входного сигнала при этом понижается до  $(x_1 - \Delta x_2)$ .

2. Положительную - часть входного сигнала  $x_2$  передается через элемент  $F_2$  на вход системы таким образом, что величина входного сигнала при этом повышается до  $(x_1 + \Delta x_2)$ .

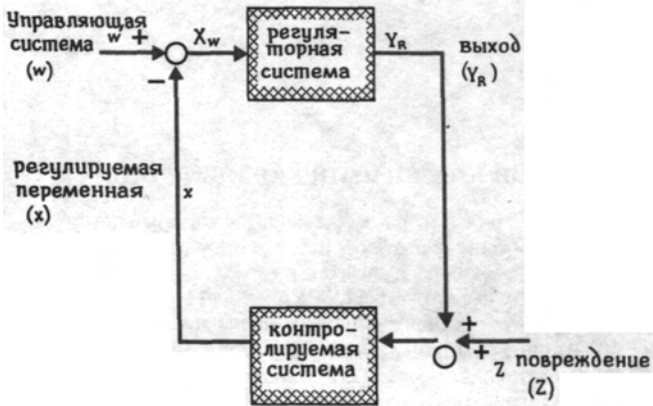
$F_1, F_2$  - передаточные функции системы.

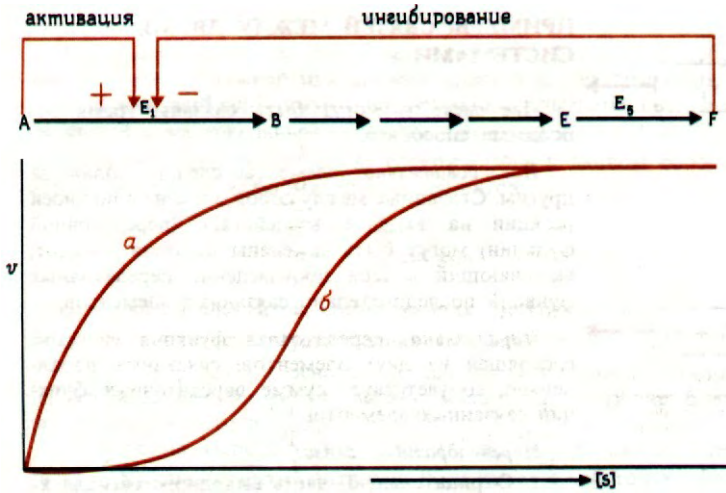
**КОНТУР РЕГУЛИРОВАНИЯ (УПРАВЛЕНИЯ)**

Большинство терминов, используемых для объяснения регуляторных механизмов, взято из технических наук. Та же самая терминология используется в так называемом автоматическом регулировании, т.е. в автоматическом поддержании некоторых физических (или химических) величин в предварительно определенных границах. Регулируемый механизм называется *управляемой системой*, а механизм, выполняющий регулирование, называется *блоком управления* или *регулятором*. Эти две части образуют *контур регулирования*. Регулируемая величина, т.е. такая величина, которая изменяется при отклонении системы от заданного состояния (например, стационарного), обозначается  $x$ . Из схемы видно, что в данном случае представлен контур регулирования с отрицательной обратной связью, в котором выходной сигнал  $x$  вычитается из входного сигнала  $w$ .

*Сигнал ошибки  $x_w$*  - это разница между действительной  $x$  и требуемой  $w$  величиной. Он должен быть как можно меньше либо равным нулю. Требуемое значение регулируемой величины задается системе управления посредством *управляющей величины  $w$* . Отсюда следует, что  $x_w = w - x$ . Возможны случайные и непреднамеренные изменения регулируемой величины под воздействием различных *возмущений  $z$* .

*Сигнал управления  $Y_R$*  - это величина, которая так воздействует на управляемую систему, что обеспечивает минимальное отклонение системы от заданного состояния.



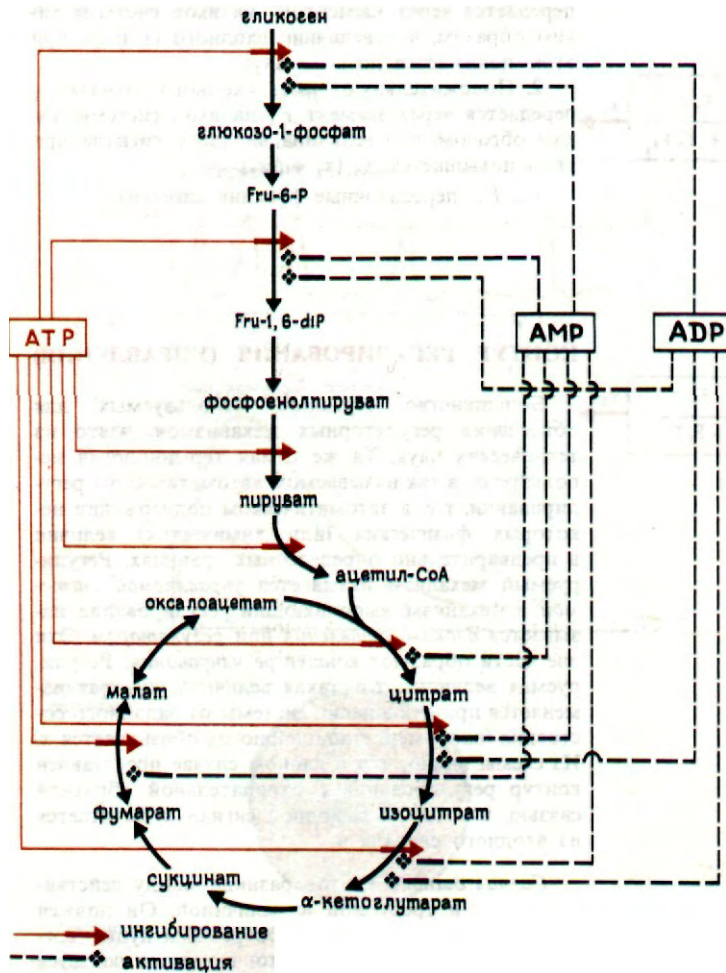


## РЕГУЛЯТОРЫ В БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМАХ

Первый фермент в мультиферментных системах является обычно регулятором. Поскольку аллостерические ферменты часто участвуют в регулировании (регуляторные ферменты), роль сигнала управления ( $a$ ) играет эффектор (положительный - активатор, отрицательный - ингибитор),

Кинетика ферментативных реакций в присутствии эффектора характеризуется графически: 1) сигмоидной кривой, 2) изменением наклона кривой в присутствии эффектора. Таким образом, закон действующих масс (Гульдберг-Вааге) подчеркивает механизм обратной связи ( $b$ ).

A - субстрат, F - продукт, B-E - промежуточные соединения,  $E_1$ - $E_3$  - ферменты.



## ПРИМЕРЫ РЕГУЛЯТОРОВ

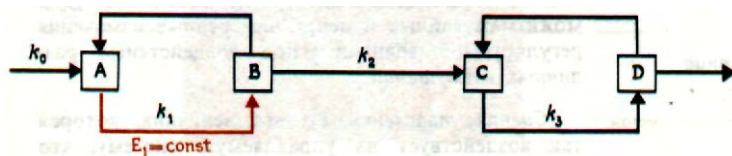
Аденилаты (AMP, ADP, ATP) относятся к хорошо известным регуляторам биологических систем.

