

Министерство образования Республики Беларусь
Белорусский государственный университет
Химический факультет
Кафедра высокомолекулярных соединений

СОГЛАСОВАНО
Заведующий кафедрой
_____ А.С.Боковец
«20» ноября 2025 г.

СОГЛАСОВАНО
Декан факультета
_____ А.В.Зураев
«09» декабря 2025 г.

Основы биохимии

Электронный учебно-методический комплекс для специальностей:
6-05-0531-01 «Химия»,
6-05-0531-04 «Химия (научно-педагогическая деятельность)»

Регистрационный № 2.4.3-24 / 733

Авторы:

Кукулянская Т.А., кандидат биологических наук, доцент;
Вербило К.М., старший преподаватель.

Рассмотрено и утверждено на заседании Совета химического факультета БГУ.
Протокол № 4 от 09.12.2025 г.

Минск 2026

УДК 577.1(075.8)
К 899

Утверждено на заседании Научно-методического совета БГУ.
Протокол № 5 от 18.12.2025 г.

Авторы:

Кукулянская Татьяна Александровна, кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры высокомолекулярных соединений химического факультета БГУ,

Вербило Кирилл Маратович, старший преподаватель кафедры общей химии и методики преподавания химии химического факультета БГУ.

Рецензенты:

кафедра органической химии УО «Белорусский государственный технический университет» (заведующий кафедрой Михаленок С.Г., кандидат химических наук, доцент);

Диченко Я.В., ведущий научный сотрудник лаборатории белковой инженерии ГНУ «Институт биоорганической химии НАН Беларуси», кандидат химических наук;

Кукулянская, Т. А. Основы биохимии : электронный учебно-методический комплекс для специальностей 6-05 0531 01 «Химия», 6-05 0531 04 «Химия (научно-педагогическая деятельность)» / Т. А. Кукулянская, К. М. Вербило ; БГУ, Химический фак., Каф. высокомолекулярных соединений. – Минск : БГУ, 2026. – 83 с. : ил. – Библиогр.: с. 82–83.

Электронный учебно-методический комплекс по учебной дисциплине «Основы биохимии» предназначен для студентов специальностей 6-05 0531 01 «Химия» и 6-05 0531 04 «Химия (научно-педагогическая деятельность)».

В ЭУМК содержатся сведения о структуре и функции биомолекул (в том числе биополимеров), метаболизме основных классов соединений, основных принципах и механизмах регуляции метаболических процессов.

СОДЕРЖАНИЕ

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА	7
1. ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ РАЗДЕЛ.....	9
1.1. Введение в биохимию. Химическая структура и свойства аминокислот и пептидов	9
1.1.1. Общая структура аминокислот.....	9
1.1.2. Классификация аминокислот по свойствам боковых цепей	9
1.1.3. Кислотно-основные свойства аминокислот	10
1.1.4. Пептиды: образование, структура и свойства.....	10
1.1.5. Биологическое значение аминокислот и пептидов	11
1.2. Принципы структурной организации белков. Физико-химические свойства белков	11
1.2.1. Уровни структурной организации белков	11
1.2.2. Сворачивание белков и молекулярные шапероны	12
1.2.3. Физико-химические свойства белков	13
1.2.4. Классификация белков по форме и растворимости	13
1.2.5. Связь структуры и функции.....	13
1.3. Структурная и функциональная классификация белков	14
1.3.1. Структурная классификация белков	14
1.3.2. Функциональная классификация белков	15
1.3.3. Мультидоменные и мультимодульные белки.....	16
1.4. Особенности биокатализитических процессов. Структурная организация ферментов.....	16
1.4.1. Общие принципы биокатализа	16
1.4.2. Структурная основа ферментативной активности: активный центр.	17
1.4.3. Классы ферментов и их структурные особенности.....	17
1.4.4. Кофакторы, коферменты и простетические группы	17
1.4.5. Механизмы катализа: общие стратегии.....	18
1.4.6. Примеры структурной организации ключевых ферментов.....	18
1.5. Механизм действия ферментов. Кинетика ферментативных процессов	19
1.5.1. Основная модель ферментативного катализа: модель Михаэлиса–Ментен	19
1.5.2. Графические методы анализа кинетических данных	19
1.5.3. Механизмы многосубстратных реакций	20
1.5.4. Ингибиование ферментов	20
1.5.5. Аллостерическая кинетика.....	21
1.5.6. Физиологическое значение кинетических параметров	21
1.6. Классификация и номенклатура ферментов. Применение ферментов в промышленности и медицине	21
1.6.1. Классификация ферментов по типу катализируемой реакции	21
1.6.2. Номенклатура ферментов.....	22
1.6.3. Применение ферментов в промышленности.....	23
1.6.4. Применение ферментов в медицине	23

1.6.5. Инженерия ферментов.....	24
1.7. Метаболизм белков и аминокислот. Пути катаболизма аминокислот.	
Образование и выведение аммиака из организма.....	24
1.7.1. Общие пути катаболизма аминокислот	24
1.7.2. Судьба углеродного скелета аминокислот	25
1.7.3. Образование и токсичность аммиака.....	25
1.7.4. Детоксикация и выведение азота	25
1.7.5. Нарушения метаболизма аминокислот и мочевинного цикла	26
1.8. Образование заменимых аминокислот. Биосинтез белка (трансляция).....	26
1.8.1. Биосинтез заменимых аминокислот.....	27
1.8.2. Биосинтез белка: общая характеристика трансляции	27
1.8.3. Молекулярные компоненты трансляции	27
1.8.4. Этапы трансляции	28
1.8.5. Посттрансляционные модификации	28
1.8.6. Энергетика и регуляция трансляции.....	29
1.9. Структурная организация нуклеиновых кислот. Ферментативное расщепление нуклеиновых кислот	29
1.9.1. Химическая структура нуклеотидов	29
1.9.2. Вторичная структура ДНК: модель Уотсона–Крика.....	29
1.9.3. Структура РНК	30
1.9.4. Высшая структура ДНК.....	30
1.9.5. Ферментативное расщепление нуклеиновых кислот	30
1.9.6. Физиологическая роль расщепления нуклеиновых кислот.....	31
1.10. Синтез нуклеотидов. Биосинтез ДНК (репликация ДНК). Биосинтез РНК (транскрипция).....	31
1.10.2. Биосинтез ДНК (репликация)	32
1.10.3. Биосинтез РНК (транскрипция).....	33
1.11. Структурно-функциональная характеристика олиго- и полисахаридов. Внеклеточное и внутриклеточное (фосфоролиз гликогена) ферментативное расщепление олиго- и полисахаридов	34
1.11.1. Основные гомополисахариды и их функции	34
1.11.2. Гетерополисахариды.....	34
1.11.3. Внеклеточное расщепление полисахаридов (пищеварение)	35
1.11.4. Внутриклеточное расщепление гликогена: фосфоролиз	35
1.11.5. Расщепление других полисахаридов внутри клетки.....	36
1.12. Катаболизм углеводов: дихотомическое расщепление в аэробных и анаэробных условиях, гликогенолиз.....	36
1.12.1. Гликолиз: общий путь расщепления глюкозы	36
1.12.2. Судьба пирувата: аэробные и анаэробные пути	37
1.12.3. Гликогенолиз как источник глюкозы для гликолиза	37
1.12.4. Регуляция гликолиза	37
1.12.5. Тканевая специфичность гликолиза.....	38
1.12.6. Интеграция с другими путями	38
1.13. Альтернативный пентозофосфатный путь окисления глюкозы. Синтез углеводов: глюконеогенез и гликогеногенез.....	38

1.13.1. Пентозофосфатный путь (ПФП).....	38
1.13.2. Глюконеогенез.....	39
1.13.3. Гликогеногенез.....	40
1.14. Окислительное декарбоксилирование пищевиноградной кислоты.	
Цикл трикарбоновых кислот (цикл Кребса). Полное аэробное окисление глюкозы	40
1.14.1. Окислительное декарбоксилирование пирувата	40
1.14.2. Цикл трикарбоновых кислот (цикл Кребса, цикл лимонной кислоты)	41
1.14.3. Полное аэробное окисление глюкозы.....	42
1.14.4. Интеграция ЦТК с другими путями.....	42
1.15. Простые и сложные липиды. Структурная организация мембран.	
Ферментативное гидролитическое расщепление липидов в процессе пищеварения. Эмульгирование липидов. Внутриклеточный липолиз.....	43
1.15.1. Классификация липидов.....	43
1.15.2. Структурная организация биологических мембран	43
1.15.3. Пищеварение липидов: эмульгирование и гидролиз	44
1.15.4. Внутриклеточный липолиз	44
1.15.5. Клиническое значение.....	45
1.16. Катаболизм жирных кислот. Анаболизм липидов (синтез жирных кислот и стероидов). Биосинтез ацилглицеринов и глицерофосфолипидов	45
1.16.1. Катаболизм жирных кислот: β -окисление.....	45
1.16.2. Анаболизм липидов	46
1.16.3. Биосинтез ацилглицеринов и глицерофосфолипидов.....	46
1.17. Биоэнергетические процессы. Принципы организации и функционирования ЭТЦ митохондрий. Механизм окислительного фосфорилирования АДФ	47
1.17.1. Основы биоэнергетики: термодинамика и роль АТФ	47
1.17.2. Электрон-транспортная цепь (ЭТЦ) митохондрий	47
1.17.3. Хемиосмотическая теория окислительного фосфорилирования	48
1.17.4. Энергетический выход и Р/О-отношение.....	49
1.17.5. Регуляция и разобщение.....	49
1.18. Пути потребления кислорода в живых организмах.	
Свободнорадикальные окислительные процессы, перекисное окисление липидов. Антиоксидантная система организма.....	49
1.18.1. Основные пути потребления кислорода	49
1.18.2. Реактивные формы кислорода (РФК) и их образование.....	50
1.18.3. Перекисное окисление липидов (ПОЛ)	50
1.18.4. Антиоксидантная система организма	51
1.18.5. Оксидативный стресс и патология	51
1.19. Химическая природа и функции гормонов. Механизмы действия гормонов.....	51
1.19.1. Классификация гормонов по химической природе.....	52
1.19.2. Механизмы действия гормонов	52
1.19.3. Регуляция секреции гормонов	53

1.19.4. Взаимодействие гормонов	53
1.19.5. Клиническое значение	53
1.20. Взаимосвязь и регуляция метаболических процессов в организме ...	54
1.20.1. Основные принципы метаболической интеграции	54
1.20.2. Метаболическая специализация тканей	54
1.20.3. Гормональная регуляция метаболизма	55
1.20.4. Метаболические состояния организма	56
1.20.5. Нарушения метаболической интеграции.....	56
2. ПРАКТИЧЕСКИЙ РАЗДЕЛ	57
2.1. Структура и свойства белков и пептидов.....	57
2.2. Структура и механизм действия ферментов. Классификация ферментов.....	59
2.3. Метаболизмы аминокислот	61
2.4. Нуклеиновые кислоты. Матричные синтезы	62
2.5. Метаболизм углеводов и ЦТК	64
2.6. Метаболизм углеводов. Цикл трикарбоновый кислот	65
2.7. Метаболизм липидов	65
2.8. Взаимосвязь метаболизма. Биоэнергетика.....	67
3. РАЗДЕЛ КОНТРОЛЯ ЗНАНИЙ.....	68
3.1. Вопросы к зачету.....	68
3.2. Тесты для самоконтроля.....	71
3.2.1. Аминокислоты и белки.....	71
3.2.2. Основы энзимиологии	72
3.2.3. Нуклеиновые основания, ДНК и РНК	74
4. ВСПОМОГАТЕЛЬНЫЙ РАЗДЕЛ.....	75
4.1. Содержание учебного материала	75
4.2. Рекомендуемая литература	82
Основная литература	82
Дополнительная литература	82
4.3. Электронные ресурсы.....	83

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Электронный учебно-методический комплекс (ЭУМК) по учебной дисциплине «Основы биохимии» создан в соответствии с требованиями Положения об учебно-методическом комплексе на уровне высшего образования и предназначен для студентов специальностей 6-05-0531-01 «Химия» и 6-05-0531-04 «Химия (научно-педагогическая деятельность». Содержание разделов ЭУМК соответствует образовательным стандартам высшего образования данных специальностей.

Главная цель ЭУМК – оказание методической помощи студентам в систематизации учебного материала в процессе подготовки к промежуточной аттестации по учебной дисциплине «Основы биохимии».

Предметом учебной дисциплины «Основы биохимии» являются структурно-функциональная характеристика основных классов биополимеров и макромолекул, а также их мономеров, метаболические превращения этих соединений, особенности биоэнергетических процессов, а также основные пути и механизмы регуляции метаболизма.

Цель учебной дисциплины – приобретение студентами знаний о закономерностях биосинтеза и метаболизма, о структуре и свойствах белков, нуклеиновых кислот, углеводов и низкомолекулярных биорегуляторов, а также умения составлять и решать расчетно-теоретические обучающие задачи биохимического профиля. Учебная дисциплина предусматривает изучение разнообразия, структуры и функций, а также метаболических превращений белков и аминокислот, нуклеиновых кислот и нуклеотидов,mono-, олиго- и полисахаридов, простых и сложных липидов, структуру, механизм действия и разнообразие ферментов, витаминов, общие механизмы гормональной регуляции.

Электронный учебно-методический комплекс предназначен для более полного и глубокого изучения дисциплины студентами, в результате чего обучающийся должен: знать: основные понятия биохимии; структуру и свойства белков, нуклеиновых кислот, углеводов, аминокислот, липидов, а также низкомолекулярных биорегуляторов; основные биосинтетические и метаболические пути; уметь: использовать знания о закономерностях биосинтеза и метаболизма, о структуре и свойствах белков, нуклеиновых кислот, углеводов и низкомолекулярных биорегуляторов в научной, педагогической и производственной деятельности; составлять и решать расчетно-теоретические задачи биохимического профиля; иметь навык использования базовых принципов выбора и реализации методов анализа белков, липидов, биорегуляторов.

Структура ЭУМК включает:

1. Теоретический раздел;
2. Практический раздел (материалы для проведения практических занятий по дисциплине в соответствии с учебной программой учебной дисциплины).
3. Раздел контроля знаний студентов (материалы текущей и промежуточной аттестации, позволяющие определить соответствие учебной деятельности обучающихся требованиям образовательных стандартов высшего образования и

учебно-программной документации, в т.ч. вопросы для подготовки к зачету, задания, тесты, вопросы для самоконтроля и др.).

4. Вспомогательный раздел включает информационно-аналитические материалы (список рекомендуемой литературы, перечень электронных образовательных ресурсов и их адреса и др.).

Работа с ЭУМК должна включать на первом этапе ознакомление с тематическим планом дисциплины, представленным в учебной программе, а также тематикой лекций и лабораторных занятий. Для подготовки к лабораторным занятиям необходимо использовать материалы, представленные в разделе учебно-методическое обеспечение дисциплины. В ходе подготовки к промежуточной аттестации рекомендуется ознакомиться с требованиями к компетенциям по дисциплине, изложенными в учебной программе, а также перечнем вопросов к зачету.

1. ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ РАЗДЕЛ

1.1. Введение в биохимию. Химическая структура и свойства аминокислот и пептидов

Биохимия как наука занимает центральное место в системе естественных дисциплин, исследуя молекулярные основы жизнедеятельности живых организмов. Её предметом являются химическая природа биологических молекул, их структура, функции, взаимодействия и трансформации в ходе метаболических процессов. Фундаментальную роль в биохимии играют аминокислоты и пептиды – мономерные и олигомерные звенья, лежащие в основе белков, ключевых макромолекул, определяющих структурную организацию, катализическую активность, регуляторные и сигнальные функции в клетке.

1.1.1. Общая структура аминокислот

Стандартные (протеиногенные) аминокислоты – это 20 α -аминокислот, используемых в процессе рибосомального синтеза белков у большинства живых организмов. Все они содержат α -углеродный атом ($\text{C}\alpha$), к которому ковалентно присоединены четыре группы: аминогруппа ($-\text{NH}_2$), карбоксильная группа ($-\text{COOH}$), атом водорода и боковая цепь (R-группа). Именно R-группа определяет уникальные химические свойства каждой аминокислоты и обеспечивает разнообразие функциональных возможностей белков.

Исключением является пролин, у которого боковая цепь циклически связана с аминогруппой, формируя вторичный амин. Эта особенность вносит конформационные ограничения в пептидную цепь и часто служит индуктором изломов вторичной структуры.

Все протеиногенные α -аминокислоты, за исключением глицина (у которого $R = H$), являются хиральными соединениями и в белках встречаются исключительно в L-конфигурации. Эта стереоспецифичность обусловлена действием ферментов-аминокислотных синтетаз и механизмом функционирования рибосомы, что подчёркивает эволюционную консервативность биологических систем.

1.1.2. Классификация аминокислот по свойствам боковых цепей

Систематизация аминокислот по физико-химическим свойствам R-групп позволяет предсказывать их поведение в белковой структуре и вносит ясность в анализ белковых функций. Согласно общепринятой классификации, выделяют следующие группы:

Неполярные (гидрофобные) аминокислоты: аланин, валин, лейцин, изолейцин, метионин, фенилаланин, триптофан, пролин. Их боковые цепи не образуют водородных связей с водой и стремятся к упаковке во внутреннем гидрофобном ядре белка, стабилизируя третичную структуру.

Полярные незаряженные аминокислоты: серин, треонин, цистеин, тирозин, аспарагин, глутамин. Содержат функциональные группы ($-\text{OH}$, $-\text{SH}$, амиды), способные участвовать в водородном связывании. Цистеин обладает уникальной

способностью к образованию дисульфидных мостиков ($-S-S-$), которые ковалентно стабилизируют пространственную структуру белков, особенно секрециируемых.

Кислые аминокислоты: аспарагиновая и глутаминовая кислоты. При физиологическом pH их боковые цепи депротонированы и несут отрицательный заряд. Выполняют важные роли в каталитических центрах ферментов, связывании металлов и формировании солевых мостиков.

Основные аминокислоты: лизин, аргинин, гистидин. Их R-группы протонированы при физиологическом pH (особенно лизин и аргинин), что обеспечивает положительный заряд. Гистидин имеет рKa боковой цепи около 6,0, что позволяет ему функционировать как протонный донор/акцептор в каталитических механизмах ферментов в нейтральной среде.

1.1.3. Кислотно-основные свойства аминокислот

Аминокислоты являются амфотерными соединениями, способными выступать как в роли кислот, так и оснований. В водном растворе они существуют преимущественно в виде диполярных ионов (цвиттер-ионов), где карбоксильная группа депротонирована ($-COO^-$), а аминогруппа протонирована ($-NH_3^+$).

Каждая аминокислота характеризуется набором значений рKa, соответствующих ионизируемым группам. Для большинства аминокислот без ионизируемых R-групп имеются два рKa: pK_1 (~2,0–2,4) для карбоксильной группы и pK_2 (~9,0–10,0) для α -аминогруппы. Для аминокислот с ионизируемыми боковыми цепями наблюдается третий рKa (например, $pK_R \approx 4,0$ для аспарагиновой кислоты, $\approx 6,0$ для гистидина, $\approx 10,5$ для тирозина, $\approx 12,5$ для аргинина).

Изоэлектрическая точка (рI) – это pH, при котором суммарный заряд молекулы аминокислоты равен нулю. Для нейтральных аминокислот рI рассчитывается как среднее арифметическое между двумя соседними рKa. Для кислых аминокислот рI – среднее между двумя низкими рKa, для основных – между двумя высокими. Знание рI имеет значение для разделения аминокислот и белков методами электрофореза и ионообменной хроматографии.

1.1.4. Пептиды: образование, структура и свойства

Пептиды образуются в результате конденсации α -аминогруппы одной аминокислоты с α -карбоксильной группой другой с выделением молекулы воды и образованием пептидной (амидной) связи. Эта связь обладает частичным кратным характером вследствие резонансного взаимодействия между карбонильным кислородом и амидным азотом, что ограничивает свободное вращение вокруг связи C–N и придаёт ей плоскую конфигурацию. Пептидная связь почти всегда находится в транс-конфигурации (за исключением пролинсодержащих последовательностей, где возможна цис-форма).

Пептидная цепь имеет направление: N-конец (свободная α -аминогруппа) и C-конец (свободная α -карбоксильная группа). Последовательность аминокислот

в пептиде (его первичная структура) однозначно определяет его пространственную организацию и биологическую функцию.

Несмотря на то что пептидная связь термодинамически нестабильна, её гидролиз в физиологических условиях кинетически затруднён, что обеспечивает устойчивость белков. В живых системах расщепление пептидных связей катализируется специфическими протеазами.

Физико-химические свойства пептидов определяются суммой свойств входящих в их состав аминокислотных остатков: заряд, гидрофобность, способность к образованию водородных связей, наличие специфических функциональных групп. Некоторые короткие пептиды выполняют самостоятельные регуляторные функции (например, гормоны: окситоцин, вазопрессин, глюкагон).

1.1.5. Биологическое значение аминокислот и пептидов

Помимо роли в синтезе белков, аминокислоты участвуют в многочисленных метаболических путях как предшественники биологически активных соединений:

тироzin – предшественник дофамина, норадреналина, адреналина, меланина и тиреоидных гормонов;

триптофан – источник серотонина, мелатонина и никотинамидных коферментов;

гистидин – предшественник гистамина, медиатора воспаления;

глутамат – главный возбуждающий нейромедиатор в ЦНС;

глицин – ингибирующий нейромедиатор и субстрат для синтеза гема.

Пептиды также могут обладать антибактериальной активностью (дефензины), участвовать в передаче сигнала (нейропептиды) или регулировать осмотический баланс (глутатион – трипептид γ -Glu-Cys-Gly, ключевой внутриклеточный антиоксидант).

1.2. Принципы структурной организации белков. Физико-химические свойства белков

Белки – полифункциональные биополимеры, выполняющие ключевые роли в структурной организации клеток, катализе биохимических реакций, межклеточной и внутриклеточной сигнализации, транспорте веществ, иммунной защите и регуляции генетических процессов. Их функциональное разнообразие напрямую обусловлено сложной иерархической системой пространственной организации, основанной на последовательности аминокислот (первой структуре) и определяемой законами физической химии и термодинамики.

1.2.1. Уровни структурной организации белков

Современная биохимия выделяет четыре уровня структурной организации белков:

Первичная структура – линейная последовательность аминокислотных остатков, соединённых пептидными связями. Эта последовательность кодируется генетически и определяет все последующие уровни укладки. Даже

однократная замена аминокислоты (точечная мутация) может привести к нарушению функции белка (например, серповидноклеточная анемия вследствие замены $\text{Glu} \rightarrow \text{Val}$ в β -цепи гемоглобина).

Вторичная структура – локальные регулярные конформации полипептидной цепи, стабилизируемые водородными связями между атомами пептидного остова (не боковыми цепями). Основными типами являются:

α -спираль: правозакрученная спираль с 3,6 аминокислотными остатками на виток; водородные связи образуются между карбонильным кислородом остатка i и амидным водородом остатка $i+4$. Спираль стабилизируется также дипольным моментом.

β -складчатый слой (β -структура): вытянутые фрагменты цепи, уложенные бок о бок; водородные связи формируются между соседними β -нитями, которые могут быть параллельными или антипараллельными. Боковые цепи чередуются над и под плоскостью слоя.

Другие элементы: β -изгибы (turns), случайные петли (loops), 3_{10} - и π -спирали – менее распространены, но важны для формирования компактных доменов.

Третичная структура – общая трёхмерная конформация одной полипептидной цепи, включающая пространственное расположение всех элементов вторичной структуры и петель. Стабилизируется совокупностью нековалентных взаимодействий:

гидрофобные взаимодействия (главный движущий фактор сворачивания: неполярные R-группы стремятся к внутреннему ядру, избегая контакта с водой);

водородные связи;

ионные (электростатические) взаимодействия между заряженными боковыми цепями;

ван-дер-ваальсовы силы;

ковалентные дисульфидные связи между остатками цистеина (особенно важны для экстрацеллюлярных белков).

Четвертичная структура – организация нескольких полипептидных цепей (субъединиц) в функциональный олигомерный комплекс. Взаимодействия между субъединицами аналогичны тем, что стабилизируют третичную структуру (преимущественно гидрофобные и ионные). Примеры: гемоглобин (тетramer $\alpha_2\beta_2$), лактатдегидрогеназа (тетramer), ДНК-полимераза (многокомпонентный комплекс).

1.2.2. Сворачивание белков и молекулярные шапероны

Процесс приобретения нативной конформации (фолдинг) – спонтанный, термодинамически управляемый переход в состояние с минимальной свободной энергией ($\Delta G < 0$). Однако *in vivo* сворачивание может быть затруднено из-за высокой концентрации макромолекул, что повышает риск агрегации. Для предотвращения этого клетка использует молекулярные шапероны – специализированные белки, которые не определяют конечную структуру, но создают защищённую среду для корректного сворачивания. К ним относятся семейства Hsp70 (DnaK у бактерий) и Hsp60 (GroEL/GroES у бактерий, TRiC у эукариот).

Нарушение сворачивания приводит к накоплению мисфолдинговых форм, которые могут агрегироваться в амилоидные фибриллы – патологические структуры, лежащие в основе нейродегенеративных заболеваний (болезнь Альцгеймера, Паркинсона, прионные болезни).

1.2.3. Физико-химические свойства белков

Белки – амфотерные полиэлектролиты, чьи свойства зависят от рН, ионной силы, температуры и присутствия денатурирующих агентов.

Растворимость: определяется суммарным зарядом и гидрофобностью поверхности. При изоэлектрической точке (рI) суммарный заряд равен нулю, растворимость минимальна. Используется для осаждения белков.

Денатурация – потеря нативной конформации (а следовательно, и функции) без разрыва пептидных связей. Вызывается нагреванием, экстремальными значениями рН, органическими растворителями, дегидратантами, солями тяжёлых металлов. Денатурация часто необратима из-за агрегации.

Амфотерность и буферные свойства: белки способны поглощать или отдавать протоны в зависимости от рН, что обусловлено наличием множества ионизируемых групп (α- и боковых).

Оптическая активность: обусловлена хиральностью Сα-атомов; используется в спектроскопических методах (круговой диахроизм) для оценки содержания вторичной структуры.

Гидродинамические свойства: форма и размер белка влияют на его поведение в растворе (вязкость, седиментация, диффузия). Компактные глобулярные белки ведут себя иначе, чем фибриллярные.

1.2.4. Классификация белков по форме и растворимости

Глобулярные белки: компактные, сферические, растворимы в воде или солевых растворах; большинство ферментов, транспортных и регуляторных белков.

Фибриллярные белки: вытянутые, нерастворимые, выполняют структурные функции (кератин, коллаген, эластин, фибронектин).

Мембранные белки: содержат гидрофобные участки, интегрированные в липидный бислой; требуют дегидратантов для растворения.

Коллаген – обладает особой структурой: его основная структурная единица – тройная спираль из левых полиспиралей, стабилизированная гидроксилированными остатками пролина и лизина и множеством водородных связей. Это обеспечивает исключительную механическую прочность.

1.2.5. Связь структуры и функции

Принцип «структурата определяет функцию» лежит в основе всей белковой биохимии. Нативная конформация создаёт уникальные участки – функциональные сайты:

Активный центр фермента – карман, содержащий катализитические и субстрат-связывающие остатки.

Аллостерические сайты – участки связывания эффекторов, вызывающих конформационные изменения.

Сайты связывания лигандов (например, гем в миоглобине).

Даже незначительные конформационные перестройки (например, при связывании кислорода с гемоглобином) могут приводить к кооперативным эффектам и аллостерической регуляции.

1.3. Структурная и функциональная классификация белков

Белки представляют собой наиболее разнообразную по структуре и функциям группу биомолекул. Их классификация позволяет систематизировать знания, выявлять общие принципы организации и прогнозировать биологическую роль неизвестных белков на основе структурных или последовательностных гомологий. Существуют два взаимодополняющих подхода: структурная классификация, основанная на архитектуре трёхмерной укладки, и функциональная классификация, отражающая биологическую роль белка в клетке или организме.

1.3.1. Структурная классификация белков

Структурная классификация опирается на организацию вторичных структурных элементов (α -спиралей, β -слоёв и их комбинаций) в компактные глобулярные домены. Наиболее авторитетной системой является SCOP (Structural Classification of Proteins) и её автоматизированный аналог CATH. Обе системы выделяют иерархию уровней: класс \rightarrow архитектура \rightarrow топология (складка) \rightarrow гомологичные суперсемейства \rightarrow семейства.

На высшем уровне белки подразделяются на четыре **структурных класса**:

Все- α -белки – домены, состоящие преимущественно из α -спиралей, уложенных в пучки, соленоиды или глобулы. Примеры: миоглобин, домены ядерных рецепторов, гемоглобин (α - и β -цепи). Спирали часто связаны гидрофобными взаимодействиями между их неполярными сторонами.

Все- β -белки – структуры, построенные в основном из β -складчатых слоёв, которые могут образовывать бочонки (β -barrels), сэндвичи (β -sandwiches) или пропеллеры. Примеры: иммуноглобулины, триозофосфатизомераза, белки семейства SH2.

α/β -белки – смешанные структуры, в которых β -слои окружены α -спиральями. Наиболее распространённый мотив – $(\beta/\alpha)_8$ -бочонок (TIM-баррель), названный по триозофосфатизомеразе. Этот мотив встречается в десятках ферментов, катализирующих разные реакции, что иллюстрирует «модульный» принцип эволюции белков.

$\alpha+\beta$ -белки – содержат как α -спирали, так и β -слои, но они **не чередуются регулярно** и разделены в пространстве. Примеры: лизоцим, рибонуклеаза А.

Помимо глобулярных, выделяют **фибриллярные белки**, имеющие повторяющиеся структурные мотивы и выполняющие в основном механические функции:

α -спиральные фибриллярные белки: кератины (волосы, ногти), миозин (мышечные ткани), фибриллярные промежуточные филаменты.

β -структурные фибриллярные белки: фибронектин, коллаген.

повторяющиеся полипролиновые или тройно-спиральные структуры: коллаген (глицин-Х-У повторы, где Х и У часто – пролин и гидроксипролин).

Мембранные белки составляют особую структурную группу. Внутримембранные сегменты, как правило, образуют α -спирали (редко – β -бочонки, как в поринах бактерий), богатые гидрофобными аминокислотами (Leu, Ile, Val, Phe). Примеры: G-белок-связанные рецепторы (7ТМ-спиралей), ионные каналы, переносчики (пермеазы).

1.3.2. Функциональная классификация белков

Функциональная классификация отражает биологическую роль белка в организме. Основные категории включают:

Ферменты – биологические катализаторы (подробно рассмотрены в темах 4–6). Примеры: гексокиназа, ДНК-полимераза, каталаза.

Структурные белки – обеспечивают механическую устойчивость тканей и клеток:

внеклеточные: коллаген (соединительная ткань), эластин (сосуды, легкие);

внутриклеточные: актин, тубулин, промежуточные филаменты (кератин, виментин, ламин).

Транспортные белки:

внутриклеточные: миоглобин (O_2 в мышцах);

трансмембранные: гемоглобин (O_2 в крови), альбумин (транспорт жирных кислот, билирубина), Na^+/K^+ -АТФаза, глюкозные переносчики (GLUT);

мембранные каналы и насосы: аквапорины, Ca^{2+} -АТФаза.

Регуляторные белки:

гормоны: инсулин, глюкагон, паратгормон;

транскрипционные факторы: p53, NF-кВ, стероидные рецепторы;

белки сигнальных каскадов: Ras, МАР-киназы, G-белки.

Рецепторные белки – распознают сигналы (гормоны, нейромедиаторы, свет) и передают их внутрь клетки. Примеры: β -адренорецепторы, инсулиновый receptor, родопсин.

Защитные белки:

иммунные: антитела (иммуноглобулины), компоненты системы комплемента;

антиоксидантные: супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза;

тромбообразующие и фибринолитические: фибриноген, тромбин, плазмин.

Запасающие белки – резервуары аминокислот или ионов:

растительные: зеин (кукуруза), глиадин (пшеница);

животные: казеин (молоко), ферритин (запас железа).

Двигательные белки – преобразуют химическую энергию в механическую работу:

миозин, кинезин, динеин (взаимодействуют с актином или микротрубочками);

ротационные моторы: F_0F_1 -АТФ-синтаза.

Токсические белки – используются в защите или охоте:

рицин (растение), ботулинический токсин (бактерия), змеиные нейротоксины.

Хелатирующие и буферные белки:

кальмодулин – связывает Ca^{2+} и регулирует множество ферментов;

металлотионеины – связывают ионы тяжёлых металлов (Zn^{2+} , Cu^+ , Cd^{2+}).

1.3.3. Мультидоменные и мультимодульные белки

Многие белки эукариот являются **мультдоменными**, состоя из нескольких структурно и функционально независимых модулей (доменов), каждый из которых может выполнять свою роль (связывание, катализ, регуляция). Например, тирозинкиназы рецепторного типа содержат внеклеточный лиганд-связывающий домен, трансмембранный сегмент и внутриклеточный катализический домен.

Часто домены повторяются (тандемные повторы), что увеличивает аффинность связывания (например, анкириновые повторы, WD40-повторы). Такая модульность – результат эволюционного дуплицирования и рекомбинации генов.

1.4. Особенности биокатализических процессов. Структурная организация ферментов

Ферменты – это биологические катализаторы, преимущественно белковой природы (реже – катализитические РНК, рибозимы), которые ускоряют химические реакции в живых системах на многие порядки, обеспечивая тем самым возможность существования жизни при умеренных температурах, нейтральном рН и атмосферном давлении. Биокатализ отличается от неорганического катализа высокой специфичностью, регулируемостью и эффективностью при физиологических условиях.

1.4.1. Общие принципы биокатализа

Ферменты не изменяют термодинамику реакции: они не смещают положение равновесия, а лишь **снижают энергию активации** (E_a) переходного состояния, обеспечивая альтернативный, энергетически более выгодный путь превращения субстрата в продукт. Это достигается за счёт стабилизации переходного состояния значительно сильнее, чем самого субстрата.

Ключевые особенности ферментативного катализа:

Высокая катализическая эффективность: многие ферменты достигают «диффузионного лимита» – каждое столкновение с субстратом приводит к реакции (например, карбоангидраза).

Высокая специфичность: по отношению к субстрату (абсолютная, групповая, стереохимическая) и типу реакции.

Регулируемость: активность ферментов контролируется на множестве уровней – аллостерическая регуляция, ковалентные модификации, протеолитическая активация, изменение экспрессии генов.

Мягкие условия протекания реакций: физиологические температура, рН, ионная сила.

1.4.2. Структурная основа ферментативной активности: активный центр

Активный центр (АЦ) – это трёхмерный карман или щель в структуре фермента, образованный остатками аминокислот, часто расположеными далеко друг от друга в первичной последовательности, но сближёнными в нативной конформации. Обычно АЦ составляет менее 2 % от общего объёма белка, но именно он определяет катализитические свойства.

Свойства активного центра:

Комплементарность к переходному состоянию, а не к субстрату (теория переходного состояния Полинга).

Микроокружение с уникальными физико-химическими свойствами: низкая диэлектрическая проницаемость, специфический рН, наличие гидрофобных или заряженных участков.

Наличие катализитических остатков: функциональные группы аминокислот (например, His, Asp, Glu, Ser, Cys, Lys), кофакторов или простетических групп, непосредственно участвующих в химическом превращении.

1.4.3. Классы ферментов и их структурные особенности

Хотя ферменты чрезвычайно разнообразны, их структурная организация часто отражает принадлежность к определённому катализитическому типу. Например:

Гидролазы (например, сериновые протеазы: трипсин, химотрипсин) содержат **катализическую триаду** (Ser-His-Asp), где серин выступает в роли нуклеофила.

Оксидоредуктазы (например, лактатдегидрогеназа, цитохромы) часто содержат **кофакторы**, такие как NAD^+ , FAD, гем, медь- или железосодержащие центры.

Трансферазы (например, киназы) обычно имеют **биндинговые сайты для АТФ** и субстрата; часто содержат глицин-богатые петли (P-loop) для связывания фосфатов.

Лиазы (например, фумаратгидратаза) катализируют нековалентное расщепление связей без участия воды или окисления; их АЦ часто содержит кислотно-основные пары для абстракции/донарства протонов.

Структурные исследования (рентгеноструктурный анализ, крио-ЭМ) показывают, что **один и тот же катализитический скелет (fold)** может использоваться для катализа **разных реакций**, а **одна и та же реакция** может катализироваться ферментами с **совершенно разной укладкой** – свидетельство конвергентной и дивергентной эволюции.