Для протекания реакций, катализируемых ферментами, наиболее важными факторами являются общее количество аденилатов и взаимная связь между индивидуальными компонентами. AMP функционирует как положительный эффектор, стимулируя активность ферментов. Это отражает ключевое положение AMP в регуляции превращения субстратов и энергии в живых организмах.

AMP стимулирует активность: а) фосфофруктокиназы; б) цитратсинтазы; в) изоцитратдегидрогеназы; г) фумаразы. ATP ингибирует все вышеперечисленные реакции (в особенности б и в).

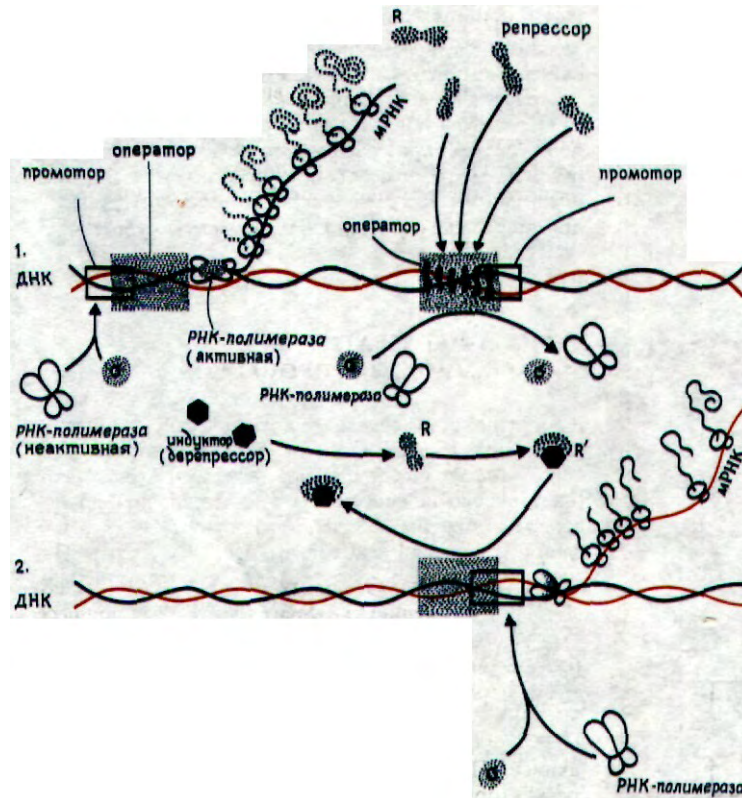
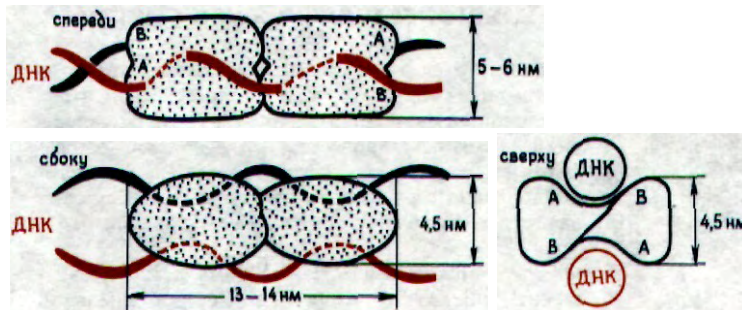
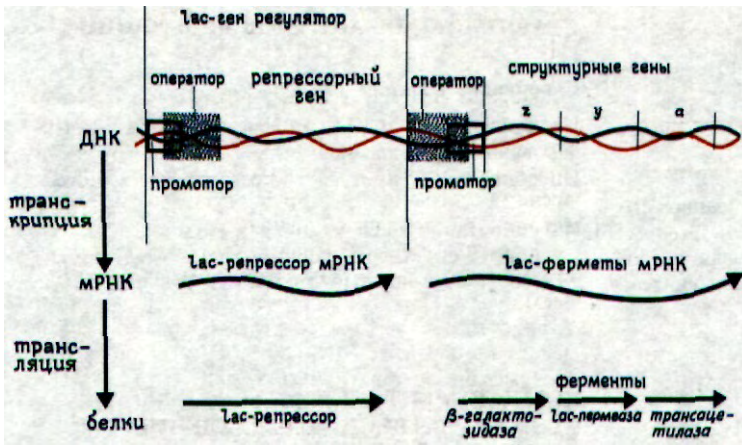
## СКОРОСТЬЛИМИТИРУЮЩИЕ ПРОЦЕССЫ

Серия последовательных реакций может включать одну реакцию, которая лимитирует процесс. Эта реакция называется контролирующей или скоростьюлимитирующей реакцией. Ферменткатализируемая реакция, протекающая при насыщающей концентрации субстрата в условиях стационарного состояния, может быть скоростьюлимитирующей реакцией. При выполнении перечисленных условий регуляторную роль в серии последовательных ферментативных реакций может проявлять реакция с самым низким значением  $V_{max}$ .