1.4.4. Кофакторы, коферменты и простетические группы

Многие ферменты требуют небелковых компонентов для активности:

Кофакторы – неорганические ионы (Mg^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+}/Fe^{3+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} , K^+ , Na^+). Например, Mg^{2+} стабилизирует отрицательные заряды фосфатов АТФ в киназных реакциях.

Коферменты – органические молекулы, часто производные витаминов, слабо связанные с ферментом и регенерируемые в отдельных реакциях (NAD^+ , FAD , коэнзим А, тетрагидрофолат).

Простетические группы – органические или металлоорганические компоненты, **прочно (часто ковалентно)** связанные с белком (гем в каталазе, биотин в карбоксилазах, FAD в сукцинатдегидрогеназе).

Отсутствие кофактора превращает фермент в неактивный **апофермент**; в комплексе с кофактором он образует активный **холофермент**.

1.4.5. Механизмы катализа: общие стратегии

Ферменты используют комбинацию из нескольких каталитических стратегий:

Кислотно-основной катализ: передача протонов от кислоты (донора) или к основанию (акцептору). Особенно эффективен, когда рKa катализитического остатка близка к pH среды (например, His в нейтральной среде).

Ковалентный катализ: образование временного ковалентного промежуточного комплекса между ферментом и субстратом (например, ацил-фермент в химотрипсине).

Металлоферментный катализ: ионы металлов стабилизируют заряды, поляризуют связи, участвуют в окислительно-восстановительных циклах (например, Zn^{2+} в карбоангидразе активирует воду для нуклеофильной атаки на CO_2).

Каталитическое сближение и ориентация: фермент связывает субстраты так, что их реакционные группы оказываются в оптимальной ориентации и в непосредственной близости, что резко увеличивает вероятность реакции.

Стабилизация переходного состояния: АЦ содержит группы, взаимодействующие с нестабильной конфигурацией субстрата сильнее, чем с его основным состоянием. Это подтверждается высоким сродством ферментов к **аналогам переходного состояния** (используются при дизайне ингибиторов).

1.4.6. Примеры структурной организации ключевых ферментов

Химотрипсин (сериновая протеаза): содержит каталитическую триаду Ser195-His57-Asp102; механизм включает образование ацил-ферментного промежуточного продукта.

Карбоангидраза: содержит Zn^{2+} , координированный тремя остатками His; катализирует гидратацию CO_2 со скоростью до 10^6 молекул в секунду.

Алкогольдегидрогеназа: использует NAD^+ как кофермент; содержит Zn^{2+} в активном центре для поляризации карбонильной группы этанала.

1.5. Механизм действия ферментов. Кинетика ферментативных процессов

Изучение механизма действия ферментов и их кинетики позволяет количественно описать скорость ферментативных реакций, выявить молекулярные детали катализа и понять, как клетка регулирует метаболические потоки. Кинетический анализ лежит в основе диагностики ферментопатий, разработки ингибиторов и оптимизации биотехнологических процессов.

1.5.1. Основная модель ферментативного катализа: модель Михаэлиса–Ментен

Наиболее распространённая модель описывает односубстратную реакцию:



где:

E – свободный фермент;

S – субстрат;

ES – фермент-субстратный комплекс;

P – продукт.

При условии **стационарного состояния** (скорость образования ES равна скорости его распада), была выведена **уравнение Михаэлиса–Ментен**:

$$v = \frac{V_{max}[S]}{K_M + [S]}$$

где:

v – начальная скорость реакции;

V_{max} – максимальная скорость ферментативной реакции;

K_M – константа Михаэлиса–Ментен;

Физический смысл K_M :

При $k_{cat} \ll k_{-1}$: $K_M \approx K_S = k_{-1}/k_1$ – константа диссоциации комплекса ES, мера **аффинности** фермента к субстрату (чем ниже K_M , тем выше аффинность).

В общем случае: $K_M = (k_{-1} + k_{cat}) / k_1$, отражает как связывание, так и катализический этап.

k_{cat} характеризует **катализическую эффективность** фермента (молекул продукта на активный центр в секунду). **Специфичность катализа** оценивается по параметру k_{cat}/K_M (единицы: $M^{-1} \cdot s^{-1}$), который отражает эффективность фермента при низких концентрациях субстрата. Максимальное теоретическое значение ограничено скоростью диффузии ($\sim 10^8$ – $10^9 M^{-1} \cdot s^{-1}$).

1.5.2. Графические методы анализа кинетических данных

Для определения K_M и V_{max} используются линеаризующие преобразования: **Двойной обратный график (Лайнуивера–Берка)**:

$$\frac{1}{v} = \frac{K_M}{V_{max}} \times \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}}$$

Прямая в координатах $1/v$; $1/[S]$; отрезки на осях дают $1/V_{max}$ и $-1/K_M$. Чувствителен к ошибкам при низких $[S]$.

График Эдди–Хофсти:

$$\frac{v}{[S]} = \frac{V_{max}}{K_M} - \frac{v}{K_M}$$

Линейная зависимость $v/[S]$ от v .

График Хейна:

$$\frac{[S]}{v} = \frac{K_M}{V_{max}} + \frac{[S]}{V_{max}}$$

1.5.3. Механизмы многосубстратных реакций

Большинство ферментативных реакций включают два или более субстратов. Основные механизмы:

Последовательный механизм:

Упорядоченный: субстраты связываются в строгой последовательности (например, лактатдегидрогеназа: $\text{NAD}^+ \rightarrow \text{лактат}$).

Случайный: субстраты могут связываться в любом порядке (например, креатинкиназа).

В обоих случаях образуется **тройной комплекс** $E \cdot A \cdot B$.

Механизм «пинг-понг» (ping-pong):

Фермент сначала связывает субстрат A , высвобождает продукт P и переходит в модифицированную форму E^* .

Затем связывает субстрат B , регенерирует исходный фермент и высвобождает продукт Q .

Примеры: трансаминазы (пиридоксальфосфат как простетическая группа меняет форму), сериновые протеазы.

Кинетические графики (например, двойные обратные) позволяют различить эти механизмы: при ping-pong линии параллельны, при последовательном – пересекаются.

1.5.4. Ингибиование ферментов

Ингибиторы – молекулы, снижающие ферментативную активность. Классификация:

Обратимые ингибиторы:

Конкурентный: похож на субстрат, связывается в активном центре; увеличивает кажущуюся K_M , не влияет на V_{max} .

Неконкурентный: связывается вне активного центра (в том числе с ES); снижает V_{max} , не влияет на K_M .

Бесконкурентный: связывается только с ES -комплексом; снижает и V_{max} , и K_M .

Смешанный: связывается с E и ES , но с разным сродством; влияет на оба параметра.

Необратимые ингибиторы: ковалентно модифицируют фермент (например, ДФП – дизопропилфторфосфат – фосфорилирует Ser в сериновых протеазах).

Ингибиторы широко используются как лекарства (например, статины – конкурентные ингибиторы ГМГ-КоА-редуктазы) и исследовательские инструменты.

1.5.5. Аллостерическая кинетика

У многих регуляторных ферментов наблюдается **S-образная** зависимость v/v_0 от $[S]$, что указывает на **кооперативность** связывания субстрата (как в гемоглобине). Такие ферменты состоят из нескольких субъединиц, и связывание субстрата с одной субъединицей увеличивает аффинность других.

Модель **Монод–Вайман–Ченже (MWC)** предполагает существование двух конформационных состояний: T (напряжённое, низкое сродство) и R (расслабленное, высокое сродство). Субстрат смещает равновесие в сторону R-формы.

Аллостерические эффекторы (активаторы или ингибиторы) стабилизируют один из состояний, изменяя кинетику без конкуренции за активный центр.

1.5.6. Физиологическое значение кинетических параметров

Ферменты, катализирующие **ключевые (лимитирующие)** этапы метаболических путей, часто имеют K_m , близкую к физиологической концентрации субстрата, что позволяет чувствительно регулировать поток.

Высокое значение k_{cat}/K_m у ферментов детоксикации (например, каталазы) обеспечивает мгновенное удаление токсичных соединений.

Изменение K_m или V_{max} при мутациях лежит в основе наследственных заболеваний (ферментопатий).

1.6. Классификация и номенклатура ферментов. Применение ферментов в промышленности и медицине

Ферменты представляют собой наиболее разнообразную и функционально значимую группу белков. Для систематизации этого многообразия была разработана международная **классификация и номенклатура ферментов**, утверждённая Международным союзом биохимии и молекулярной биологии (IUBMB). Эта система позволяет однозначно идентифицировать любой фермент по катализитической активности, независимо от его источника или названия.

1.6.1. Классификация ферментов по типу катализируемой реакции

Согласно IUBMB, все ферменты разделены на **шесть основных классов**, каждый из которых имеет свой кодовый номер Полный ЕС-номер состоит из четырёх цифр (например, EC 1.1.1.1 – алкогольдегидрогеназа).

1. Оксидоредуктазы (EC 1)

Катализируют **окислительно-восстановительные реакции** с переносом электронов или водорода.

Донор электронов – **субстрат**, акцептор – **кофермент** (NAD⁺, NADP⁺, FAD, FMN) или кислород.

Подклассы: дегидрогеназы (переносят H⁻), оксидазы (используют O₂ как акцептор), пероксидазы (используют H₂O₂), оксигеназы (включают O₂ в субстрат).

Пример: **лактатдегидрогеназа** (EC 1.1.1.27):



2. Трансферазы (EC 2)

Переносят **функциональные группы** (метильные, амино-, фосфатные, ацильные и др.) от одного субстрата к другому.

Наиболее важны **киназы** (переносят γ-фосфат от АТФ), **трансаминазы** (переносят аминогруппы).

Пример: **гексокиназа** (EC 2.7.1.1):



3. Гидролазы (EC 3)

Катализируют **гидролитическое расщепление** связей (эфирных, пептидных, гликозидных, фосфоэфирных) с участием воды.

Включают **протеазы, липазы, нуклеазы, фосфатазы, гликозидазы**.

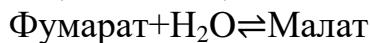
Пример: **трипсин** (EC 3.4.21.4) – сериновая протеаза, гидролизует пептидные связи после Lys и Arg.

4. Лиазы (EC 4)

Катализируют **негидролитическое расщепление** связей (C–C, C–O, C–N) с образованием двойных связей или присоединение групп к двойным связям (обратимо).

Часто называются **сингазами** (но не путать с синтетазами из класса лигаз!).

Пример: **фумаратгидратаза** (EC 4.2.1.2):



5. Изомеразы (EC 5)

Катализируют **внутримолекулярные перегруппировки**: рацемизацию, эпимеризацию, цис-транс-изомеризацию, внутримолекулярный перенос функциональных групп.

Пример: **триозофосфатизомераза** (EC 5.3.1.1) – эпимеризация динидроксацинетона и глицеральдегид-3-фосфата.

6. Лигазы (синтетазы) (EC 6)

Катализируют **соединение двух молекул с одновременным расщеплением АТФ** (или другого нуклеозидтрифосфата), образуя новые связи (C–O, C–S, C–N, C–C).

Название часто заканчивается на «синтетаза».

Пример: **аминокислотная тРНК-синтетаза** (EC 6.1.1.X) – присоединяет аминокислоту к соответствующей тРНК.

1.6.2. Номенклатура ферментов

Систематическое название ферmenta строится по принципу: «**субстрат:группа(донор/акцептор)** + **тип реакции** + **-аза**».

Например:

АТФ:глюкоза-6-фосфотрансфераза – систематическое название гексокиназы.

L-лактат:NAD⁺-оксидоредуктаза – систематическое название лактатдегидрогеназы.

Однако на практике используются **тривиальные названия**, устоявшиеся в литературе (трипсин, пепсин, каталаза). IUBMB допускает их использование, если они однозначны.

1.6.3. Применение ферментов в промышленности

Ферменты широко применяются благодаря своей **специфичности, эффективности и экологичности** (работают при низких Т и Р, биоразлагаемы).

Пищевая промышленность

Амилазы и глюкоамилазы: осахаривание крахмала в производстве пива, виски, кукурузного сиропа.

Протеазы (папаин, бромелайн): смягчение мяса, производство сыров (реннин/химозин – фермент, свёртывающий казеин).

Лактаза: гидролиз лактозы в молочных продуктах для людей с непереносимостью.

Пектиназы: осветление соков и вин.

Текстильная и кожевенная промышленность

Целлюлазы: «старение» джинсовой ткани (биостирка).

Протеазы: удаление волос с шкур в дублении.

Моющие средства

Щелочные протеазы и липазы: разложение белковых и жировых пятен при стирке (входят в состав бытовых и промышленных порошков).

Биотопливо

Целлюлазы и гемицеллюлазы: гидролиз лигноцеллюлозы для получения ферментируемых сахаров из биомассы.

Бумажная промышленность

Ксиланазы: отбеливание целлюлозы, снижение потребления хлора.

Фармацевтика и органический синтез

Кеторедуктазы, трансаминазы, гидролазы: стереоселективный синтез фармацевтических интермедиатов (например, для производства антибиотиков, статинов).

1.6.4. Применение ферментов в медицине

Диагностика

Ферменты служат **биомаркерами** повреждения тканей:

АЛТ, АСТ – повреждение печени;

Креатинкиназа (МВ-фракция) – инфаркт миокарда;

Амилаза, липаза – панкреатит;

Щелочная фосфатаза – заболевания костей или печени.

Терапия

Стрептокиназа, урокиназа, тканевой активатор плазминогена (тPA) – тромболитики для растворения тромбов.

Аспарагиназа – противоопухолевый препарат (лишает лейкозные клетки аспарагина).

Лизоцим – антисептик.

Панкреатин (содержит амилазу, липазу, протеазы) – заместительная терапия при экзокринной недостаточности поджелудочной железы.

Аденозиндезаминаза – ферментозаместительная терапия при тяжёлой комбинированной иммунной недостаточности (SCID).

Биотехнология и молекулярная медицина

Рестриктазы, ДНК-лигазы, полимеразы – основа ПЦР, клонирования, секвенирования, генной терапии.

Кас9 (нуклеаза) – редактирование генома.

1.6.5. Инженерия ферментов

Современные методы (рациональный дизайн, направленная эволюция) позволяют модифицировать ферменты для улучшения:

термостабильности,
активности в органических растворителях,
субстратной специфичности,
устойчивости к ингибиторам.

Это расширяет их применение в неестественных условиях, например, в синтезе хиральных лекарств.

1.7. Метаболизм белков и аминокислот. Пути катаболизма аминокислот. Образование и выведение аммиака из организма

Метаболизм белков и аминокислот охватывает процессы их поступления, синтеза, деградации и превращения в другие метаболиты. В отличие от углеводов и липидов, **организм не имеет специализированных запасов аминокислот**, поэтому их уровень поддерживается за счёт баланса между экзогенным поступлением (с пищей), эндогенным синтезом и катаболизмом. Ключевая особенность катаболизма аминокислот – **выделение атомов азота** в виде аммиака, который является высокотоксичным соединением и требует специальных механизмов детоксикации и экскреции.

1.7.1. Общие пути катаболизма аминокислот

Катаболизм аминокислот начинается с **удаления α -аминогруппы**, что приводит к образованию **α -кетокислот**, которые могут вступать в центральные метаболические пути (гликолиз, цикл Кребса). Основные механизмы дезаминирования:

1. Трансаминирование (переаминирование)

Каталитически обратимый перенос α -аминогруппы с аминокислоты на α -кетокислоту-акцептор.

Кофермент – **пиридоксальфосфат (ПФФ)**, производное витамина В₆.

Основной акцептор аминогруппы – **α -кетоглутарат**, который превращается в **глутамат**.

Трансаминазы (аминотрансферазы) специфичны к аминокислоте, но большинство используют α -кетоглутарат.

Пример:



2. Окислительное дезаминирование

Необратимое удаление аминогруппы с образованием **аммиака (NH_4^+)** и α -кетокислоты.

Основной фермент – **глутаматдегидрогеназа** (в митохондриях печени), катализирующая:



Используется NAD^+ (каболизм) или NADP^+ (анаболизм).

3. Совместное действие трансаминаз и глутаматдегидрогеназы

Это основной путь дезаминирования большинства аминокислот:

Аминокислота \rightarrow глутамат (через трансаминазу),

Глутамат \rightarrow α -кетоглутарат + NH_4^+ (через глутаматдегидрогеназу).

1.7.2. Судьба углеродного скелета аминокислот

После удаления аминогруппы образовавшиеся α -кетокислоты превращаются в ключевые метаболиты:

Глюкогенные аминокислоты: их углеродный скелет превращается в пируват или промежуточные продукты цикла Кребса, которые могут служить субстратами для **глюконеогенеза** (например, аланин \rightarrow пируват; аспартат \rightarrow оксалоацетат).

Кетогенные аминокислоты: расщепляются до **ацетил-КоА** или **ацетоацетил-КоА**, которые используются для синтеза **кетоновых тел** или жирных кислот (лейцин, лизин – исключительно кетогенные).

Смешанные аминокислоты: изолейцин, фенилаланин, тирозин, триптофан – дают как глюкогенные, так и кетогенные продукты.

1.7.3. Образование и токсичность аммиака

Аммиак ($\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$) образуется:

в ходе дезаминирования аминокислот,

при расщеплении нуклеотидов,

в результате действия бактериальных уреаз кишечника на мочевину.

Токсичность аммиака:

Нарушает **энергетический метаболизм**: истощает α -кетоглутарат (связывается с ним с образованием глутамата), что тормозит цикл Кребса.

Повышает **цитозольный pH**, нарушает мембранные потенциалы.

Вызывает **отёк мозга** (глиальные клетки утилизируют NH_4^+ , сопутствующе захватывая K^+ и воду).

1.7.4. Детоксикация и выведение азота

Организм использует два основных пути выведения избыточного азота:

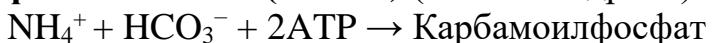
1. Мочевинный цикл (цикл Кребса–Хенслейта)

Происходит **в печени** (частично в митохондриях, частично в цитозоле).

Превращает **2 молекулы NH_4^+ и 1 молекулу HCO_3^- в 1 молекулу мочевины**, которая нетоксична и хорошо растворима.

Основные этапы:

Карбамоилфосфатсинтетаза I (КФС-И) (в митохондриях):



Карбамоилфосфат + орнитин \rightarrow цитруллин (орнитинтранскарбамоилаза).

Цитруллин транспортируется в цитозоль, соединяется с аспартатом \rightarrow аргининсукцинат (аргининсукцинатсинтетаза, требует АТФ).

Аргининсукцинат \rightarrow аргинин + фумарат (аргининсукцинатлиаза).

Аргинин \rightarrow мочевина + орнитин (аргиназа); орнитин возвращается в митохондрии.

Фумарат, образующийся на этапе 4, входит в цикл Кребса, связывая мочевинный цикл с энергетическим метаболизмом.

Аспартат поставляет второй атом азота (из глутамата через трансаминирование).

2. Альтернативные пути выведения азота

У млекопитающих: мочевина – основной путь (~90% азота).

У рыб: прямое выведение аммиака (аммонотелия) – возможно благодаря высокому содержанию воды.

У птиц и рептилий: выведение в виде **мочевой кислоты** (урикотелия) – малорастворимое соединение, экономящее воду.

1.7.5. Нарушения метаболизма аминокислот и мочевинного цикла

Фенилкетонурия (дефицит фенилаланингидроксилазы) – накопление фенилаланина, повреждение ЦНС.

Болезнь кленового сиропа (дефект разветвлённо-цепочечной α -кетокислотдегидрогеназы) – накопление лейцина, изолейцина, валина.

Гипераммониемия – наследственные дефекты ферментов мочевинного цикла (например, дефицит КФС-И или орнитинтранскарбамоилазы), приводящие к тяжёлой интоксикации аммиаком, коме и смерти у новорождённых.

Лечение включает диету с ограничением белка, введение альтернативных путей выведения азота (бензоат натрия – связывает глицин \rightarrow гиппуровая кислота; фенилбутаноат – связывает глутамин).

1.8. Образование заменимых аминокислот. Биосинтез белка (трансляция)

Метаболизм аминокислот включает не только их деградацию, но и **биосинтез**. Из 20 стандартных протеиногенных аминокислот **11 считаются заменимыми** (у человека), то есть могут быть синтезированы *de novo* из промежуточных метаболитов центральных путей (гликолиза, цикла Кребса, пентозофосфатного пути). Остальные 9 – **незаменимые** – должны поступать с пищей, так как у человека отсутствуют ферменты для их синтеза.

1.8.1. Биосинтез заменимых аминокислот

Заменимые аминокислоты синтезируются в основном путём **восстановительного аминирования** или **трансаминирования** соответствующих α -кетокислот:

Аланин – из пирувата (трансаминирование с глутаматом).

Аспартат – из оксалоацетата (трансаминирование).

Глутамат – из α -кетоглутарата (восстановительное аминирование глутаматдегидрогеназой или путём переноса аминогруппы от других аминокислот).

Аспарагин – аминация аспартата с использованием **глутамина** как донора амидного азота (фермент: аспарагинсинтетаза, требует АТФ).

Глутамин – аминация глутамата с использованием **аммиака** и АТФ (глутаминсинтетаза – ключевой фермент утилизации аммиака в мозге и мышцах).

Пролин и аргинин – синтезируются из **глутамата** через γ -глутамилфосфат и орнитин соответственно.

Серин – из 3-фосфоглицерата (промежуточного продукта гликолиза); последующее превращение серина даёт **глицин** и **цистеин** (при участии метионина как донора серы).

Тирозин – гидроксилирование **фенилаланина** (фермент: фенилаланингидроксилаза); поэтому при дефиците фенилаланина тирозин становится условно незаменимым.

Важно отметить, что у бактерий и растений синтезируются все 20 аминокислот, и их пути гораздо более разнообразны.

1.8.2. Биосинтез белка: общая характеристика трансляции

Трансляция – процесс синтеза полипептидной цепи на основе информации, закодированной в мРНК. Это центральный этап экспрессии генов, осуществляющийся на **рибосомах** и требующий участия более 100 макромолекул: мРНК, тРНК, рибосомальных белков и РНК, факторов инициации, элонгации и терминации, а также источников энергии (ГТФ, АТФ).

Трансляция состоит из трёх фаз: **инициация, элонгация, терминация**. У прокариот и эукариот механизмы схожи, но отличаются по деталям (например, наличие 5'-кэпа у эукариотической мРНК).

1.8.3. Молекулярные компоненты трансляции

1. мРНК

Служит матрицей; содержит **кодоны** – триплеты нуклеотидов, каждый из которых кодирует одну аминокислоту.

Начало трансляции определяется **старт-кодоном AUG** (редко GUG, UUG).

У прокариот – полицистронная; у эукариот – моноцистронная с 5'-кэпом и 3'-поли(A)-хвостом.

2. тРНК

Адаптерные молекулы, связывающие конкретную аминокислоту с соответствующим кодоном мРНК.

Имеют **антикодоновую петлю**, комплементарную кодону, и **3'-конец ССА**, к которому ковалентно присоединяется аминокислота.

Образуют **аминокислотил-тРНК** (aa-tRNA) в реакции, катализируемой **аминокислот-тРНК-синтетазами** (по одной на каждую аминокислоту).

3. Рибосома

Рибонуклеопротеидный комплекс: у прокариот – 70S (50S + 30S), у эукариот – 80S (60S + 40S).

Содержит **три сайта связывания тРНК**:

А-сайт (аминокислотный) – для входящей aa-tRNA,

Р-сайт (пептидил-тРНК) – для тРНК, несущей растущую цепь,

Е-сайт (выходной) – для деацилированной тРНК.

Каталитическая активность (пептидилтрансфераза) обеспечивается **рибосомальной РНК (рРНК)**, что делает рибосому **рибозимом**.

1.8.4. Этапы трансляции

Инициация

Прокариоты: малая субъединица связывается с **последовательностью Шайн–Дальгарно** на мРНК, затем присоединяется **инициаторная fMet-tRNA^{fMet}** (формил-метионил-тРНК) в комплексе с фактором IF2 и ГТФ.

Эукариоты: малая субъединица связывается с 5'-кэпом, сканирует мРНК до первого AUG, присоединяет **Met-tRNA^{fMet}** (без формилирования).

Затем присоединяется большая субъединица → образование 70S/80S-инициаторного комплекса.

Элонгация

Циклический процесс, повторяющийся для каждого кодона:

Доставка aa-tRNA в А-сайт: фактор элонгации EF-Tu (у прокариот) или eEF1 α (у эукариот) доставляет aa-tRNA в комплексе с ГТФ.

Пептидилтрансферазная реакция: рРНК катализирует перенос пептидной цепи с Р-сайта на аминогруппу аминокислоты в А-сайте → образуется пептидиль-тРНК в А-сайте.

Транслокация: фактор EF-G (eEF2) сдвигает рибосому на один кодон; пептидиль-тРНК переходит в Р-сайт, деацилированная тРНК – в Е-сайт и высвобождается.

Терминация

При достижении **стоп-кодона** (UAA, UAG, UGA) в А-сайте связываются **факторы терминации** (RF1/RF2 у прокариот; eRF1 у эукариот).

Они имитируют тРНК и активируют гидролиз пептидиль-тРНК → высвобождение полипептида.

Рибосома диссоциирует при участии факторов разборки.

1.8.5. Посттрансляционные модификации

Новообразованный полипептид (протеин) часто требует **модификаций** для приобретения функциональной активности:

Сшивание дисульфидных мостиков (в ЭПС),

Фосфорилирование, гликозилирование, ацетилирование,

Протеолитическое созревание (например, инсулин из проинсулина),
Сборка субъединиц в олигомерные комплексы.
Фолдинг контролируется шаперонами (Hsp70, Hsp60).

1.8.6. Энергетика и регуляция трансляции

На присоединение **каждой аминокислоты** затрачивается **4 фосфатные связи**:

2 АТФ (активация аминокислоты → аа-AMP → аа-tRNA) + 2 ГТФ (доставка и транслокация).

Регуляция осуществляется на уровне инициации (например, фосфорилирование фактора eIF2 при стрессе подавляет трансляцию глобально).

1.9. Структурная организация нуклеиновых кислот. Ферментативное расщепление нуклеиновых кислот

Нуклеиновые кислоты – ДНК и РНК – являются носителями генетической информации и ключевыми участниками её реализации. Их структурная организация отражает функциональные различия: ДНК обеспечивает стабильное хранение и передачу наследственной информации, тогда как РНК участвует в динамических процессах экспрессии генов. Обе молекулы представляют собой линейные полимеры – **полинуклеотиды**, построенные из мономеров – **нуклеотидов**.

1.9.1. Химическая структура нуклеотидов

Нуклеотид состоит из трёх компонентов:

Азотистого основания:

Пуриновые: аденин (А), гуанин (Г);

Пиримидиновые: цитозин (Ц), тимин (Т – в ДНК), урацил (У – в РНК).

Пентозного сахара:

2'-дезоксирибоза – в ДНК;

рибоза – в РНК (отличается наличием гидроксильной группы при С2').

Фосфатной группы, присоединённой к С5' сахара.

Нуклеозид = основание + сахар; нуклеотид = нуклеозид + фосфат. В полинуклеотидной цепи нуклеотиды соединены **3',5'-фосфодиэфирными связями**, образуя сахарофосфатный остов с выступающими основаниями.

1.9.2. Вторичная структура ДНК: модель Уотсона–Крика

Двуцепочечная ДНК у большинства организмов существует в виде **правозакрученной двойной спирали (В-форма)**, предложенной Уотсоном и Криком в 1953 г. Основные характеристики:

Две антипараллельные цепи, ориентированные 5'→3' и 3'→5'.

Комплементарность оснований: А=Т (2 водородные связи), Г≡Ц (3 водородные связи).

Основания расположены внутри спирали, стекируя друг над другом; сахарофосфатный остов – снаружи.

Один виток – 10,5 пар оснований, шаг – 3,4 нм.

Существуют и другие формы: **А-ДНК** (в дегидратированных условиях), **Z-ДНК** (левозакрученная, образуется в участках с чередованием пуринов и пиримидинов, может участвовать в регуляции транскрипции).

Стабильность двойной спирали обеспечивается:

Гидрофобными взаимодействиями между стекированными основаниями, **Водородными связями** между комплементарными парами,

Электростатическими эффектами (нейтрализация отрицательного заряда фосфатов катионами Mg^{2+} , полиаминами).

1.9.3. Структура РНК

В отличие от ДНК, большинство РНК – **одноцепочечные**, но способны к **внутримолекулярному спариванию**, образуя сложные вторичные и третичные структуры:

Стебель-петлевые мотивы (hairpins),

Внутренние петли, выпуклости (bulges),

Псевдоузлы (pseudoknots).

Типы РНК и их структурные особенности:

мРНК: линейная, содержит 5'-кэп, кодирующую последовательность, 3'-поли(A)-хвост.

тРНК: «клеверный лист» во вторичной структуре, L-образная в третичной; содержит модифицированные основания (инозин, псевдоуридин).

рРНК: формирует каталитический и структурный каркас рибосомы.

Регуляторные РНК (miRNA, siRNA, lncRNA): часто содержат двуцепочечные участки.

1.9.4. Высшая структура ДНК

У эукариот ДНК упакована в **хроматин**:

Нуклеосома – основная единица: 146 п.н. ДНК обёрнуты вокруг октамера гистонов (H2A, H2B, H3, H4 $\times 2$).

Нуклеосомы соединены линкерной ДНК и гистоном H1 → формируется «бусинки на нити» (11-нм волокно).

Дальнейшая укладка приводит к 30-нм фибрилле и высокоупакованным хромосомам в митозе.

У прокариот ДНК организована в **нуклеоид**, стабилизируемый негистоновыми белками и суперскручиванием.

Суперскручивание – важный регуляторный механизм:

Каталитируется **токоизомеразами** (типа I – разрезают одну цепь; типа II – две цепи, требуют АТФ).

Необходимо для компактизации, репликации и транскрипции.

1.9.5. Ферментативное расщепление нуклеиновых кислот

Гидролиз фосфодиэфирных связей катализируется **нуклеазами** – ферментами класса гидролаз (ЕС 3.1).

Классификация нуклеаз:

По субстрату:

ДНК-азы – расщепляют ДНК,
РНК-азы – расщепляют РНК.

По типу действия:

Эндонуклеазы – разрезают внутренние связи,

Экзонуклеазы – отщепляют нуклеотиды с концов.

По специфичности:

Неспецифические (например, панкреатическая РНК-аза А – после пириимидинов),

Специфические (например, рестрикционные эндонуклеазы – распознают палиндромные последовательности).

Ключевые нуклеазы:

Панкреатическая РНК-аза А: эндонуклеаза, гидролизует после С и У, образуя 3'-фосфаты.

Спленическая ДНК-аза (DNase I): неспецифическая эндонуклеаза, гидролизует ДНК до олигонуклеотидов.

Рестрикционные эндонуклеазы типа II (например, EcoRI): распознают 4–8 п.н. и дают «липкие» или «тупые» концы – основа генной инженерии.

РНК-аза Н: расщепляет РНК в гибриде РНК:ДНК – участвует в репликации и репарации.

Экзонуклеазы:

5'→3' (например, в репликации – коррекция),

3'→5' (например, в деградации мРНК).

1.9.6. Физиологическая роль расщепления нуклеиновых кислот

Пищеварение: нуклеазы поджелудочной железы расщепляют пищевые нуклеиновые кислоты до олигонуклеотидов, затем нуклеотидазы и нуклеозидазы – до оснований и сахаров.

Репарация ДНК: нуклеазы удаляют повреждённые участки (например, в эксцизионной репарации).

Регуляция генов: деградация мРНК контролирует уровень экспрессии.

Защита от вирусов: рестрикционные системы у бактерий.

Апоптоз: активация эндонуклеаз приводит к фрагментации ДНК.

1.10. Синтез нуклеотидов. Биосинтез ДНК (репликация ДНК). Биосинтез РНК (транскрипция)

Синтез нуклеотидов и нуклеиновых кислот – центральные процессы, обеспечивающие репликацию генома, экспрессию генов и поддержание клеточной функции. Эти пути тесно интегрированы с обменом аминокислот, углеводов и энергетическим метаболизмом, поскольку нуклеотиды требуют значительных затрат углерода, азота и энергии.

1.10.1. Синтез нуклеотидов

Нуклеотиды синтезируются двумя основными путями: **de novo** (из простых предшественников) и **спасательным (salvage)** (реутилизация свободных оснований или нуклеозидов).

Синтез пуриновых нуклеотидов *de novo*

Происходит в **цитозоле** клеток (особенно печени).

Пуриновое кольцо строится **пошагово непосредственно на активированной рибозе** – 5-фосфорибозил-1-пирофосфате (ФРПП).

Источники атомов:

N1 – аспартат,

C2, C8 – формилтетрагидрофолат,

N3, N9 – глутамин,

C4, C5, N7 – глицин.

Конечный продукт – **инозинмонофосфат (ИМФ)**, предшественник АМФ и ГМФ.

Требует **6 молекул АТФ** на один пуриновый нуклеотид.

Регуляция: ключевой фермент – **глутамин-ФРПП-амидотрансфераза** – ингибируется АМП, ГМП, ИМП.

Синтез пиримидиновых нуклеотидов *de novo*

У млекопитающих: сначала синтезируется **пиримидиновое кольцо**, затем присоединяется к рибозе.

Этапы:

Образование **карбамоилфосфата** (в цитозоле; участвует **карбамоилфосфатсинтетаза II**, в отличие от митохондриальной КФС-I в мочевинном цикле).

Синтез оротовой кислоты.

Присоединение к ФРПП → **оротидилат** → **УМФ** (уридинмонофосфат).

УМФ превращается в **ЦМФ** (аминирование) и **ТМФ** (метилирование дУМФ).

Регуляция: **аспартаттранскарбамоилаза** (у бактерий) или **CAD-белок** (у млекопитающих) ингибируется УТФ.

Спасательные пути

Экономят энергию, особенно в тканях с низкой активностью *de novo* синтеза (мозг, костный мозг).

Ферменты:

Аденинфосфорибозилтрансфераза (АПРТ),

Гипоксантин-гуанинфосфорибозилтрансфераза (ГГФРТ) – дефект вызывает синдром Леша–Нихана.

Важны для синтеза нуклеотидов при быстром делении клеток.

1.10.2. Биосинтез ДНК (репликация)

Репликация – полуконсервативный, полусинхронный процесс удвоения ДНК перед делением клетки. У прокариот и эукариот механизмы сходны, но различаются по сложности.

Основные принципы

Матричный синтез: каждая цепь ДНК служит матрицей для синтеза комплементарной.

Направление синтеза: только **5' → 3'** (из-за механизма ДНК-полимераз).

Приморование: требуется **РНК-праймер**, синтезируемый **праймазой**.

Полуконсервативность: каждая дочерняя молекула содержит одну родительскую и одну новую цепь.

Ключевые ферменты и белки

ДНК-полимеразы:

У *E.coli*: Pol III – основная репликативная; Pol I – удаляет праймеры и заполняет пробелы.

У эукариот: Pol δ и ε – синтез основной цепи; Pol α – синтез праймера.

Хеликаза – раскручивает двойную спираль (использует АТФ).

Топоизомеразы – снимают суперскручивание впереди репликативной вилки.

Одноцепочечные ДНК-связывающие белки (SSB) – стабилизируют расплетённые цепи.

ДНК-лигаза – сшивает фрагменты Оказаки на отстающей цепи.

Особенности синтеза

Ведущая цепь: синтезируется непрерывно.

Отстающая цепь: синтезируется фрагментами Оказаки (1000–2000 нуклеотидов у прокариот, 100–200 у эукариот).

Теломераза (у эукариот): рибонуклеопротеид, содержащий РНК-матрицу, удлиняет 3'-концы хромосом, компенсируя укорочение при репликации.

Точность репликации

Ошибочность: ~1 на 10^5 нуклеотидов.

Коррекция: **3'→5' экзонуклеазная активность** ДНК-полимераз – «корректура».

Пострепликационная репарация – снижает ошибочность до ~1 на 10^9 – 10^{10} .

1.10.3. Биосинтез РНК (транскрипция)

Транскрипция – синтез РНК на матрице ДНК, катализируемый **ДНК-зависимой РНК-полимеразой**.

Этапы транскрипции

Инициация:

У прокариот: РНК-полимераза связывается с **промотором** (–10 и –35 участки) при помощи **σ-фактора**.