## ИНДУКЦИЯ И РЕПРЕССИЯ



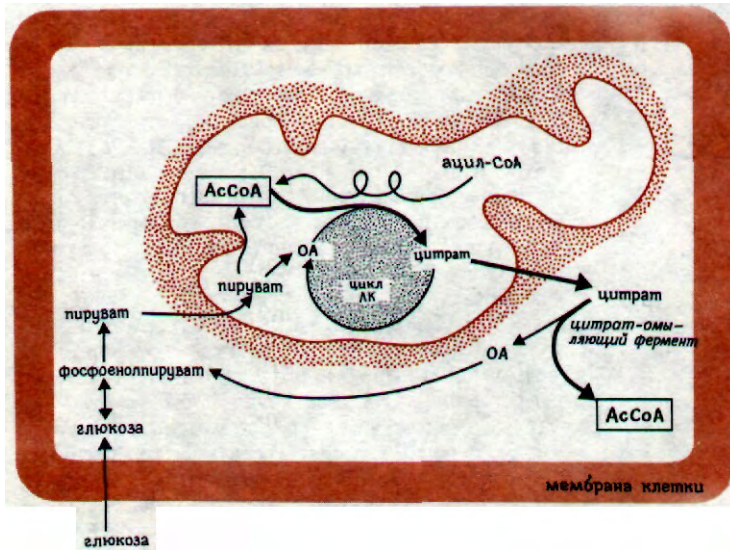
Эти процессы были изучены и выяснены на примере *Escherichia coli* (Моно, Жакоб). В стандартном штамме *E. coli* галактозиды (лактоза) обычно не вступают в метаболизм. Следовательно, в этом микроорганизме отсутствуют ферменты, принимающие участие в метаболизме лактозы (галактозилаза, лактозопермеаза, трансацетилаза). Если в средодобавляется лактоза, индуцируется синтез всех трех ферментов, необходимых для ее метаболизма. Механизм этого процесса объясняется следующим образом: в хромосоме *E. coli* присутствуют структурные гены (*z*, *y*, *a*), кодирующие эти три фермента. Эти гены включаются соседним операторным геном (*o*), Операторный ген находится под влиянием двух факторов - репрессора и индуктора. Репрессор может существовать в двух формах - активной *P* и неактивной *P'*. Активная форма способна реагировать с операторным геном и препятствовать транскрипции структурных генов. Репрессор представляет собой белок, образованный транскрипцией регуляторного гена *i* и состоит из четырех субъединиц (каждая субъединица содержит 345 аминокислот и имеет молекулярную массу 37000). На поверхности репрессора существуют две бороздки, через которые белок может взаимодействовать с участками обеих цепей ДНК (содержащими около 27 пар оснований с характерной центральной симметрией, которая ответственна за вращательную симметрию, обеспечивающую связывание репрессора) и ингибировать транскрипцию. С другой стороны, репрессор может взаимодействовать с низкомолекулярной молекулой - индуктором. Благодаря этому взаимодействию репрессор превращается в неактивную форму *P'* (возможно, это происходит в результате изменения конформации). Эта неактивная форма уже не может взаимодействовать с операторным геном и, следовательно, препятствовать транскрипции структурных генов. Это происходит в том случае, когда должен начаться синтез фермента. Транскрипция начинается в районе ДНК, который называется *промотором* (последовательность оснований этого участка уже известна). В этом участке связывается РНК-полимераза и начинается транскрипция (синтез мРНК). Для синтеза необходим сАМР, который образует активный комплекс со специфическим белком (сАР-белок, активирующий катаболитный ген) и стимулирует транскрипцию. Отсутствие сАМР препятствует началу транскрипции. Истинным индуктором в *E. coli* служит 1,6-аллолактоза, изомер лактозы. Она синтезируется из лактозы реакцией, катализируемой β-галактозидазой. Принцип регуляции с помощью индукции и репрессии является примером клеточной экономии. Клетка синтезирует только те белки (ферменты), которые необходимы в данных условиях. Такой тип регуляции часто встречается в микроорганизмах.

### С помощью репрессии—индукции

Количество репрессора определяет скорость синтеза ферментов

Репрессор ингибирует синтез ферментов

Индуктор (депрессор) реагирует с репрессором, превращая его в модифицированную форму, которая не может реагировать с геном-оператором. Так стимулируется синтез ферментов. Регуляция протекает с запаздыванием (которое определяется скоростью синтеза ферментов *de novo*).



### СРАВНЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ РЕГУЛЯЦИИ

#### С помощью обратной связи

По этому пути меняется активность уже синтезированных ферментов.

Ингибирование протекает практически мгновенно.

Ингибирование является обратимым.

Ингибируется только первый из ферментов, катализирующих последовательность реакций.

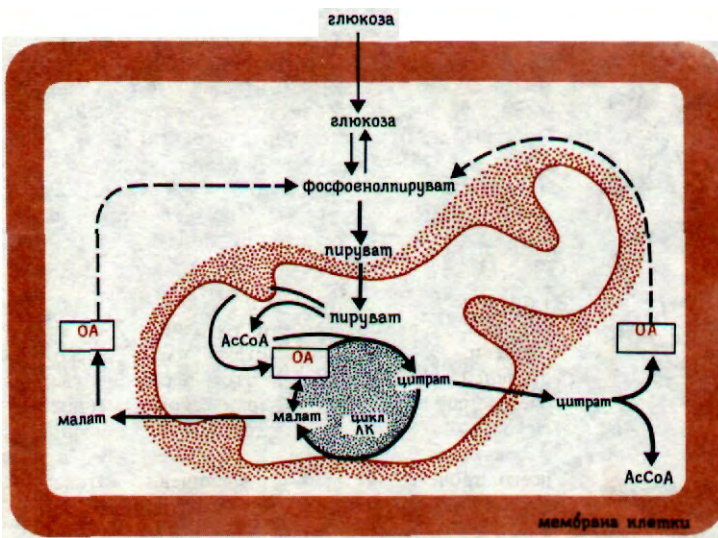
### КОМПАРТМЕНТАЦИЯ (ПРОСТРАНСТВЕННОЕ РАЗДЕЛЕНИЕ) - ВАЖНЕЙШИЙ ФАКТОР РЕГУЛЯЦИИ БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМ

В живых объектах не все метаболические процессы протекают в одном и том же месте (например, в целой клетке). Цикл лимонной кислоты является центральным процессом метаболизма, однако ферменты этого цикла локализованы внутри митохондриального матрикса и доступность субстратов зависит от их транспорта через мембрану митохондрии.

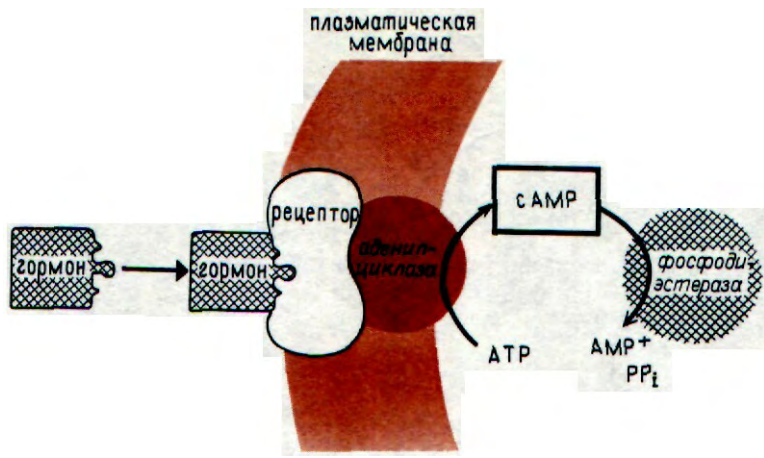
В этом плане весьма важна связь между превращением ацетил-СоА (или ацил-СоА) и лимонной кислотой. Ацетил-СоА присутствует в цитоплазме (где он используется в процессах синтеза, но не синтезируется сам). Поступает он в цитоплазму из митохондрий, где синтезируется либо окислительным декарбоксилированием пирувата, либо окислением ацил-СоА в виде цитрата. Цитрат синтезируется в результате реакций ацетил-СоА с оксалоацетатом (ОА). В цитоплазме ацетил-СоА высвобождается при расщеплении цитрата (цитратомыляющим ферментом) и используется в реакциях синтеза. Его партнер, оксалоацетат, может, при определенных условиях, служить субстратом для глюконеогенеза.

### РЕГУЛЯЦИЯ ОБРАТИМЫХ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

В большинстве случаев биохимические процессы протекают только в одном направлении. Однако некоторые из них (например, гликолиз-глюконеогенез, окисление-биосинтез жирных кислот), по-видимому, обратимы. В действительности в их регуляции имеются некоторые особые черты. По крайней мере частично, реакции протекают в различных частях клетки. При взаимодействии ферментов с одними коферментами происходят прямые реакции, а при взаимодействии тех же ферментов с другими коферментами - обратные реакции. Ветвь метаболизма обычно включает один дополнительный фермент, образующий «необратимую петлю» (например, фосфоенолпируваткарбоксикиназу в глюконеогенезе, ацетил-СоА-карбоксилазу в синтезе жирных кислот). Причем белковая часть этих одинаково действующих ферментов может быть различной (изоферменты).