У эукариот: сборка **преинициационного комплекса** с участием факторов транскрипции (TFIIA, TFIIB и др.) на ТАТА-боксе.

Элонгация:

Полимераза движется по матричной цепи 3'→5', синтезируя РНК 5'→3'.

Не требует праймера.

Скорость: ~40–80 нуклеотидов/с у эукариот.

Терминация:

У прокариот:

ρ-зависимая (с участием белка ρ),

ρ-независимая (GC-богатый стебель-петля + поли-U последовательность).

У эукариот: терминация связана с процессингом 3'-конца (полиаденилирование).

Особенности у эукариот

Первичный транскрипт (пре-мРНК) подвергается процессингу:
Кэпирование 5'-конца (7-метилгуанозин),
Сплайсинг – удаление инtronов сплайсосомой (snRNP),
Полиаденилирование 3'-конца (поли(A)-хвост).

Транскрипция и трансляция пространственно разделены (ядро vs цитоплазма).

1.11. Структурно-функциональная характеристика олиго- и полисахаридов. Внеклеточное и внутриклеточное (фосфоролиз гликогена) ферментативное расщепление олиго- и полисахаридов

Углеводы являются важнейшими биомолекулами, выполняющими как **энергетические**, так и **структурные** функции. В биохимии выделяют **моносахариды** (глюкоза, фруктоза), **олигосахариды** (2–10 остатков, например, сахароза, мальтоза) и **полисахариды** (десятки и тысячи остатков). Последние делятся на **гомополисахариды** (один тип мономера) и **гетерополисахариды** (разные мономеры).

1.11.1. Основные гомополисахариды и их функции

1. Крахмал (у растений)

Смесь **амилозы** (линейные $\alpha(1 \rightarrow 4)$ -связанные остатки глюкозы) и **амилопектина** (разветвлённый: $\alpha(1 \rightarrow 4)$ и $\alpha(1 \rightarrow 6)$ связи каждые 24–30 остатков).

Функция: энергетический резерв.

2. Гликоген (у животных и грибов)

Высоко разветвлённый полимер глюкозы: $\alpha(1 \rightarrow 4)$ -связи в цепях, $\alpha(1 \rightarrow 6)$ -связи – в точках ветвления (каждые 8–12 остатков).

Отложения в **печени** (поддержание гликемии) и **мышцах** (локальный энергетический резерв).

Более разветвлён, чем амилопектин \rightarrow больше концевых остатков \rightarrow быстрое мобилизация.

3. Целлюлоза (у растений)

Линейный полимер **$\beta(1 \rightarrow 4)$ -связанной глюкозы.**

Образует **микрофибриллы** за счёт межцепочечных водородных связей.

Функция: структурная – основа клеточной стенки.

4. Хитин (у грибов и членистоногих)

Полимер **N-ацетилглюкозамина**, $\beta(1 \rightarrow 4)$ -связанного.

Образует прочные структуры (экзоскелет, клеточная стенка грибов).

1.11.2. Гетерополисахариды

1. Гликозаминогликаны (ГАГ)

Длинные неразветвлённые цепи из повторяющихся дисахаридных единиц (обычно аминосахар + уроновая кислота).

Примеры:

Гиалуроновая кислота: глюкуроновая кислота + N-ацетилглюкозамин; компонент внеклеточного матрикса, смазка в суставах.

Хондроитинсульфат, кератансульфат: в хрящах, связках.

Гепарин: антикоагулянт.

Часто ковалентно связаны с белками → **протеогликаны**.

2. Пектины, камеди, агар

Растительные и бактериальные полисахариды с разнообразным составом; участвуют в гидратации, адгезии, защите.

1.11.3. Внеклеточное расщепление полисахаридов (пищеварение)

У животных внеклеточное расщепление катализируется **секретируемыми гликозидазами**:

α-Амилаза (слюна, панкреатический сок):

Гидролизует **внутренние $\alpha(1 \rightarrow 4)$ -связи** в крахмале и гликогене.

Продукты: **мальтоза, мальтотриоза, α -лимит-декстрины** (содержащие $\alpha(1 \rightarrow 6)$ -связи).

Дисахаридазы (на щёточной кайме кишечника):

Мальтаза: мальтоза → 2 глюкозы,

Сахараза: сахароза → глюкоза + фруктоза,

Лактаза: лактоза → глюкоза + галактоза.

Изомальтаза: гидролизует $\alpha(1 \rightarrow 6)$ -связи в лимит-декстрине.

Таким образом, сложные углеводы пищи расщепляются до моносахаридов, которые затем транспортируются в кровь.

1.11.4. Внутриклеточное расщепление гликогена: фосфоролиз

В отличие от внеклеточного гидролиза, внутриклеточное расщепление гликогена происходит преимущественно путём **фосфоролиза**, что позволяет сберечь АТФ.

Ферменты гликогенолиза

Гликогенфосфорилаза:

Каталитически отщепляет **остатки глюкозы в виде глюкозо-1-фосфата (Г-1-Ф)** от нередуцирующих концов цепей.

Действует до 4-го остатка до точки ветвления.

Регулируется аллостерически (АМФ – активирует; АТФ, глюкозо-6-фосфат – ингибируют) и ковалентно (фосфорилирование → активная форма а).

Дегидрогеназа ветвления (гликоген-дегидрогеназа):

Переносит блок из 3 остатков с одной цепи на другую (оставляя один остаток в точке $\alpha(1 \rightarrow 6)$ -связи).

$\alpha(1 \rightarrow 6)$ -глюкозидаза:

Гидролизует оставшуюся $\alpha(1 \rightarrow 6)$ -связь → освобождает **свободную глюкозу**.

Метаболическая судьба продуктов

Глюкозо-1-фосфат → изомеризуется в **глюкозо-6-фосфат (Г-6-Ф)** (фермент: фосфоглюкомутаза).

В мышцах: Г-6-Ф вступает в гликолиз.

В печени: Г-6-Ф может быть дефосфорилирован (глюкозо-6-фосфатаза) → **свободная глюкоза** поступает в кровь.

Преимущества фосфоролиза

$\text{Г-1-Ф} \rightarrow \text{Г-6-Ф}$ **без затрат АТФ** (в отличие от гексокиназной фосфорилиации свободной глюкозы).

Позволяет быстро мобилизовать энергию при необходимости (голодание, физическая нагрузка).

1.11.5. Расщепление других полисахаридов внутри клетки

Лизосомальное расщепление:

Гликоген, ГАГ, гликолипиды деградируют в лизосомах под действием **кислых гидролаз** (α - и β -гликозидаз).

Требует **активного транспорта** олигосахаридов в лизосому.

Наследственные дефекты этих ферментов \rightarrow **лизосомные болезни накопления** (например, болезнь Помпе – дефицит лизосомной α -глюкозидазы).

1.12. Катаболизм углеводов: дихотомическое расщепление в аэробных и анаэробных условиях, гликогенолиз

Катаболизм углеводов – центральный энергетический путь, обеспечивающий клетку АТФ, восстановительными эквивалентами (NADH) и предшественниками для биосинтеза. Основной субстрат – **глюкоза**, поступающая из пищи или образующаяся в результате гликогенолиза и глюконеогенеза. Её судьба зависит от **наличия кислорода и энергетических потребностей клетки**.

1.12.1. Гликолиз: общий путь расщепления глюкозы

Гликолиз – последовательность из 10 реакций в цитозоле, превращающая **1 молекулу глюкозы в 2 молекулы пирувата с образованием 2 АТФ (нетто) и 2 НАДН**. Процесс делится на две фазы:

Подготовительная (инвестиционная) фаза (реакции 1–5)

Затрачиваются **2 АТФ** на фосфорилирование глюкозы и фруктозо-6-фосфата.

Ключевые ферменты:

Гексокиназа/глюкокиназа: глюкоза \rightarrow глюкозо-6-фосфат (Г-6-Ф).

Фосфофруктокиназа-1 (РФК-1): фруктозо-6-фосфат \rightarrow фруктозо-1,6-бисфосфат (Ф-1,6-БФ) – **главный регуляторный фермент гликолиза**.

На 4-й реакции **альдолаза** расщепляет Ф-1,6-БФ на **два триозофосфата**: глицеральдегид-3-фосфат (ГА-3-Ф) и дигидроксиацитонфосфат (ДАФ), последний изомеризуется в ГА-3-Ф.

Энергетическая (платёжная) фаза (реакции 6–10)

Каждая молекула ГА-3-Ф окисляется до **1,3-бисфосфоглицерата** с восстановлением **NAD⁺ \rightarrow НАДН** (фермент: глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа).

Субстратное фосфорилирование:

Фосфоглицераткиназа: 1,3-БФГ \rightarrow 3-фосфоглицерат + АТФ.

Пируваткиназа: фосфоенолпируват (ФЕП) \rightarrow пируват + АТФ – **второй ключевой регуляторный фермент**.

Итого: **4 АТФ синтезировано, 2 АТФ израсходовано** → **нетто +2 АТФ** на глюкозу.

1.12.2. Судьба пирувата: аэробные и анаэробные пути

Пируват – ключевой метаболический узел. Его дальнейшее превращение определяется **доступностью кислорода и типом ткани**.

Анаэробные условия: молочнокислое брожение

В условиях **гипоксии** (мышцы при интенсивной нагрузке, эритроциты, некоторые микроорганизмы) NADH должен быть **реокислен**, чтобы гликолиз продолжался.

Лактатдегидрогеназа (ЛДГ) катализирует:



Энергетический выход: только **2 АТФ на глюкозу**.

Лактат транспортируется в печень, где участвует в **глюконеогенезе** (цикл Кори).

Аэробные условия: окислительный путь

Пируват транспортируется в **митохондрии**, где подвергается **окислительному декарбоксилированию** до **ацетил-КоА** (ферментный комплекс ПДГ, см. тему 14).

Ацетил-КоА вступает в **цикл Кребса**, а NADH – в **дыхательную цепь**, что даёт до **30–32 АТФ на глюкозу**.

1.12.3. Гликогенолиз как источник глюкозы для гликолиза

Гликогенолиз (см. тему 11) обеспечивает быструю мобилизацию глюкозы без участия пищеварения:

В мышцах: гликоген → Г-1-Ф → Г-6-Ф → **непосредственно в гликолиз**.

В печени: Г-6-Ф → глюкоза → **в кровь** для поддержания гликемии.

Гликогенолиз **сопряжён с гликолизом**: продукты фосфоролиза (Г-1-Ф) легко превращаются в Г-6-Ф – промежуточный метаболит гликолиза.

1.12.4. Регуляция гликолиза

Гликолиз строго регулируется по принципу **обратной связи** и **гормонального контроля**:

Гексокиназа: ингибируется Г-6-Ф (предотвращает накопление).

PFK-1 – главный регулятор:

Активаторы: АМФ, АДФ, фруктозо-2,6-бисфосфат (F-2,6-БФ – самый сильный).

Ингибиторы: АТФ, цитрат, Н⁺ (при ацидозе).

F-2,6-БФ синтезируется **фосфофруктокиназой-2 (PFK-2)**, активность которой регулируется **инсулином** (активация) и **глюкагоном** (ингибирирование) через фосфорилирование.

Пищеварение:

Активируется: F-1,6-БФ (feed-forward activation),

Ингибируется: АТФ, аланин, ацетил-КоА,

Регулируется фосфорилированием (глюкагон → инактивация в печени).

1.12.5. Тканевая специфичность гликолиза

Эритроциты: зависят исключительно от гликолиза (нет митохондрий).

Мозг: использует глюкозу как основной субстрат, преимущественно аэробно.

Белый жир: низкая гликолитическая активность.

Опухолевые клетки: даже в присутствии кислорода активно ферментируют глюкозу в лактат (**эффект Варбурга**) – адаптация к быстрому росту и синтезу биомассы.

1.12.6. Интеграция с другими путями

Пентозофосфатный путь: отводит Г-6-Ф для синтеза NADPH и рибозо-5-фосфата.

Глюконеогенез: обратный путь, использующий 4 уникальных фермента (обходит необратимые этапы гликолиза).

Цикл Кребса: потребляет пируват (через ацетил-КоА) и оксалоацетат (из фосфоенолпирувата при глюконеогенезе).

1.13. Альтернативный пентозофосфатный путь окисления глюкозы.

Синтез углеводов: глюконеогенез и гликогеногенез

Помимо гликолиза, глюкоза может метаболизироваться через **пентозофосфатный путь (ПФП)**, а также участвовать в **анаболических процессах – глюконеогенезе** (синтез глюкозы *de novo*) и **гликогеногенезе** (синтез гликогена). Эти пути обеспечивают клетку восстановительной силой, пентозами для нуклеотидов и глюкозой в условиях голодания.

1.13.1. Пентозофосфатный путь (ПФП)

ПФП – цитоплазматический метаболический маршрут, функционирующий параллельно гликолизу. Его основные функции:

Генерация NADPH – восстановительного эквивалента для биосинтеза и антиоксидантной защиты.

Синтез рибозо-5-фосфата (Р-5-Ф) – предшественника нуклеотидов.

Интерконверсия углеводов – связь с гликолизом через триозы и гексозы.

ПФП состоит из двух фаз:

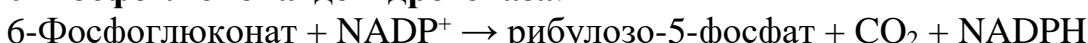
Окислительная фаза (необратимая)

Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа (Г-6-ФДГ):



6-Фосфоглюконолактоназа: гидролиз лактона.

6-Фосфоглюконатдегидрогеназа:



Итог: **2 NADPH и рибулозо-5-фосфат** на молекулу Г-6-Ф.

Регуляция: Г-6-ФДГ – ключевой фермент; ингибируется **NADPH** (обратная связь). Активность повышена в тканях с интенсивным биосинтезом (печень, молочная железа, надпочечники) и в эритроцитах (для поддержания восстановленного глутатиона).

Неокислительная фаза (обратимая)

Катализируется транскетолазой и трансальдолазой (требуют **тиамины-пирофосфат**, **ТПФ**, как кофермент):

Рибулозо-5-фосфат \rightleftharpoons рибозо-5-фосфат (для синтеза нуклеотидов) или **ксилулозо-5-фосфат**.

При избытке NADPH и потребности в АТФ:

3 молекулы Р-5-Ф \rightarrow 2 фруктозо-6-фосфата + 1 глицеральдегид-3-фосфат \rightarrow в гликолиз.

При избытке гликолитических промежуточных продуктов и потребности в Р-5-Ф:

Обратное превращение триоз и гексоз в пентозы.

Физиологическое значение ПФП

NADPH используется:

В синтезе жирных кислот и стероидов,

В восстановлении глутатиона (защита от ROS),

В реакциях монооксигеназ (биотрансформация ксенобиотиков).

Дефицит Г-6-ФДГ – наиболее частая ферментопатия человека; вызывает гемолитическую анемию при приёме окисляющих лекарств (примахин) из-за неспособности нейтрализовать перекисное окисление в эритроцитах.

1.13.2. Глюконеогенез

Глюконеогенез – синтез **глюкозы из неуглеводных предшественников** (лактат, глицерол, глюкогенные аминокислоты). Происходит преимущественно в **печени (90%)** и **коре надпочечников**. Критически важен во время **голодания, интенсивной мышечной работы и низкоуглеводной диеты**.

Основные предшественники

Лактат (из мышц, эритроцитов) \rightarrow пируват,

Глицерол (из липолиза) \rightarrow дигидроксиацитонфосфат,

Аминокислоты (аланин и др.) \rightarrow пируват или цикловые интермедиаты.

Маршрут глюконеогенеза

В основном обратен гликолизу, но обходит **три необратимых этапа** с помощью специфических ферментов:

Пируват \rightarrow фосфоенолпируват (ФЕП):

Пируват \rightarrow оксалоацетат (в митохондриях, ПДГ-карбоксилаза, требует АТФ, биотин),

Оксалоацетат \rightarrow малат \rightarrow цитозоль \rightarrow оксалоацетат \rightarrow ФЕП (фосфоенолпируваткарбоксикиназа, требует ГТФ).

Фруктозо-1,6-бисфосфат \rightarrow фруктозо-6-фосфат:

Фруктозо-1,6-бисфосфатаза (Ф-1,6-БФаза).

Глюкозо-6-фосфат \rightarrow глюкоза:

Глюкозо-6-фосфатаза (только в печени и почках; в мембране эндоплазматического ретикулума).

Энергетическая стоимость: **6 фосфатных связей** (4 АТФ + 2 ГТФ) на 1 молекулу глюкозы.

Регуляция

Ингибитируется:

Ацетил-КоА (активирует ПДГ-карбоксилазу, но подавляет ПДГ → перенаправляет пируват в глюконеогенез),

АМФ (сигнал низкой энергии → активирует гликолиз, подавляет глюконеогенез).

Активируется:

АТФ, цитрат,

Гормоны: **глюкагон** (через цАМФ → фосфорилирование и инактивация пируваткиназы), **кортизол** (индукция синтеза ферментов).

1.13.3. Гликогеногенез

Гликогеногенез – синтез **гликогена из глюкозы** в печени и мышцах после приёма пищи (в присутствии **инсулина**).

Этапы

Глюкоза → Г-6-Ф (гексокиназа/глюкокиназа).

Г-6-Ф → Г-1-Ф (фосфоглюкомутаза).

Г-1-Ф + УТФ → **уридинифосфоглюкоза (УДФ-глюкоза)** (УДФ-глюкозопирофосфорилаза).

Гликогенсинтаза: переносит глюкозу от УДФ-глюкозы на нередуцирующий конец гликогена с образованием $\alpha(1 \rightarrow 4)$ -связи.

Фермент ветвления (амило-(1,4→1,6)-трансгликозилаза): переносит блок из 6–7 остатков на внутренний участок цепи с образованием $\alpha(1 \rightarrow 6)$ -связи (каждые 8–12 остатков).

Регуляция

Гликогенсинтаза: активна в дефосфорилированной форме.

Инсулин: активирует фосфатазы → дефосфорилирование → активация синтеза.

Глюкагон/адреналин: ингибируют синтез через каскад фосфорилирования.

Гликогеногенез и гликогенолиз **не протекают одновременно** – это обеспечивается взаимной регуляцией ферментов («рекипрокный контроль»).

1.14. Окислительное декарбоксилирование пировиноградной кислоты. Цикл трикарбоновых кислот (цикл Кребса). Полное аэробное окисление глюкозы

Полное аэробное окисление глюкозы представляет собой высокоэффективный процесс генерации АТФ, объединяющий **гликолиз**, **окислительное декарбоксилирование пирувата**, **цикл трикарбоновых кислот (ЦТК)** и **окислительное фосфорилирование**. Этот метаболический каскад локализован в **цитозоле (гликолиз)** и **митохондриях** (остальные этапы) и обеспечивает до **30–32 молекул АТФ** на одну молекулу глюкозы.

1.14.1. Окислительное декарбоксилирование пирувата

Пируват, образовавшийся в цитозоле в результате гликолиза, транспортируется в **митохондриальную матрикс** через специфический переносчик. Здесь он подвергается необратимому превращению в **ацетил-**

кофермент А (ацетил-КоА) под действием **пируватдегидрогеназного комплекса (ПДК)** – крупной мультиферментной системы.

Состав ПДК

Комплекс состоит из трёх ферментов и пяти кофакторов:

E1: пируватдегидрогеназа (требует **тиаминпирофосфат, ТПП**),

E2: дигидролипоилтрансакетилаза (липоевая кислота, кофермент А),

E3: дигидролипоилдегидрогеназа (FAD, NAD⁺).

Механизм реакции

Декарбоксилирование: пируват → гидроксиэтил-ТПП (E1).

Окисление и ацетилирование: гидроксиэтил → ацетил, перенос на липоил-группу E2.

Перенос ацетила на КоА: образование **ацетил-КоА**.

Реокисление дигидролипоила: через FAD → NAD⁺ → **NADH + H⁺**.

Суммарная реакция:

Пируват + КоA + NAD⁺ → Ацетил-КоА + CO₂ + NADH + H⁺

Регуляция ПДК:

Ингибитируется: ацетил-КоА, NADH, АТФ (продукты).

Активируется: КоA, NAD⁺, АДФ, пируват (субстраты).

Ковалентная модификация:

ПДК-киназа (активируется ацетил-КоА, NADH) → **фосфорилирование** → **инактивация**.

ПДК-фосфатаза (активируется Ca²⁺, инсулин) → **дефосфорилирование** → **активация**.

1.14.2. Цикл трикарбоновых кислот (цикл Кребса, цикл лимонной кислоты)

ЦТК – центральный метаболический цикл, в котором **ацетил-КоА** окисляется до **CO₂**, а энергия выделяется в виде **NADH, FADH₂ и GTP**. Цикл локализован в **митохондриальной матриксе** и требует **оксалоацетата** как акцептора ацетильной группы.

Этапы цикла

Цитратсингтаза:

Ацетил-КоА + оксалоацетат + H₂O → **цитрат** + КоA.

Аконитаза: цитрат ⇌ *цис*-аконитат ⇌ **изоцитрат**.

Изоцитратдегидрогеназа:

Изоцитрат + NAD⁺ → **α-кетоглутарат** + CO₂ + **NADH**.

α-Кетоглутаратдегидрогеназный комплекс (аналог ПДК):
α-Кетоглутарат + NAD⁺ + КоA → **сукцинил-КоА** + CO₂ + **NADH**.

Сукцинил-КоА-синтетаза:

Сукцинил-КоА + ГДФ + P_i → **сукцинат** + GTP + КоA.
(GTP → АТФ через нуклеозиддифосфаткиназу).

Сукцинатдегидрогеназа (встроена во внутреннюю мембрану):
Сукцинат + FAD → **фумарат** + FADH₂.

Фумаратаза: фумарат + H₂O → **малат**.

Малатдегидрогеназа:

Малат + NAD⁺ → оксалоацетат + NADH.

Энергетический выход на 1 ацетил-КоА

3 NADH, 1 FADH₂, 1 GTP (≡ АТФ).

На 1 молекулу глюкозы (2 ацетил-КоА) → **6 NADH, 2 FADH₂, 2 АТФ.**

Амфиболическая природа ЦТК

Катаболическая функция: окисление ацетильных групп.

Анаболическая функция (поставка предшественников):

α-Кетоглутарат → глутамат → другие аминокислоты,

Сукцинил-КоА → гем,

Оксалоацетат → аспартат, глюкоза (глюконеогенез),

Цитрат → вынос в цитозоль → источник ацетил-КоА для синтеза жирных кислот.

Регуляция ЦТК

Цитратсингтаза: ингибируется цитратом, АТФ, NADH.

Изоцитратдегидрогеназа: активируется АДФ, ингибируется АТФ, NADH.

α-Кетоглутаратдегидрогеназа: ингибируется сукцинил-КоА, NADH.

Скорость цикла определяется доступностью **оксалоацетата и ацетил-КоА.**

1.14.3. Полное аэробное окисление глюкозы

Суммарный баланс полного окисления 1 молекулы глюкозы (таблица 1):

Таблица 1 – Баланс полного окисления глюкозы.

Этап	Продукты	Эквиваленты АТФ*
Гликолиз (цитозоль)	2 АТФ, 2 NADH	2 + (3–5)
ПДК (митохондрии)	2 NADH	5
ЦТК (×2)	6 NADH, 2 FADH ₂ , 2 GTP	15 + 3 + 2
Итого		30–32 АТФ

* NADH из цитозоля доставляется в митохондрии через **малат-аспартатный** (→ 2,5 АТФ/NADH) или **глицерол-фосфатный** (→ 1,5 АТФ/NADH) членочные системы.

Теоретический максимум: 32 АТФ (при использовании малат-аспартатного членника).

Реальная эффективность: ~30 АТФ из-за утечек протонов и затрат на транспорт.

1.14.4. Интеграция ЦТК с другими путями

Окисление жирных кислот: β-окисление → ацетил-КоА → ЦТК.

Катаболизм аминокислот: углеродные скелеты → интермедиаты ЦТК.

Анаплеротические реакции: восполнение оксалоацетата (например, пируват → оксалоацетат через ПДГ-карбоксилазу).

Катаплеротические реакции: отбор интермедиатов на биосинтез.

1.15. Простые и сложные липиды. Структурная организация мембран. Ферментативное гидролитическое расщепление липидов в процессе пищеварения. Эмульгирование липидов. Внутриклеточный липолиз

Липиды – гетерогенная группа гидрофобных или амфифильных молекул, выполняющих **энергетические, структурные, сигнальные и регуляторные** функции. Их метаболизм включает как расщепление для получения энергии и строительных блоков, так и синтез мембранных и сигнальных компонентов.

1.15.1. Классификация липидов

Простые липиды

Ацилглицерины (глицериды):

Моно-, ди-, триацилглицерины (ТАГ) – основная форма хранения энергии в жировой ткани.

ТАГ содержат глицерол и три жирные кислоты (ЖК), соединённые сложноэфирными связями.

Воски: эфиры длинноцепочечных спиртов и ЖК; функция – защита (кожа, перья, листья).

Сложные липиды

Фосфолипиды:

Глицерофосфолипиды: глицерол + 2 ЖК + фосфат + полярная голова (холин, этаноламин, серин, инозитол).

Примеры: фосфатидилхолин (лецитин), фосфатидилэтаноламин.

Сфингомиелины: на основе сфингозина (не глицерола); компонент миелиновых оболочек.

Гликолипиды:

Цереброзиды: сфингозин + ЖК + моносахарид (галактоза/глюкоза).

Ганглиозиды: содержат олигосахариды с сиаловой кислотой; важны в нервной ткани и распознавании клеток.

Стероиды:

Холестерин: компонент мембран, предшественник желчных кислот, стероидных гормонов, витамина D.

Производные холестерина: кортизол, тестостерон, эстрадиол, желчные кислоты (холевая, хенодезоксихолевая).

1.15.2. Структурная организация биологических мембран

Биологические мембранны построены по **жидкостно-мозаичной модели**:

Двухслой липидов (бислой) – основа, образованная преимущественно фосфолипидами и холестерином.

Белки: интегральные (трансмембранные) и периферические.

Углеводы: в виде гликопротеинов и гликолипидов на наружной поверхности (гликокаликс).

Свойства мембран:

Амфифильность липидов: гидрофобные хвосты внутрь, гидрофильные головы – в водную фазу.

Ассиметрия: внутренний и наружный листки различаются по составу (например, фосфатидилсерин – преимущественно во внутреннем).

Флюидность: обеспечивается ненасыщенными ЖК и холестерином (при высокой Т – стабилизирует, при низкой – предотвращает кристаллизацию).

Самосборка: термодинамически спонтанный процесс, обусловленный гидрофобным эффектом.

1.15.3. Пищеварение липидов: эмульгирование и гидролиз

Липиды пищи (в основном ТАГ) являются гидрофобными и требуют специальной обработки для ферментативного расщепления.

Эмульгирование

В двенадцатиперстной кишке **желчные кислоты** (синтезируемые из холестерина в печени, хранятся в жёлчном пузыре) действуют как **детергенты**.

Они образуют **мицеллы**, разделяя крупные жировые капли на мелкие эмульсии → резко увеличивается поверхность для действия липаз.

Ферментативный гидролиз

Панкреатическая липаза: гидролизует сложноэфирные связи на **sn-1** и **sn-3** позициях ТАГ → **2-моноацилглицерин (2-МАГ) + 2 ЖК**.

Кофактор: колипаза – связывается с мембраной и якорит липазу к поверхности капли.

Холестеринэстераза: гидролизует эфиры холестерина.

Фосфолипаза А₂: отщепляет ЖК фосфолипидов → лизофосфолипид + ЖК.

Продукты гидролиза (ЖК, 2-МАГ, холестерин) включаются в **мицеллы желчных кислот** и транспортируются к энteroцитам для всасывания.

1.15.4. Внутриклеточный липолиз

В жировой ткани (адипоцитах) ТАГ расщепляются для мобилизации энергии при голодании или стрессе.

Ферменты липолиза

Адипоцитная триацилглицерол-липаза (ATGL): отщепляет первую ЖК → **диацилглицерин (ДАГ)**.

Гормон-чувствительная липаза (ГЧЛ): гидролизует ДАГ → **моноацилглицерин (МАГ)**.

Регуляция: активируется **фосфорилированием** при действии **глюкагона, адреналина** (через цАМФ-зависимую протеинкиназу); ингибируется **инсулином**.

Моноацилглицерол-липаза (MGL): гидролизует МАГ → **глицерол + ЖК**.

Судьба продуктов

Жирные кислоты: связываются с **альбумином** и транспортируются в ткани → **β-окисление**.

Глицерол: транспортируется в печень → **глицерол-3-фосфат** → **глюконеогенез** или **гликолиз**.

Липолиз – ключевой процесс поддержания энергетического гомеостаза при дефиците глюкозы.

1.15.5. Клиническое значение

Панкреатит: дефицит панкреатических ферментов → стеаторея (жирный стул).

Обструкция жёлчных путей: нарушение эмульгирования → мальтигестия липидов.

Синдромы липодистрофии: нарушение липолиза или липогенеза.

1.16. Катаболизм жирных кислот. Анаболизм липидов (синтез жирных кислот и стероидов). Биосинтез ацилглицеринов и глицерофосфолипидов

Липидный метаболизм включает как **каталинические**, так и **анаболические** пути, обеспечивающие энергетический гомеостаз, мембраногенез и сигнальную регуляцию. Катаболизм жирных кислот происходит преимущественно в митохондриях, тогда как их синтез локализован в цитозоле, что отражает принцип разделения разнонаправленных процессов.

1.16.1. Катаболизм жирных кислот: β -окисление

β -Окисление – основной путь деградации насыщенных жирных кислот (ЖК) в митохондриях, приводящий к последовательному отщеплению **ацетил-КоА** по два углеродных атома за цикл.

Активация и транспорт

В цитозоле ЖК активируются:

$\text{ЖК+КоА+АТФ} \rightarrow \text{ацил-КоА-сингтетазаацил-КоА+АМФ+PPi}$

Длинноцепочечные ацил-КоА не проникают в митохондрию напрямую. Их транспорт осуществляется через **карнитиновый членок**:

Карнитин-ацилтрансфераза I (КАТ-I) (на внешней мембране): ацил-КоА → ацилкарнитин.

Транслоказа: перенос ацилкарнитина в матрикс.

КАТ-II (внутренняя мембрана): регенерация ацил-КоА.

КАТ-I – ключевой регулятор: ингибитируется **малонил-КоА** (первый промежуточный продукт синтеза ЖК), что предотвращает одновременный синтез и распад.

Цикл β -окисления

Каждый цикл включает четыре реакции:

Дегидрогенация: ацил-КоА → *транс*- Δ^2 -эноил-КоА (ацил-КоА-дегидрогеназа, FAD → FADH₂).

Гидратация: эноил-КоА → L-3-гидроксиацил-КоА (эноил-КоА-гидратаза).

Дегидрогенация: → 3-кетоацил-КоА (L-3-гидроксиацил-КоА-дегидрогеназа, NAD⁺ → NADH).

Тиолиз: расщепление → ацетил-КоА + ацил-КоА (укороченный на 2C) (β -кетотиолаза).

Для пальмитиновой кислоты (С16):

7 циклов → **8 ацетил-КоА, 7 FADH₂, 7 NADH**.

Энергетический выход: ~106 АТФ (минус 2 АТФ на активацию) → **нетто ≈ 104 АТФ**.

Особенности:

Ненасыщенные ЖК требуют дополнительных изомераз и редуктаз. Нечётные ЖК дают **пропионил-КоА** → сукцинил-КоА → ЦТК.

1.16.2. Анаболизм липидов

Синтез жирных кислот

Происходит в **цитозоле** у животных; катализируется **мультферментным комплексом – жирнокислотным синтазой (FAS)**.

Исходный субстрат: ацетил-КоА (из митохондрий → цитозоль в виде цитрата → расщепление на ацетил-КоА + оксалоацетат).

Переносчик: **ацил-переносящий белок (АПБ)** с 4'-фосфопантетиновой группой.

Кофакторы: NADPH (из ПФП), АТФ, бикарбонат.

Этапы синтеза (цикл повторяется 7 раз для пальмитата):

Карбоксилирование ацетил-КоА → малонил-КоА (ацетил-КоА-карбоксилаза, АСС – **ключевой регулируемый фермент**, требует биотин, АТФ, HCO_3^-).

Перенос ацетильной и малонильной групп на АПБ.

Конденсация → ацетоацетил-АПБ.

Редукция (NADPH) → D-3-гидроксибутирил-АПБ.

Дегидратация → кротонил-АПБ.

Редукция (NADPH) → бутирил-АПБ.

После 7 циклов образуется **пальмитиновая кислота (C16:0)**.

Регуляция:

АСС активируется: инсулин (дефосфорилирование), цитрат (аллостерически).

АСС ингибитируется: глюкагон (фосфорилирование), пальмитоил-КоА, эпинефрин.

Диета: высокое содержание углеводов → ↑ инсулин → ↑ синтез ЖК.

Синтез стероидов

Исходный субстрат: ацетил-КоА.

Ключевой промежуточный продукт: холестерин.

Этапы:

3 ацетил-КоА → **HMG-КоА.**

HMG-КоА → мевалонат (HMG-КоА-редуктаза – **ключевой регулируемый фермент**, мишень статинов).

Мевалонат → изопреноиды → сквален → **холестерин.**

Производные холестерина:

Желчные кислоты (в печени),

Стероидные гормоны (в коре надпочечников, яичниках, яичках),

7-Дегидрохолестерин → **витамин D₃** (в коже под УФ).

1.16.3. Биосинтез ацилглицеринов и глициерофосфолипидов

Ацилглицерины (ТАГ)

Локализация: печень, жировая ткань, кишечник.

Путь Кеннеди:

Глицерол-3-фосфат (из дигидроксиацитонфосфата или глицерола) → **лизофосфатидная кислота** (ацилирование).

→ **фосфатидная кислота** (второе ацилирование).

Дегидрофосфорилирование → **диацилглицерин (ДАГ)**.

Ацилирование ДАГ → **триацилглицерин (ТАГ)**.

ТАГ упаковываются в **хиломикроны** (в кишечнике) или **ЛПОНП** (в печени) для транспорта.

Глицерофосфолипиды

Синтезируются из ДАГ или **ЦДФ-диацилглицерина**.

Пример (фосфатидилхолин):

Холин → фосфохолин → ЦДФ-холин.

ЦДФ-холин + ДАГ → фосфатидилхолин.

Ремоделирование: обмен ЖК между фосфолипидами (фермент – фосфолипаза A₂ + ацилтрансфераза).

Эти пути обеспечивают **постоянное обновление мембран** и синтез липопротеинов.

1.17. Биоэнергетические процессы. Принципы организации и функционирования ЭТЦ митохондрий. Механизм окислительного фосфорилирования АДФ

Биоэнергетика изучает преобразование энергии в живых системах. У аэробных организмов основной путь генерации АТФ – **окислительное фосфорилирование**, осуществляющееся в **внутренней митохондриальной мембране** и включающее два сопряжённых процесса: **электронный транспорт** (дыхательная цепь) и **хемиосмотическое сопряжение**, приводящее к фосфорилированию АДФ.

1.17.1. Основы биоэнергетики: термодинамика и роль АТФ

Энергия, высвобождаемая при окислении топливных молекул (глюкоза, жирные кислоты), не используется напрямую, а **конвертируется в АТФ** – универсальный энергетический «валютный» носитель.

ΔG° гидролиза АТФ ≈ –30.5 кДж/моль – достаточно для эндэргонических реакций.

АТФ образуется двумя путями:

Субстратное фосфорилирование (гликолиз, ЦТК),

Окислительное фосфорилирование (митохондрии) – основной путь (90% АТФ).

1.17.2. Электрон-транспортная цепь (ЭТЦ) митохондрий

ЭТЦ (таблица 2) – серия четырёх **мультибелковых комплексов** и двух подвижных переносчиков, встроенных во **внутреннюю митохондриальную мембрану**. Электроны от **NADH** и **FADH₂** передаются кислороду, последнему акцептору, с образованием воды.

Таблица 2 – Компоненты ЭТЦ.

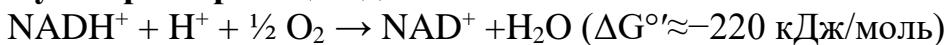
Комплекс	Название	Субстраты/продукты	Протонный насос?
I	NADH-убихинон-оксидоредуктаза	NADH → убихинон (коэнзим Q)	Да (4 H ⁺)
II	Сукцинат-убихинон-оксидоредуктаза	Сукцинат → убихинон (FADH ₂ -путь)	Нет
III	Убихинол-цитохром <i>c</i> -оксидоредуктаза	Убихинол → цитохром <i>c</i>	Да (4 H ⁺)
IV	Цитохром <i>c</i> -оксидаза	Цитохром <i>c</i> → O ₂	Да (2 H ⁺)

Подвижные переносчики:

Убихинон (Q) – липофильный, переносит электроны и протоны.