### сАМР (3',5'-АМР)

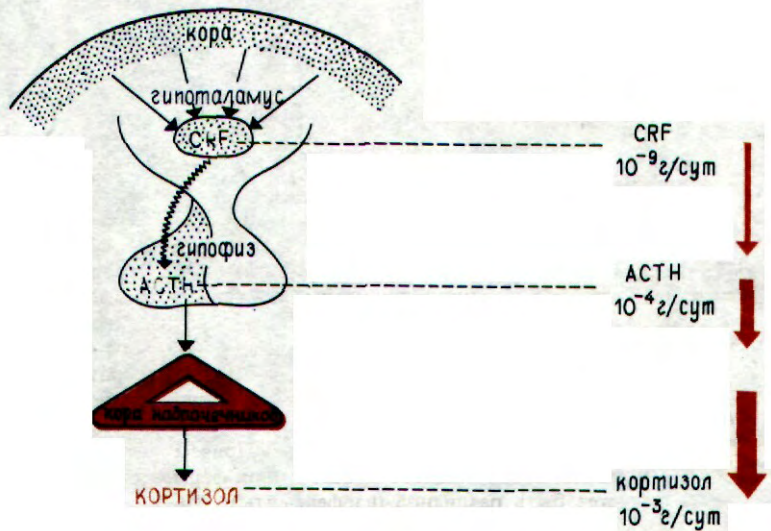
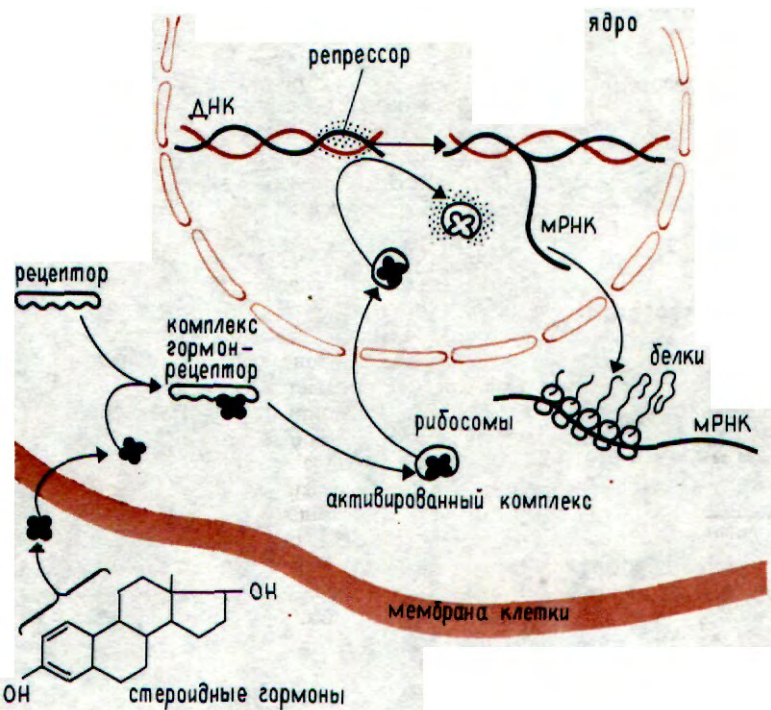
Согласно существующей точке зрения, действие ряда гормонов (инсулин, глюкагон, СТН, простагландин и т.д.) осуществляется через посредничество циклического 3',5'-АМР. В плазматической мембране находится фермент (аденилатциклаза), катализирующий превращение АТР в циклический 3',5'-АМР. Этот фермент либо активируется, либо ингибируется гормоном. Лишь сАМР, свободно проникающий внутрь клетки, передает действие гормонов и, следовательно, является *вторым переносчиком*. Таким образом, регуляция метаболических процессов достигается изменением концентрации одного из адениновых нуклеотидов. сАМР разрушается фосфодиэстеразой, которая ингибируется метилксантинами (теофиллин, кофеин). Таким путем повышается внутриклеточная концентрация сАМР и усиливается действие гормонов. Не исключена возможность, что сАМР является универсальным медиатором гормонального действия.

### МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ГОРМОНОВ

Некоторые гормоны (особенно стероидные гормоны) могут проникать внутрь клеток-мишеней, при этом особые белки участвуют в их транспорте через мембрану. Гормоны связываются с рецептором в цитоплазме и проникают в ядро в виде активного комплекса. В ядрах может существовать специфический акцептор, взаимодействующий с активным комплексом, и, по аналогии с индукцией (дерепрессией), этот акцептор начинает транскрипцию и трансляцию. В ходе этого процесса образуются молекулы РНК. Предполагают, что гормоны скорее всего вызывают увеличение скорости синтеза самой РНК, а не увеличение скорости синтеза РНК-полимеразы.

### УВЕЛИЧЕНИЕ ПОТОКА ИНФОРМАЦИИ В РЕЗУЛЬТАТЕ ДЕЙСТВИЯ ГОРМОНОВ

Гормоны, производимые эндокринными клетками, являются соединениями различной химической природы. Однако с точки зрения теории регуляции они представляют собой сигналы, поступающие в сложную систему. Реальная концентрация гормонов в биологической среде является результатом алгебраического сложения процессов, включающих их распределение (диффузию), связывание с белками крови (кортизон неспецифично связывается с альбумином и специфично с транскортинглобулином), а также метаболизм и уровень биосинтеза. Гормоны могут действовать на любые клетки организма, но наиболее важно их действие на ткани-мишени. Эндокринная система имеет несколько ступеней организации. При этом переход к каждой следующей ступени в иерархической лестнице сопровождается увеличением образования гормонально активных соединений. Это обеспечивает, кроме всего прочего, постепенное увеличение потока информации.





## Некоторые сокращенные обозначения соединений и единиц, используемые в книге

Следующие сокращенные обозначения, часто встречающиеся в биохимической литературе, использованы в этом издании «Современной биохимии в схемах». Перечень не является полным; ряд сокращений приведен в тексте в скобках после полного названия.