Цитохром *c* – периферический белок, переносит только электроны.

Суммарная реакция для NADH:



Энергетика переноса электронов

Электроны движутся от **низкого** (более отрицательного) к **высокому** (положительному) **окислительно-восстановительному потенциалу** (E°).

Разность потенциалов между NADH ($E^\circ = -0.32$ В) и O₂ ($E^\circ = +0.82$ В) составляет ~1.14 В, что обеспечивает высокий выход энергии.

1.17.3. Хемиосмотическая теория окислительного фосфорилирования

Предложена Питером Митчеллом (1961). Суть:

Энергия переноса электронов используется для перекачки протонов (H⁺) из матрикса в межмембранные пространство, создавая электрохимический градиент (Δp). Этот градиент затем используется АТФ-синтазой для синтеза АТФ.

Протонный мотивирующий потенциал (Δp)

$$\Delta p = \Delta\psi - \frac{2,3 \text{ RT}}{F} \Delta pH$$

$\Delta\psi$ – мембранный потенциал (внутри матрикса отрицательный, ~−150 мВ),

ΔpH – градиент pH (~0.5–1.0 единиц, матрикс щелочнее).

$\Delta p \approx 200\text{--}220$ мВ – достаточен для синтеза АТФ.

АТФ-синтаза (Комплекс V)

Структура:

F₀-субчасть – трансмембранный протонный канал (субъединицы *a*, *b*, *c*).

F₁-субчасть – каталитическая головка в матриксе (α₃β₃γδε), содержит активные сайты на β-субъединицах.

Механизм (роторный катализ):

Протоны, возвращаясь в матрикс через F₀, врачают **с-ротор**.

Вращение передаётся через **γ-субъединицу** → индуцирует конформационные изменения в β-субъединицах → **связывание АДФ + Р_i → синтез АТФ** (модель Бойера: «связанное изменение конформации»).

Стехиометрия: ~4 H⁺ на 1 АТФ (3 H⁺ на синтез + 1 H⁺ на транспорт фосфата и АДФ).

1.17.4. Энергетический выход и Р/О-отношение

Р/О-отношение – число молекул АТФ, синтезированных на 1 атом кислорода (½ O₂).

NADH: Р/О ≈ 2.5 (10 H⁺ перекачано → 10/4 = 2.5 АТФ).

FADH₂: Р/О ≈ 1.5 (входит в Комплекс II → 6 H⁺ → 6/4 = 1.5 АТФ).

Суммарно на 1 глюкозу:

10 NADH (гликолиз*, ПДК, ЦТК) → 25 АТФ,

2 FADH₂ → 3 АТФ,

4 АТФ (субстратное) → итого ≈ 32 АТФ,

где *NADH из цитозоля даёт 1.5–2.5 АТФ в зависимости от челночной системы.

1.17.5. Регуляция и разобщение

Регуляция дыхания:

Основной регулятор – [АДФ]. При высоком АДФ → активация ЭТЦ (дыхательный контроль).

При низком АДФ – ЭТЦ замедляется (состояние «дыхательного покоя»).

Разобщители (диссипаторы):

2,4-Динитрофенол (ДНФ), термогенин (UCP1) в бурой жировой ткани.

Делают мембрану проницаемой для H⁺ → градиент рассеивается в тепло, АТФ не синтезируется.

Физиологическая роль: **не-дрожащий термогенез** у новорождённых и гибернирующих животных.

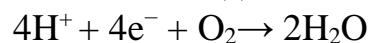
1.18. Пути потребления кислорода в живых организмах. Свободнорадикальные окислительные процессы, перекисное окисление липидов. Антиоксидантная система организма

Кислород (O₂) – конечный акцептор электронов в аэробном дыхании, однако его частичное восстановление приводит к образованию **реактивных форм кислорода (РФК)**, обладающих высокой химической активностью. Баланс между использованием O₂ в энергетическом метаболизме и контролем его токсичных побочных продуктов обеспечивается сложной **антиоксидантной системой**.

1.18.1. Основные пути потребления кислорода

Митохондриальное дыхание (основной путь)

~90% O₂ потребляется в **Комплексе IV** дыхательной цепи:



Электроны передаются строго по цепи, минимизируя утечку.

Монооксигеназы и диоксигеназы

Включают атомы O₂ в субстраты:

Цитохром Р450: детоксикация ксенобиотиков, синтез стероидов (один атом O₂ в продукт, другой – в H₂O).

Оксидазы:

Ксантинооксидаза – образует мочевую кислоту (и супероксид как побочный продукт),

Аминоксидазы – дезаминирование биогенных аминов.

Фагоцитоз-зависимое потребление

В нейтрофилах и макрофагах O_2 используется **NADPH-оксидазой** для генерации **супероксид-аниона ($O_2^{\bullet-}$)** – часть «окислительного взрыва» для уничтожения патогенов.

В совокупности, около **1–3%** потребляемого O_2 превращается в РФК даже при нормальных условиях.

1.18.2. Реактивные формы кислорода (РФК) и их образование

РФК (таблица 3) – производные O_2 с неспаренными электронами или высокой окислительной способностью:

Таблица 3 – Типы реактивных форм кислорода.

РФК	Формула	Механизм образования
Супероксид-анион	$O_2^{\bullet-}$	Утечка 1 e^- на O_2 (Комплексы I, III; ксантинооксидаза)
Перекись водорода	H_2O_2	Дисмутация $O_2^{\bullet-}$ или прямое восстановление O_2
Гидроксильный радикал	$\cdot OH$	Реакция Фентона: $Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + \cdot OH + OH^-$
Пероксинитрит	$ONOO^-$	$O_2^{\bullet-} + NO \cdot \rightarrow ONOO^-$

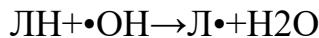
$\cdot OH$ – наиболее токсичный: атакует белки, ДНК, липиды без специфичности.

1.18.3. Перекисное окисление липидов (ПОЛ)

ПОЛ – цепной радикальный процесс окисления **полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК)** в мембранных фосфолипидах.

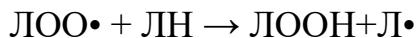
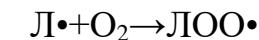
Этапы ПОЛ

Инициация:



(LN – липид с ПНЖК; $L \cdot$ – липидный радикал).

Развитие цепи:



($LOO \cdot$ – пероксильный радикал; $LOON$ – липидный гидропероксид).

Распад: $LOON \rightarrow$ реактивные альдегиды (малоновый диальдегид, 4-гидроксиноненаль) – токсичные вторичные продукты.

Последствия ПОЛ

Повышение **проницаемости мембран**,

Потеря **флюидности**,

Нарушение функции **мембранных белков**,

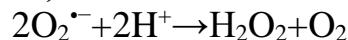
Клеточная гибель (ферроптоз – форма гибели, зависящая от ПОЛ).

1.18.4. Антиоксидантная система организма

Организм использует **ферментативные** и **неферментативные** антиоксиданты для нейтрализации РФК.

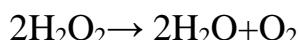
Ферментативные антиоксиданты

Супероксиддисмутаза (SOD):



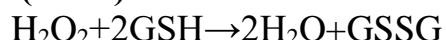
Цитозольная (Cu/Zn-SOD), митохондриальная (Mn-SOD).

Катализ:



(в пероксисомах).

Глутатионпероксидаза (ГПО):



(использует селен; восстанавливает и липидные гидропероксиды).

Глутатионредуктаза:



Неферментативные антиоксиданты

Глутатион (GSH) – главный внутриклеточный тиоловый антиоксидант.

Витамин Е (α-токоферол) – обрывает цепь ПОЛ в мембранах.

Витамин С (аскорбиновая кислота) – восстанавливает витамин Е, нейтрализует $\cdot\text{OH}$.

Уриковая кислота, билирубин – второстепенные антиоксиданты плазмы.

1.18.5. Оксидативный стресс и патология

Оксидативный стресс – состояние, при котором **продукция РФК** превышает **защитные возможности**.

Причины:

Ишемия/реперфузия,

Воспаление,

Ионизирующее излучение,

Токсины (CCl₄, парацетамол),

Недостаток антиоксидантов (дефицит Se, витаминов Е/С).

Заболевания, связанные с оксидативным стрессом:

Атеросклероз (окисление ЛПНП),

Нейродегенеративные болезни (Альцгеймер, Паркинсон),

Сахарный диабет,

Рак (повреждение ДНК),

Старение (теория «свободных радикалов»).

1.19. Химическая природа и функции гормонов. Механизмы действия гормонов

Гормоны – химические посредники, вырабатываемые **эндокринными железами** или специализированными клетками и выделяемые в кровь для регуляции физиологических функций **удалённых клеток-мишеней**. Они обеспечивают **гомеостаз**, рост, развитие, репродукцию и адаптацию к стрессу.

По химической природе гормоны делятся на три основные группы, каждая из которых использует **специфические механизмы действия**.

1.19.1. Классификация гормонов по химической природе

Пептидные и белковые гормоны

Структура: от дипептидов (тиролиберин) до крупных белков (инсулин – 51 а.о., гормон роста – 191 а.о.).

Гидрофильны, не проникают через мемрану.

Хранение: в секреторных гранулах.

Примеры:

Инсулин, глюкагон,

АДГ (вазопрессин), окситоцин,

ТТГ, АКТГ, гормоны гипоталамуса.

Производные аминокислот

Тиреоидные гормоны (тироксин Т4, трийодтиронин Т3): производные **тиrozина с йодированными кольцами**; **липофильны**.

Катехоламины (адреналин, норадреналин): также от тирозина, но **гидрофильны**.

Синтезируются в **щитовидной железе** (Т3/Т4) и **мозговом слое надпочечников** (адреналин).

Стероидные и стероидоподобные гормоны

Структура: на основе **холестерина** (4 цикла).

Липофильны, синтезируются *de novo* при стимуляции (не хранятся).

Примеры:

Глюко- и минералокортикоиды (кортизол, альдостерон),

Половые гормоны (тестостерон, эстрадиол, прогестерон),

Витамин D₃ (кальцитриол) – стероидоподобный.

1.19.2. Механизмы действия гормонов

Механизм зависит от **растворимости гормона**, что определяет локализацию рецептора.

Гормоны, действующие через внутриклеточные рецепторы (липофильные) (Стероиды, Т3/Т4, витамин D)

Проникают через плазматическую мемрану.

Связываются с рецепторами в цитозоле или ядре.

Гормон-рецепторный комплекс действует как **транскрипционный фактор**:

Связывается с **гормон-ответными элементами (HRE)** в ДНК,

Регулирует **транскрипцию специфических генов**.

Эффект: медленный (часы–дни), но длительный (синтез новых белков).

Пример: кортизол → индукция синтеза фосфоенолпируваткарбоксикиназы (глюконеогенез).

Гормоны, действующие через мембранные рецепторы (гидрофильные) (Пептиды, катехоламины)

Не проникают в клетку; связываются с **рецепторами на поверхности**.

Активируют **внутриклеточные сигнальные каскады** через **вторичные мессенджеры**.

Основные сигнальные системы:

1. Аденилатциклизная система (цАМФ)

Рецептор → **G_s-белок** → активация **аденилатциклизы** → синтез **цАМФ** из АТФ.

цАМФ активирует **протеинкиназу А (ПКА)** → фосфорилирование белков.

Примеры гормонов: глюкагон, адреналин (β -эффект), АКТГ.

Инактивация: фосфодиэстераза → расщепление цАМФ.

2. Фосфолипазная система (Ca²⁺/ДАГ)

Рецептор → **G_q-белок** → активация **фосфолипазы С (ФЛС)**.

ФЛС гидролизует **ФИП₂** → **инозитол-1,4,5-трифосфат (ИП₃)** + **диацилглицерол (ДАГ)**.

ИП₃ → открытие Ca²⁺-каналов в ЭПС → ↑ [Ca²⁺]_{tt},

ДАГ + Ca²⁺ → активация **протеинкиназы С (ПКС)**.

Примеры: вазопрессин, ангиотензин II, адреналин (α_1 -эффект).

3. Тирозинкиназные рецепторы

Рецепторы имеют **внутриклеточный домен с тирозинкиназной активностью** (или ассоциированы с таковыми).

Автофосфорилирование → рекрутинг белков (Grb2, SOS) → активация **Ras/MAPK** или **PI3K/Akt** путей.

Пример: инсулин, IGF-1, факторы роста (EGF).

1.19.3. Регуляция секреции гормонов

Обратная связь:

Отрицательная: продукт подавляет секрецию (например, кортизол → подавление АКТГ).

Положительная: редка (например, эстрадиол → пик ЛГ перед овуляцией).

Нервная регуляция:

Симпатическая система → адреналин,

Гипоталамус → нейрогормоны (рилизинг-гормоны).

Циркадные ритмы: кортизол (пик утром), мелатонин (ночью).

1.19.4. Взаимодействие гормонов

Синергизм: инсулин + кортизол – стимуляция синтеза белка в мышцах.

Антагонизм: инсулин (снижает гликемию) vs глюкагон (повышает).

Пермиссивность: кортизол усиливает действие глюкагона и катехоламинов.

1.19.5. Клиническое значение

Гипо-/гиперфункция: сахарный диабет (дефицит инсулина), болезнь Кушинга (избыток кортизола).

Резистентность к гормонам: инсулинерезистентность при метаболическом синдроме.

Опухоли эндокринных желез: феохромоцитома (адреналин), аденома гипофиза.

1.20. Взаимосвязь и регуляция метаболических процессов в организме

Метаболизм представляет собой **интегрированную сеть** катаболических и анаболических путей, динамически регулируемую в ответ на энергетические потребности, гормональные сигналы и изменения внешней среды. Эффективность жизнедеятельности организма зависит не от изолированной активности отдельных ферментов, а от **согласованной координации** обмена углеводов, липидов, аминокислот и нуклеотидов на уровне тканей и целого организма.

1.20.1. Основные принципы метаболической интеграции

Энергетический статус как центральный регулятор

АТФ/АДФ/АМФ – ключевые сигналы:

Высокий **АТФ/АДФ** → ингибирует катаболизм (гликолиз, ЦТК), активирует анаболизм.

Высокий **АМФ** → активирует катаболизм (гликолиз, β-окисление) через **АМР-активируемую протеинкиназу (АМРК)**.

NADH/NAD⁺ и **NADPH/NADP⁺** – регулируют окислительно-восстановительный баланс.

Разделение катаболизма и анаболизма

Пространственное разделение:

β-Окисление – в митохондриях, синтез ЖК – в цитозоле.

Глюконеогенез – в печени (и почках), гликолиз – во всех тканях.

Рекирокная регуляция:

Инсулин активирует гликогеногенез и ингибирует гликогенолиз.

Глюкагон/адреналин оказывают противоположный эффект.

Ключевые метаболические перекрёстки

Пируват: ворота в митохондрии → ацетил-КоА или оксалоацетат.

Ацетил-КоА: точка схождения глюкозы, ЖК и кетоновых тел.

Оксалоацетат: связывает ЦТК с глюконеогенезом.

Цитрат: сигнал избытка энергии → ингибирует гликолиз, активирует синтез ЖК.

1.20.2. Метаболическая специализация тканей

Печень – центральный регулятор гомеостаза

Постпрандиальный период:

Утилизация глюкозы → гликоген, жирные кислоты,

Синтез липопротеинов (ЛПОНП).

Постабсорбтивный период и голодание:

Гликогенолиз → поддержание гликемии,

Глюконеогенез (из лактата, глицерола, аминокислот),

Кетогенез → снабжение мозга и мышц кетоновыми телами.

Мышечная ткань

Покой: использует ЖК и кетоновые тела.

Интенсивная работа:

Гликолиз → АТФ и лактат,

Лактат → в печень (цикл Кори → глюконеогенез).

Не способна к глюконеогенезу (нет глюкозо-6-фосфатазы).

Жировая ткань (адипоциты)

Постпрандиально:

Захват глюкозы (инсулин-зависимо) → синтез ТАГ,

Запасание энергии.

При голодании:

Липолиз → ЖК и глицерол → печень и мышцы.

Мозг

Основной субстрат – **глюкоза** (120 г/сутки).

При длительном голодании – **кетоновые тела** (до 70% энергии).

Не использует ЖК (не проникают через ГЭБ).

Эритроциты

Зависят исключительно от **анаэробного гликолиза** (нет митохондрий).

Генерируют 2,3-бисфосфоглицерат (2,3-БФГ) → регуляция сродства гемоглобина к O_2 .

1.20.3. Гормональная регуляция метаболизма

Инсулин («гормон сытости»)

Секреция: β -клетки поджелудочной железы при высокой гликемии.

Эффекты:

↑ Гликолиз, гликогеногенез, синтез ЖК и белка,

↓ Глюконеогенез, гликогенолиз, липолиз, кетогенез.

Механизм: активация тирозинкиназного рецептора → PI3K/Akt и Ras/MAPK пути.

Глюкагон («гормон голодания»)

Секреция: α -клетки поджелудочной железы при низкой гликемии.

Эффекты (в печени):

↑ Гликогенолиз, глюконеогенез, кетогенез,

↓ Гликолиз, синтез ЖК.

Механизм: GPCR → цАМФ → ПКА.

Катехоламины (адреналин, норадреналин)

Секреция: мозговой слой надпочечников при стрессе.

Эффекты:

В мышцах: ↑ гликолиз,

В печени: ↑ гликогенолиз,

В жировой ткани: ↑ липолиз.

Глюкокортикоиды (кортизол)

Секреция: кора надпочечников (по оси ГГН).

Эффекты:

↑ Глюконеогенез, протеолиз, липолиз,

Пермиссивное действие на катехоламины и глюкагон.

Гормоны действуют **синергически или антагонистически**, обеспечивая тонкую настройку метаболических потоков.

1.20.4. Метаболические состояния организма

Постпрандиальное состояние («поглощение»)

Доминирует **инсулин**.

Энергия запасается: гликоген (печень, мышцы), ТАГ (жировая ткань).

Аминокислоты → синтез белка.

Постабсорбтивное состояние (6–24 ч после еды)

↓ Инсулин, ↑ глюкагон.