A	аденозин (аденин)	G	гуанозин (гуанин)
Ac	ацетил	$G^\circ$	стандартная свободная энергия
ACTH	кортикотропин	$\Delta G^\circ$	изменение свободной энергии
ADP	аденозиндифосфат	Gal	галактоза
Ala	аланин	GalNAc	N-ацетил-D-галактозамин
AMP	аденозинмонофосфат	GDP	гуанозиндифосфат
APS	аденозилфосфосульфат	Glc	глюкоза
Arg	аргинин	GlcNAc	N-ацетилглюкозамин
Asp	аспарагиновая кислота	Glc-6-P	глюкозо-6-фосфат
Asn	аспарагин	Glu	глутаминовая кислота
ATP	аденозинтрифосфат	Gln	глутамин
C	цитидин (цитозин)	Gly	глицин
cAMP	аденозин-3',5'-циклофосфат	GMP	гуанозинмонофосфат
CDP	цитидиндифосфат	GTP	гуанозинтрифосфат
CMP	цитидинмонофосфат	$H$	энтальпия
CoA	кофермент A	Hb	гемоглобин
CoQ	кофермент Q (убихинон)	HbO <sub>2</sub>	оксигемоглобин
CRF	кортиколиберин	His	гистидин
CTP	цитидинтрифосфат	HuLys	оксилизин
Cys	цистеин	HuPro	оксипролин
dRib	дезоксирибоза	I	инозин
$E$	потенциал	IDP	инозиндифосфат
$E_A$	энергия активации	Ile	изолейцин
$E_0$	окислительно-восстановительный потенциал	IMP	инозинмонофосфат
$E_{mem}$	мембранный потенциал	ITP	инозинтрифосфат
Ery	эритроза	$k$	константа скорости
FAD	флавинадениндинуклеотид	$K$	константа диссоциации
FMN	флавиномононуклеотид	$K_m$	константа Михаэлиса
Fru	фруктоза		
Fuc	фукоза		
$G$	свободная энергия		

Leu	лейцин
Lys	лизин
Man	манноза
ME	международная единица ферментативной активности
Met	метионин
NAD <sup>+</sup>	никотинамидадениндинуклеотид
NADH	никотинамидадениндинуклеотид (восстановленная форма)
NADP <sup>+</sup>	никотинамидадениндинуклеотидфосфат
NADPH	никотинамидадениндинуклеотидфосфат (восстановленная форма)
PAP	фосфоаденозилфосфат
NANA	N-ацетилнейраминавая кислота
NMN	никотинамидмононуклеотид
P <sub>i</sub>	фосфат (неорганический)
P	фосфатная группа
PAPS	фосфоаденозилфосфосульфат
Phe	фенилаланин
PP <sub>i</sub>	пирофосфат
Pro	пролин
Q	теплота
R	газовая постоянная
Rib	рибоза
S	энтропия
Sed	седогептулоза
Ser	серин
STH	соматотропин

T	тимидин
TDP	тимидиндифосфат
Thr	треонин
TMP	тимидинмонофосфат
TRP	тиаминпирофосфат
Trp	триптофан
TSH	тиротропин
TTP	тимидинтрифосфат
Tyr	тирозин
U	уридин (урацил)
UDP	уридиндифосфат
UDPGluA	уридиндифосфоглюкуроновая кислота
UDPGal	уридиндифосфат-галактоза
UMP	уридинмонофосфат
UTP	уридинтрифосфат
V <sub>max</sub>	максимальная скорость
Val	валин
Xul	ксилозула
Xyl	ксилоза
ψ	псевдоуридин
[ ]	концентрация
AA	аминокислота
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
РНК	рибонуклеиновая кислота
РЭС	ретикулоэндотелиальная система
ФДЭ	фосфодиэстераза
цикл ЛК	цикл лимонной кислоты
ЦНС	центральная нервная система

# Литература

- Bennett T.P., Graphic Biochemistry I and II, McMillan Comp., New York, 1968.
- Bielka H., Molekulare Biologie der Zelle, Fischer Verlag, Stuttgart, 1973.
- Bresnick E., Schwartz A., Functional Dynamics of the Cell, Academic Press, New York, 1968.
- Buddecke E., Grundriss der Biochemie, W. de Gruyter, Berlin, 1973.
- Давидсон Дж., Биохимия нуклеиновых кислот, Мир, М., 1976.
- Грин Д., Гольдбергер Р., Молекулярные аспекты жизни, Мир, М., 1968.
- Harper P.A., Pfhled fysiologicke chemie, Avicenum, Praha, 1977.
- Kacl K., Ledvina M., Biochemie lekafska, SPN, Praha, 1970.
- Katz A.M., Physiology of the Heart, Raven Press, 1977.
- Karlson P., Zaklady biochemie, Akademia, Praha, 1975.
- Keul J., Doll E., Keppler D., Energy Metabolism of Humen Muscle, S. Karger, Basel, 1972.
- Kobler H., Physikalische Begriffe in der klinischen Biochemie, G. Thieme Verlag, Stuttgart, 1971.
- Kostir J., Biochemie, Avicenum, Praha, 1974.
- Ленинджер А., Биохимия, Мир, М., 1976,
- Малер Г., Кордес Ю., Основы биологической химии, Мир, М., 1970.
- Мардашев С.Р. Биохимические проблемы медицины, Медицина, М., 1974.
- Masopust J., Dolezalova V., Zaklady immunochemickych vysetrovacich metod, USOL, Praha, 1976.
- Metzler D.E., Biochemistry, Academic Press, New York, 1977.
- Musil J., Novakova O., Kunz K., Biochemie v obrazech a schematech, Avicenum, Praha, 1976.
- Nejedly B., Vnitрни prostredi, klinicka biochemie a praxe, Avicenum, Praha, 1974.
- Orten M.I., Neuhaus O.W., Biochemistry, Mosby Comp., Saint Louis, 1970.
- Pacak J., Strucne zaklady organicke chemie, SNTL, Praha, 1975.
- Rappoport S.M., Medizinische Biochemie, VEB Verlag, Berlin, 1969.
- Rauen H.M., Biochemie - Ubungsfragen, Springer Verlag, Berlin, 1969.
- Rotrekl V., Uvod do kliniky acidobasickych poruch, Brno, 1971.
- Stryer L., Biochemistry, W.H. Freeman et Co., San Francisco, 1975.
- Santavy F., Biochemie, Avicenum, Praha, 1975.
- VodrazkaZ., Obecna a fysikalni chemie pro lekare a biology, Avicenum, Praha, 1972.
- Wagner O., Richter A.F., et al., Biochemie, Ucebni texty vysokych Skol, SNTL, Praha, 1970.
- White A., Handler P., Smith E., Principles of Biochemistry, McGraw Hill Book Co, New York, 1973.
- Winters R.W., Engel K., Dell R.B., Acid-Base Physiology in Medicine, London Corp., 1969.
- Wissenschaftliche Tabellen, Dokumenta Geigy, C. Thieme Verlag, Stuttgart, 1975.
- Zaklady lekarske chemie a biochemie. Ucebni texty vysokych Skol, SPN, Praha, 1969.



# Содержание

От переводчика . . . . .	5
<hr/>	
<b>I. Введение . . . . .</b>	<b>7</b>
Основные единицы СИ. . . . .	9
Некоторые производные единиц СИ, используемые в книге	10
Дисперсные системы. . . . .	12
Единицы концентраций в СИ. . . . .	12
Свойства лиофильных и лиофобных зольей. . . . .	13
Электрические заряды коллоидов, образование мицелл, ко-	
агуляция, высаливание. . . . .	13
Активность и ионная сила растворов. . . . .	14
Сильные и слабые электролиты, константа диссоциации, сте-	
пень диссоциации. . . . .	14
Диссоциация воды, рН. . . . .	14
Связь значений рН с концентрацией водородных ионов . . . .	15
Уравнения Гендерсона-Хассельбалха, буферы. . . . .	15
Свободная энергия и ее изменение. . . . .	16
Некоторые способы вычисления изменения стандартной сво-	
бодной энергии ( $\Delta G^\circ$ ). . . . .	16
Энтропия и ее изменение. . . . .	16
Зависимость изменения свободной энергии от рН . . . . .	17
Энергия активации . . . . .	17
Сопряженные реакции. . . . .	17
Типы связей в биологически важных молекулах. . . . .	18
Макроэргические связи. . . . .	19
Факторы, обуславливающие значительное изменение свобод-	
ной энергии гидролиза. . . . .	19
Некоторые вещества, для которых характерна высокая энер-	
гия гидролиза. . . . .	19
Осмотическое давление, осмотическое равновесие . . . . .	20
Вычисление осмотического давления. . . . .	20
Генерирование мембранного потенциала. . . . .	20
Скорости химических реакций. . . . .	21
Стационарное состояние. . . . .	21
Понятие полупериода в биологии. . . . .	21
Основные типы функций. . . . .	22
<hr/>	
<b>II. Белки и их структура . . . . .</b>	<b>23</b>
Пептидная связь . . . . .	25
Первичная, вторичная, третичная и четвертичная структуры	
белковой молекулы . . . . .	25
Структура $\alpha$ -спирали. . . . .	26
Структура складчатого слоя. . . . .	26
Связи, стабилизирующие белковую молекулу и определяю-	
щие ее структуру. . . . .	26
Гликопротеины - состав и структура. . . . .	27
Металлопротеиды. . . . .	27
Нуклеопротеиды - вирус табачной мозаики (ВТМ). . . . .	28
Иммуноглобулины . . . . .	28
Денатурация белков. . . . .	28
Ферментативное расщепление пептидной связи. . . . .	29

Аминокислоты как амфолиты . . . . .	29
Таблица констант диссоциации индивидуальных аминокислот . . . . .	30
Изоэлектрическая точка . . . . .	30
Ионизация групп, присутствующих в аминокислотах и белках . . . . .	30

<b>III. Ферменты . . . . .</b>	<b>31</b>
Термины, используемые в энзимологии. . . . .	33
Механизм действия ферментов. . . . .	33
Ферменты и коферменты. . . . .	33
Группы, переносимые ферментами (коферментами), и примеры катализируемых реакций. . . . .	34
Коферменты и соответствующие им витамины. . . . .	36
Влияние pH на ферментативную активность. . . . .	37
Влияние температуры на ферментативную активность . . . . .	37
Активация ферментов . . . . .	37
Активация фермента и образование активного центра . . . . .	38
Аллостерические ферменты. . . . .	38
Механизм действия фермента - расщепление ацетилхолина холинэстеразой. . . . .	39
Кинетика ферментативных реакций. . . . .	40
Линеаризация уравнения Михаэлиса. . . . .	40
Конкурентное ингибирование . . . . .	41
Неконкурентное ингибирование . . . . .	41
Аллостерическое ингибирование . . . . .	41
Классификация ферментов . . . . .	42
Оксидоредуктазы . . . . .	43
Трансферазы. . . . .	43
Гидролазы . . . . .	43
Лиазы . . . . .	44
Изомеразы . . . . .	44
Лигазы. . . . .	44

<b>IV. Метаболизм аминокислот . . . . .</b>	<b>45</b>
Основные пути метаболизма аминокислот. . . . .	47
Метаболизм аминокислот высших животных. . . . .	48
Пять важнейших метаболических превращений аминокислот . . . . .	48
Три основных типа реакций аминокислот, для протекания которых необходим кофермент пиридоксальфосфат . . . . .	49
Окислительная деградация углеродного скелета аминокислот . . . . .	49
Аминокислоты, превращающиеся в ацетил-СоА через пируват. . . . .	50
Метаболизм триптофана. . . . .	50
Метаболизм треонина, серина и глицина. . . . .	51
Метаболизм цистеина. . . . .	51
Аминокислоты, превращающиеся в ацетил-СоА через ацетоацетил-СоА . . . . .	52
Метаболизм лизина. . . . .	52
Метаболизм фенилаланина и тирозина. . . . .	53
Метаболизм лейцина. . . . .	53
Аминокислоты, превращающиеся в $\alpha$ -кетоглутарат . . . . .	54
Метаболизм аргинина. . . . .	54
Метаболизм гистидина. . . . .	54
Метаболизм пролина . . . . .	55
Метаболизм глутамина и глутаминовой кислоты . . . . .	55
Метаболизм аспарагиновой кислоты . . . . .	55
Аминокислоты, превращающиеся через сукцинил-СоА . . . . .	56
Метаболизм изолейцина . . . . .	56
Метаболизм валина. . . . .	56
Метаболизм метионина . . . . .	57
Реакции, протекающие с выделением аммиака. . . . .	57
Использование иона аммония в организме. . . . .	57

Окислительное дезаминирование аминокислот. . . . .	58
Синтез мочевины. . . . .	58
Общий баланс в цикле мочевины. . . . .	59
Энергетический баланс расщепления аминокислот. . . . .	59
Внутриклеточный пул аминокислот, роль органелл клетки в превращениях аминокислот. . . . .	60
<hr/>	
<b>V. Гликолиз, гликогенолиз, гликогенез, глюконеогенез, пентозный цикл. . . . .</b>	<b>61</b>
Структура моносахаридов. . . . .	63
Гликозиды . . . . .	63
Гидролитическое расщепление крахмала и гликогена . . . . .	64
Фосфоролитическая деградация гликогена. . . . .	65
Внутриклеточная фосфоорилаза существует в двух формах	65
Гликолиз . . . . .	66
Ключевые моменты глюконеогенеза (обращение гликолиза). . . . .	66
Две реакции, ответственные за образование макроэнергетических связей в процессе гликолиза. . . . .	68
Энергетический баланс анаэробного и аэробного процессов деградации сахаров . . . . .	68
Глюконеогенез и гликогеногенез. . . . .	69
Взаимопревращения моносахаридов в форме производных уридиндифосфата. . . . .	70
Основные превращения нуклеозиддифосфатсахаров . . . . .	70
Взаимопревращения некоторых гексоз и образование активированных сахаров для полисахаридного синтеза . . . . .	71
Пентозный цикл . . . . .	72
Взаимные превращения фосфосахаров в пентозном цикле	72
<hr/>	
<b>VI. Структура и метаболизм липидов и стероидов . . . . .</b>	<b>73</b>
Жирные кислоты. . . . .	75
Валентные углы и расстояния между углеродными атомами в жирных кислотах . . . . .	75
Эфиры глицерина. . . . .	75
Липиды на основе глицерина. Классификация фосфатидов . . . . .	76
Сфинголипиды. . . . .	76
$\beta$ -Окисление жирных кислот. . . . .	77
$\beta$ -Окисление $\alpha$ -разветвленных жирных кислот ( $\alpha$ -метилразветвление) . . . . .	78
$\beta$ -Окисление $\beta$ -разветвленных жирных кислот ( $\beta$ -метилразветвление) . . . . .	78
$\beta$ -Окисление непредельных жирных кислот. . . . .	78
Отдельные этапы синтеза жирных кислот. . . . .	79
Полиферментный комплекс в синтезе жирных кислот . . . . .	79
Внутриклеточная локализация синтеза жирных кислот, удлинение цепи и образование непредельных жирных кислот	80
Биосинтез нейтральных жиров и фосфолипидов . . . . .	81
Биосинтез сфинголипидов. . . . .	82
Распад нейтральных жиров. . . . .	83
Ферментативная деградация фосфатидов. . . . .	83
Синтез стероидов. . . . .	84
Схема биосинтеза стероидных гормонов. . . . .	85
Биосинтез стероидных гормонов. . . . .	86
Биосинтез желчных кислот. . . . .	87
<hr/>	
<b>VII. Ацетил-CoA, цикл лимонной кислоты . . . . .</b>	<b>88</b>
Ацетил-CoA и его метаболизм. . . . .	89
Цикл лимонной кислоты. . . . .	90
Реакции синтеза, начинающиеся с промежуточных соединений цикла лимонной кислоты и ацетил-CoA. . . . .	91



Отдельные стадии цикла лимонной кислоты . . . . .	92
Механизм действия пируватдегидрогеназного комплекса	93
Аэробное декарбоксилирование $\alpha$ -кетоглутарата . . . . .	93
Цикл лимонной кислоты и метаболизм некоторых аминокислот. . . . .	94
Образование кетосоединений из ацетил-CoA. . . . .	94
<hr/>	
<b>VIII. Порфирины . . . . .</b>	95
Синтез гема. . . . .	96
Типы порфиринов . . . . .	97
Валентность железа в геме. . . . .	97
Локализация синтеза гема. . . . .	97
Структура и функция гемоглобина . . . . .	98
Регулирование биосинтеза гемоглобина. . . . .	98
Обмен гемоглобина. . . . .	99
Выделение желчных пигментов. . . . .	100
Желчные пигменты. . . . .	100
Другие формы порфиринов. . . . .	101
<hr/>	
<b>IX. Клетка . . . . .</b>	102
Описание типичной клетки. . . . .	103
Плазматическая мембрана. . . . .	103
Митохондрия . . . . .	104
Интерфазное ядро и хромосомы . . . . .	104
Рибосомы, полисомы. . . . .	105
Эндоплазматический ретикулум. . . . .	105
Комплекс Гольджи. . . . .	105
Двигательный аппарат клетки. . . . .	106
Рост и деление клеток . . . . .	106
<hr/>	
<b>X. Клеточные мембраны. Транспорт веществ</b>	107
Физико-химические свойства липидов мембран . . . . .	109
Ориентация фосфолипидов на поверхности раздела . . . . .	109
Модель элементарной мембраны. . . . .	110
Модель глобулярных субъединиц . . . . .	110
Жидкостно-мозаичная модель. . . . .	110
Перенос веществ через мембраны. . . . .	111
Характеристика опосредованного и непосредованного переносов. . . . .	112
Модели транспорта с участием переносчиков . . . . .	112
Энергетика пассивного и активного транспорта . . . . .	113
Натриевый насос. . . . .	113
<hr/>	
<b>XI. Митохондрия, дыхание, фосфорилирование</b>	114
Митохондрия . . . . .	115
Локализация митохондриальных ферментов. . . . .	116
Расположение компонентов в плоскости внутренней митохондриальной мембраны. . . . .	117
Упрощенная схема дыхательной цепи и мест окислительного фосфорилирования. . . . .	117
Окислительно-восстановительные потенциалы компонентов дыхательной цепи. . . . .	117
Образование АТФ. Химико-осмотический механизм . . . . .	118
Разобщение процессов дыхания и окислительного фосфорилирования. . . . .	119
Перемещение АТФ и ADP через митохондриальную мембрану. . . . .	120
Перенос $\sim P$ от доноров к акцепторам. . . . .	120
Транспорт анионов через внутренние митохондриальные мембраны . . . . .	121
Механизм переноса восстановительных эквивалентов между цитоплазмой и митохондриями. . . . .	122

<b>XII.</b>	<b>Ядро, генетическая информация и ее передача</b> . . . . .	123
	Ядро . . . . .	125
	Поры в ядерной мембране. . . . .	125
	Развертывание хромосом после деления клетки . . . . .	125
	Пуриновые и пиримидиновые основания. . . . .	126
	N-Гликозидная связь в нуклеотидах. . . . .	126
	Структура нуклеиновых кислот. . . . .	126
	Структура молекулы ДНК. . . . .	127
	Связи А-Т и G-С . . . . .	127
	Примеры возможных структур ДНК. . . . .	127
	Биосинтез пуриновых нуклеотидов. . . . .	128
	Биосинтез пиримидиновых нуклеотидов. . . . .	131
	Биосинтез тимидиновых нуклеотидов. . . . .	132
	Биосинтез дезоксирибонуклеотидов. . . . .	132
	Дегградация мононуклеотидов. . . . .	132
	Теоретически возможные пути редупликации. . . . .	133
	ДНК-полимераза. . . . .	133
	ДНК-лигаза. <i>E. coli</i> . . . . .	133
	Репликация ДНК in vivo . . . . .	134
	Репарация цепи ДНК. . . . .	134
	Транскрипция ДНК, РНК-полимераза. . . . .	134
	Генетический код. . . . .	135
	Три характерные особенности генетического кода . . . . .	135
	Типы мутаций. . . . .	135
	Мутации, вызываемые азотистой кислотой. . . . .	136
	Гистоны . . . . .	136
	Вирусы. . . . .	136

<b>XIII.</b>	<b>Рибосомы, полисомы, синтез белка</b> . . . . .	137
	Физические и биологические свойства РНК. . . . .	139
	Основные черты структуры тРНК. . . . .	139
	Субъединицы рибосом. . . . .	140
	Предшественники рибосом. . . . .	140
	Образование рРНК. . . . .	140
	hnРНК (гетерогенная ядерная РНК). . . . .	141
	мРНК . . . . .	141
	Транскрипция и трансляция. . . . .	141
	Активация аминокислот. . . . .	142
	Связывание A1a-тРНК <sup>As</sup> с мРНК. . . . .	142
	Синтез пептидной связи. . . . .	142
	Рибосомальный цикл . . . . .	143
	Шероховатый эндоплазматический ретикулум. . . . .	143
	Ингибирование белкового синтеза, антибиотики . . . . .	144

<b>XIV.</b>	<b>Сократительная система клетки мышцы</b>	145
	Миофибрилла скелетной мышцы. . . . .	147
	Поперечный разрез миофибриллы. . . . .	147
	Белковый состав скелетной мышцы. . . . .	148
	Миозин: схематическое изображение молекулы . . . . .	148
	Актин . . . . .	149
	Тропомиозин и комплекс тропонина. . . . .	149
	Взаимное расположение актина и тропомиозина . . . . .	149
	Молекулярные основы контроля мышечной активности	150
	Влияние Ca <sup>2+</sup> на комплекс тропонина. . . . .	150
	Молекулярный механизм сокращения и расслабления	151
	Источники энергии для работы мышцы. . . . .	152
	Трупное окоченение. . . . .	152

<b>XV.</b>	<b>Нервная клетка: структура и функция</b>	153
	Нейрон . . . . .	155
	Миелин . . . . .	155
	Концентрация ионов во внутри- и внеклеточном пространстве . . . . .	155
	Различия в концентрациях $K^+$ , $Na^+$ и $Cl^-$ во внутри- и внеклеточном пространстве как причина образования потенциала покоя . . . . .	156
	Схематическое изображение величины и направления активного транспорта ионов натрия и калия . . . . .	156
	Происхождение потенциала действия, прохождение нервных импульсов . . . . .	157
	Молекулярные основы образования возбуждающего и тормозного постсинаптических потенциалов . . . . .	157
	Механизм влияния медиаторов на синапсы центральной нервной системы . . . . .	158
	Влияние циклических нуклеотидов на центральную нервную систему . . . . .	158
	Холинэргическая проводимость . . . . .	159
	Адренэргическая передача . . . . .	160
	Некоторые другие медиаторы . . . . .	161
<b>XVI.</b>	<b>Соединительная ткань</b>	162
	Соединительная ткань . . . . .	164
	Структура коллагена . . . . .	164
	Образование и строение коллагеновых фибрилл . . . . .	164
	Структура эластина . . . . .	165
	Состав и структура кислых мукополисахаридов . . . . .	166
	Структура мономерного протеогликана . . . . .	167
	Молекулярная организация протеогликанов в хрящевой ткани . . . . .	167
	Влияние гиалуроновой кислоты на образование высокоорганизованных структур . . . . .	168
	Биосинтез сахаридов-предшественников протеогликанов . . . . .	168
	Биосинтез протеогликанов . . . . .	169
	Биосинтез коллагена . . . . .	170
	Ферментативное расщепление высокомолекулярных компонентов соединительной ткани . . . . .	171
	Костный материал . . . . .	172
	Условия минерализации . . . . .	172
<b>XVII.</b>	<b>Вода и ионы</b>	173
	Распределение воды в организме . . . . .	174
	Ионный состав жидкостей тела . . . . .	174
	Равновесие Доннана . . . . .	175
	Клетка как осмометр . . . . .	176
	Движение воды между внутри- и внеклеточным пространствами . . . . .	176
	Суточный кругооборот воды и электролитов в теле человека . . . . .	177
	Функция почки (гломерулярная фильтрация) . . . . .	177
	Молекулярные механизмы работы отдельных частей нефрона . . . . .	178
	Механизмы реабсорбции воды и $Na^+$ в клетках проксимальных канальцев . . . . .	179
	Реабсорбция бикарбоната и транспорт $H^+$ в клетках проксимального канальца . . . . .	179
	Механизм обмена в клетках дистального канальца . . . . .	180
	Система противоточного умножения . . . . .	181
	Осмоляльность первичной мочи . . . . .	181
	Связь транспорта воды и мочевины . . . . .	182



<b>XVIII. Кислотно-основной баланс и обмен газов</b>	183
Воздух. . . . .	185
Альвеолярные газы. . . . .	185
Соотношение между содержанием $\text{CO}_2$ в воздухе и жидкостях. . . . .	185
Карбоангидраза . . . . .	186
Связь pH с бикарбонатной системой крови. . . . .	186
$\text{CO}_2$ в закрытой и открытой системах. . . . .	186
Основное уравнение диссоциации для бикарбонатного и небикарбонатных буферов крови. . . . .	187
Основные буферные системы крови. . . . .	187
Влияние буферных систем на pH крови. . . . .	187
Взаимосвязь буферных систем крови. . . . .	188
Пути переноса $\text{CO}_2$ кровью. . . . .	188
Превращения гемоглобина при переносе кислорода . . . . .	189
Кривая насыщения гемоглобина. . . . .	189
Изменения конформации молекулы гемоглобина при связывании $\text{O}_2$ . . . . .	189
Процесс переноса кислорода в крови. . . . .	190
Нарушения кислотно-основного баланса организма и их коррекция и компенсация. . . . .	191
<b>XIX. Биохимия иммунной системы.</b> . . . .	192
Искусственные антигены. . . . .	193
Природные антигены. . . . .	193
Чужие антигены. . . . .	193
Идентичность антител и иммуноглобулинов. . . . .	194
Химическая структура иммуноглобулинов. . . . .	194
Образование иммуноглобулинов. . . . .	195
Взаимодействие антигена с антителом. . . . .	196
Преципитация и агглютинация. . . . .	196
Количественное описание реакции антигена с антителом. . . . .	196
Комплемент и пропердиновая система. . . . .	197
<b>XX. Принципы контроля метаболизма</b> . . . . .	198
Информация, ее содержание и перенос. . . . .	200
Сигнал. . . . .	200
Система . . . . .	200
Примеры связей между двумя системами. . . . .	201
Контур регулирования (управления). . . . .	201
Регуляторы в биологических системах. . . . .	202
Примеры регуляторов. . . . .	202
Скоростлимитирующие процессы. . . . .	202
Индукция и репрессия. . . . .	203
Сравнение механизмов регуляции. . . . .	204
Компарментация (пространственное разделение)-важнейший фактор регуляции биологических систем . . . . .	204
Регуляция обратимых метаболических процессов . . . . .	204
cAMP (3',5'-AMP). . . . .	205
Механизм действия гормонов. . . . .	205
Увеличение потока информации в результате действия гормонов. . . . .	205
<b>Некоторые сокращенные обозначения соединений и единиц, используемые в книге</b> . . . . .	206
<b>Литература</b> . . . . .	208

## **УВАЖАЕМЫЙ ЧИТАТЕЛЬ!**

Ваши замечания о содержании книги, ее оформлении, качестве перевода и другие просим присылать по адресу:

129820, Москва, И-110, ГСП, 1-й Рижский пер., д. 2,  
издательство «Мир».

**Я. Мусил, Ольга Новакова, К. Кунц**

## **СОВРЕМЕННАЯ БИОХИМИЯ В СХЕМАХ**

Научные редакторы Т.Т. Орловская, Т.Н. Почкаева  
Мл. научный ред. И.И. Землячева  
Художник Е.И. Волков  
Художественный редактор М.Н. Кузьмина  
Технический редактор Е.С. Потапенкова  
Корректор А.Ф. Рыбальченко

ИБ № 3931

Сдано в набор 06.07.83.

Подписано к печати 28.10.83.

Формат 84 x 108 1/16.

Бумага офсетная № 1.

Гарнитура таймс. Печать офсетная.

Объем 6,75 бум. л. Усл. печ. л. 22,68. Усл.кр.-отт. 45,81.

Уч.-изд.л. 25,90. Изд. № 3/2905.

Тираж 25000 экз. Зак. 547. Цена 2 р. 20 коп.

**ИЗДАТЕЛЬСТВО «МИР»**

Москва, 1-й Рижский пер., 2.

Можайский полиграфкомбинат Союзполиграфпрома при Государственном комитете СССР по делам издательств, полиграфии и книжной торговли, г. Можайск, ул. Мира, 93.