Гликогенолиз → поддержание гликемии.

Начало мобилизации жиров.

Длительное голодание (>24 ч)

Глюконеогенез (печень, почки) – основной источник глюкозы.

Кетогенез – ключевой адаптивный механизм для мозга.

Консервация белка: мышцы используют ЖК и кетоны, снижая распад аминокислот.

Стресс (травма, инфекция)

Гиперкатаболизм: ↑ кортизол, катехоламины → распад белков и жиров, гипергликемия («диабет стресса»).

1.20.5. Нарушения метаболической интеграции

Сахарный диабет 1 типа: дефицит инсулина → неконтролируемый гликогенолиз, глюконеогенез, липолиз, кетогенез → кетоацидоз.

Сахарный диабет 2 типа: инсулинерезистентность → гипергликемия, дислипидемия.

Гликогенозы: дефекты ферментов гликогенолиза/синтеза → гипогликемия, гепатомегалия.

Липодистрофии: нарушение хранения липидов → инсулинерезистентность.

2. ПРАКТИЧЕСКИЙ РАЗДЕЛ

2.1. Структура и свойства белков и пептидов

1. Напишите формулу гексапептида, содержащего 2 аминокислотных остатка с гидрофобными радикалами, 2 - с гидрофильными незаряженными радикалами, по одному - с катионным и анионным радикалами.

2. Определите суммарный заряд пентапептида глу-арг-лиз-вал-асп в нейтральной среде. Как изменится суммарный заряд этого пептида: (начало – N-конец) а) при $\text{pH} \ll 7$; б) при $\text{pH} \gg 7$?

3. Напишите формулу трипептида глутатиона, который имеет состав: глутамат-цистин-гли с учетом того, что пептидная связь между глутаматом и цистином образована за счет карбоксильной группы радикала глутамата. Определите суммарный заряд этого пептида: а) при $\text{pH} 7$; б) при $\text{pH} \ll 7$; в) при $\text{pH} \gg 7$.

4. Напишите формулы двух пентапептидов и сравните их растворимость при $\text{pH} 7$: а) сер-цистин-глу-тир-асп; б) вал-арг-мет-фен-тир.

5. Белковая глобула содержит фрагмент -цистин-аланин-глутамин-аспартат-лейцин-фенилаланин-метионин-триптофан-глутамин-аргинин-. Укажите водородные связи, стабилизирующие вторичную структуру; назовите типы связей, стабилизирующих третичную структуру молекулы, между радикалами каких аминокислот они образуются?

6. Имеется смесь трёх белков, характеристики которых приведены в таблице 4.

Таблица 4 – Свойства белков.

Белок	Молекулярная масса, кДа	Изоэлектрическая точка (pI)	Мономер или димер
Б1	27	5,2	мономер
Б2	33	8,6	мономер
Б3	40	7,3	Гомодимер, состоящий из двух одинаковых молекул, соединенных дисульфидными связями

Для каждого утверждения отметьте, верно оно или нет.

•Можно предположить, что отношение суммарного количества остатков лизина, аргинина и гистидина к суммарному количеству остатков глутаминовой и аспарагиновой кислот в белке Б1 ниже, чем в белке Б2.

•Белок Б2 можно выделить из данной смеси методом ионообменной хроматографии, используя подвижную фазу с $\text{pH} = 6,5$ и неподвижную фазу с основными группами на поверхности.

•Если данную смесь растворить в буфере, содержащем додецилсульфат натрия и меркаптоэтанол, и разделить путем электрофореза в полиакриламидном геле, также содержащем эти вещества, то самая дальняя от старта полоса на геле будет соответствовать белку Б1.

•Если нанести эту смесь на хроматографическую колонку, заполненную гранулами для гель-фильтрации с порами такого диаметра, что в них не могут проходить молекулы, масса которых превышает 35 кДа, то первыми сквозь колонку пройдут молекулы белка Б3.

7. Белки, осуществляющие транспорт молекул или ионов через мембрану, часто классифицируются как трансмембранные белки. Такие белки имеют в своей структуре область, заключенную в липидном бислой мембраны, и области, обращенные внутрь клетки (в цитоплазму) и во внеклеточное пространство. Исходя из классификации аминокислот по полярности боковой цепи, предположите, какие аминокислоты должны преобладать в различных участках данного трансмембранного протеина.

8. Гистоны - это белки, содержащиеся в ядрах эукариотических клеток. Они прочно связаны с дезоксирибонуклеиновой кислотой, которая содержит много фосфатных групп. Изоэлектрическая точка гистонов очень высока - около 10,8. Какие аминокислотные остатки должны присутствовать в гистонах в относительно больших количествах? Каким образом эти остатки обеспечивают прочное связывание гистонов с ДНК?

9. Гликофорин – небольшой трансмембранный гликопротеин эритроцитов. Функция этого белка состоит в поддержании цитоскелета эритроцитов. Гидрофильный С-концевой участок этой молекулы погружен в цитоплазму, а гидрофобный альфа-спиральный участок пронизывает неполярную область бислоя.

Оцените толщину плазматической мембранны эритроцита, исходя из длины гидрофобной области гликофорина.

- 1) масса гликофорина 16000 Да, средняя масса аминокислоты – 125 Да.
- 2) на 1 виток α -спирали приходится в среднем 3,6 аминокислоты, длина витка спирали – 0,54 нм.
- 3) гидрофобная часть гликофорина составляет 16% от всей длины вытянутой цепи белка и изгибов не имеет.
- 4) допустим, что гидрофобная фаза липидов составляет половину от общей толщины мембранны.

10. Пентапептид, образующийся при обработке белка трипсином, содержит аргинин, аспартат, лейцин, серин, тирозин.

Для определения аминокислотной последовательности провели три последовательных расщепления по Эдману.

Полученные после каждого расщепления пептиды имели следующий состав:

- Первое расщепление - аргинин, аспартат, лейцин, серин;
- Второе расщепление - аргинин, аспартат, серин;
- Третье расщепление - аргинин, серин.

Какова последовательность пентапептида?

11. В гидролизате пептида найдены аланин, валин, глутамат, фенилаланин, тирозин, глицин, лизин, лейцин, метионин и NH₃. При обработке пептида динитрофторбензолом выявлен ДНФ-аланин, карбоксипептидазой – глицин. В триптическом гидролизате обнаружено два пептида:

первый состоит из Val, Ala, Glu, Lys, Phe;
второй – из Met, Gly, Leu, Тyg, а при обработке динитрофторбензолом дает ДНФ-лейцин.

В химотриптическом гидролизате найдено три пептида:
первый содержит метионин и глицин; второй – Val, Ala, Phe, Glu; третий - Leu, Тyg, Lys.

Выполните на основании всей совокупности данных первичную структуру исходного пептида.

12. Пептид А, в состав которого входят лизин, гистидин, аспартат, 2 молекулы глутамата, аланин,

пролин, валин, тирозин и две молекулы амиака, дает в результате реакции с динитрофторбензолом ДНФ-Asp, а при обработке карбоксипептидазой – свободный Val.

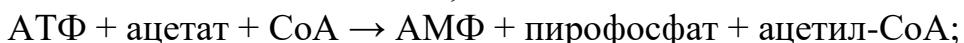
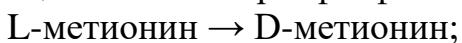
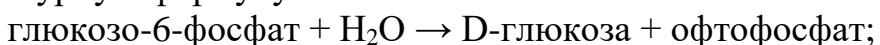
При расщеплении пептида А трипсином получаются два пептида.

Первый (Lys, Asp, Glu, Ala, Тyg) нейтрален при pH 5.5, а другой (His, Glu, Pro, Val) дает ДНФ-His и при pH 5.5 несет положительный заряд. В результате действия химотрипсина из пептида А получаются два пептида. Первый (Asp, Ala, Тyg) при pH 5.5 нейтрален, а другой (Lys, His, 2 Glu, Pro, Val) – положительно заряжен. Укажите структуру пептида А.

2.2. Структура и механизм действия ферментов. Классификация ферментов

1. При синтезе ацетил-СоА из ацетата и кофермента А карбоксильный атом кислорода ацетата, меченный ^{18}O , обнаруживается в фосфатной группе адениловой кислоты. Назовите фермент. Предложите механизм действия.

2. Напишите полностью реакцию, укажите систематические и тривиальные названия фермента, катализирующего реакцию, по систематике IUB. Если в реакции принимает участие кофермент, укажите какой и напишите его структурную формулу:



3. Напишите полностью реакцию, катализируемую ферментом:

L-лактат : NAD-оксидоредуктаза;

АТР-пирофосфат-лиаза (циклирующая);

L-аланин : тРНКAla лигаза (образующая AMP);

UDP-глюкоза : D-фруктозо-6-фосфат 2-а-глюкозилтрансфераза.

4. Пирофосфатаза *E. coli*, катализирующая гидролиз пирофосфата до ортофосфата, имеет молекулярную массу 120 кДа и состоит из шести идентичных субединиц.

V_{max} очищенной пирофосфатазы составляет 2800 ед. акт. на 1 мг белка. За единицу активности данного фермента принято количество фермента,

гидролизующее 10 мкмоль пирофосфата за 15 мин при 37С в стандартных условиях определения. Рассчитайте:

а) сколько молей субстрата в секунду гидролизует 1 мг фермента, если концентрация субстрата значительно выше Км?

б) сколько молей активных центров фермента содержится в 1 мг фермента? Примем, что в каждой единице имеется по одному активному центру.

в) каково число оборотов данного фермента?

5. Определите значение Км гидролиза метилового эфира N-ацетил-L-валина, катализируемого α -химотрипсином, исходя из данных таблицы 5.

Условия реакции: $[E_0] = 3.85 \times 10^{-5}$ моль/л, $pH = 7.8$, $25^\circ C$, 0.1 М KCl

Таблица 5 – Зависимость скорость реакции от концентрации лиганда.

$[S_0]$, М	$V_0 \times 10^6$, М \times с ⁻¹
0,2	4,57
0,124	3,83
0,091	3,32
0,071	2,95
0,06	2,7

6. Пенициллин гидролизуется пенициллиназой – ферментом, имеющимся у ряда резистентных бактерий. Молекулярная масса пенициллиназы из *Staphylococcus aureus* составляет 29,6 кДа. Измеряли количество пенициллина, гидролизуемого в 12 л раствора в течение 1 мин в присутствии 10-9 г очищенного фермента как функцию концентрации субстрата. Примем, что в ходе определения концентрация пенициллина практически не менялась (таблица 6).

Таблица 6 – Зависимость количества гидролизованного пенициллина от концентрации пенициллина.

Концентрация пенициллина, М $\times 10^5$	Количество гидролизованного пенициллина, моль $\times 10^9$
0,1	0,11
0,3	0,25
0,5	0,34
1,0	0,45
3,0	0,58
5,0	0,61

Постройте по этим данным график в координатах $1/V$ от $1/[S]$. Подчиняется ли пенициллиназа кинетике Михаэлиса-Ментен? Если да, то чему равна величина Км? Чему равна V_{max} ? Каково число оборотов пенициллиназы в этих экспериментальных условиях? Примем, что на одну молекулу фермента приходится один активный центр.

7. Салицилат ингибитирует катализитическое действие глутаматдегидрогеназы. Определите путем графического анализа приведенных ниже данных (таблица 7), является ли ингибирование конкурентным или неконкурентным. Предполагается, что концентрация салицилата составляет 40 мМ и поддерживается на постоянном уровне. Вычислите также величину K_m для.

Таблица 7 – Зависимость скорости катализитической реакции от концентрации глутамата.

Концентрация глутамата, мМ	1,5	2,0	3,0	4,0	8,0	16,0
Скорость образования продукта в отсутствие салицилата, мг/мин	0,21	0,25	0,28	0,33	0,44	0,43
Скорость образования продукта в присутствии салицилата, мг/мин	0,08	0,10	0,12	0,13	0,16	0,18

8. Фенилаланин ингибитирует щелочную фосфатазу. Определите тип ингибирования и константу Михаэлиса k_i из приведенных далее данных (таблица 8).

Таблица 8 – Зависимость скорости образования продукта от концентрации субстрата.

Концентрация субстрата, мМ		5	10	25	50	100
Скорость образования продукта в отсутствии фенилаланина, мкмоль/мин·мл		3	5	8	10	12,5
Скорость образования продукта в присутствии фенилаланина, мкмоль/мин·мл	5 мМ	2,5	3,7	5,0	6,0	6,7
	10 мМ	1,8	2,3	2,9	3,1	3,2

Объясните механизм необратимого ингибирования

2.3. Метаболизмы аминокислот

1. В печени происходит окислительное превращение глутаминовой кислоты, меченной ^{14}C по второму атому углерода и ^{15}N по аминогруппе. В каких атомах следующих метаболитов обнаружится каждая из меток (ответ подтвердите уравнениями реакций; назовите ферменты, катализирующие эти процессы):

- a) мочевина;
- b) сукцинат;
- c) аргинин;
- d) цитруллин;
- e) орнитин;
- f) аспартат.

2. Рассчитайте, сколько ммоль пирувата и глутамата образуется при переаминировании 5 ммоль аланина, если в данном процессе может участвовать 3 ммоль α -кетоглутарата? Напишите уравнение реакции и дайте название фермента.

3. У пациента концентрация аммиака в крови составляет 120 мкмоль/л (норма до 50 мкмоль/л). Если синтез мочевины происходит со скоростью 30 мкмоль/л в час, сколько времени потребуется для снижения концентрации аммиака до нормы (при условии отсутствия нового поступления аммиака)?

4. Для изучения обмена аминокислот лабораторным мышам ввели аланин, содержащий меченный атом азота (N^{15}) в α -аминогруппе. Проведенные анализы показали, что метка быстро появляется в α -аминогруппах других аминокислот печени (кроме лизина и треонина).

Объясните, в ходе каких реакций это происходит. Для ответа: а) напишите реакцию превращения Ала, которая наиболее активно происходит в печени, назовите фермент, кофермент; б) составьте схему переноса меченого атома азота из Ала в другие аминокислоты; г) предположите, в каких ещё веществах может присутствовать меченный атом азота; д) объясните, почему меченный атом отсутствует в лизине и треонине.

5. У больного с характерными признаками токсического отравления центральной нервной системы (рвота, головокружение, недомогание, потеря сознания) выявлено в моче до 3 г в сутки аргининосукцинат (в норме он отсутствует). Укажите возможную причину этого заболевания. Для этого:

- а) Напишите схему орнитинового цикла.
- б) На схеме укажите место ферментного блока.
- в) Перечислите вещества, содержание которых повышенено в крови у данного больного.

6. У грудных детей, находящихся на искусственном вскармливании, могут появиться поражения нервной системы, связанные с дефицитом витамина В6. Каковы биохимические механизмы развития данной патологии? Для ответа: а) объясните роль этого витамина в обмене нейромедиаторов и аминокислот; б) перечислите основные нейромедиаторы и аминокислоты - их предшественники; в) приведите примеры реакций образования известных вам биогенных аминов.

2.4. Нуклеиновые кислоты. Матричные синтезы

1. Рассчитайте коэффициент молярной экстинкции аденина, если раствор, содержащий 250 мкг аденина в 100 мл 0,1 М раствора NaOH, имеет оптическую плотность 0,229 при длине волны 262 нм. Ширина кюветы – 1 см, молекулярная масса аденина – 135.

2. Какова сумма адениловых и тимидиловых нуклеотидов во фрагменте молекулы ДНК, если в нем обнаружено 930 цитидиловых нуклеотидов, составляющих 20% от общего количества нуклеотидов в этом фрагменте?

3. Участок одной из цепей ДНК имеет нуклеотидную последовательность: 5'-ТГАТТЦАГААГЦАТАЦТ-3'. Определите максимально возможное количество водородных связей, удерживающих данный участок с комплементарным.

4. Зависимость температура плавления ДНК от содержания Г-Ц имеет вид: $T_{пл} = 69,3 + 0,41A$, где А - содержание Г-Ц пар (%). Рассчитайте температуру плавления образцов ДНК в стандартных солевых растворах, содержание Г-Ц пар в которых соответственно равно: а) 24,6; б) 32,2; в) 44,1; г) 53,0; д) 58,2.

5. Температура плавления ДНК линейно зависит от содержания Г-Ц пар в ее составе, и эта зависимость имеет вид: $T_{пл} = 69,3 + 0,41A$, где А - содержание Г-Ц пар (%). Рассчитайте содержание Г+Ц и А+Т пар в ДНК из проростков пшеницы в процентах, если $T_{пл}$ ДНК равна 90⁰С.

6. Определите длину (в нм) участка ДНК, находящегося в *B*-форме, несущего информацию о белке, если известно, что в состав экзона (кодирующей части) входит 35% пар нуклеотидов, а участок белковой молекулы, представленный α -спиралью, имеет длину 108 нм. В состав α -спирали входит 60% от всех аминокислотных остатков.

7. α -спиральный участка белка составляет 135 нм. Данная структура образована 65% аминокислотных остатков белковой молекулы. Определите количество пар нуклеотидов в гене, если известно, что в состав инtronов входит 45% пар нуклеотидов. Определите длину гена (в нм) при условии, что данный участок ДНК находился бы в *A*-форме.

8. Во фрагменте ДНК произошла делеция (выпадение) трех нуклеотидов ГТГ перед термирующим кодоном. Запишите первоначальную последовательность этого фрагмента ДНК, если после мутации образовалась мРНК с фрагментом ГГГЦУУУГА.

9. Во фрагменте мРНК УУГГАУЦЦГЦАУЦГА произошло выпадение (делеция) пятого нуклеотида от 5'-конца. Сравните пептиды, которые образуются до и после мутации. Объясните наблюдаемую разницу состава.

10. Сколько молекул макроэргических нуклеозидтрифофатов NTP затрачивается на синтез белка из 200 аминокислотных остатков (без учета синтеза аминокислот и посттрансляционной модификации)? (Ответ: 600 молекул макроэргических нуклеозидтрифосфатов (200 молекул АТФ +400 молекул ГТФ)).

11. Если полирибонуклеотид содержит случайно расположенные нуклеотиды урацил (U) и цитозин (C) в соотношении 1 : 5, какие аминокислоты и в каком соотношении буду находиться в синтезируемом с этого полирибонуклеотида полипептиде? Для ответа на этот вопрос воспользуйтесь таблицей генетического кода.

2.5. Метаболизм углеводов и ЦТК

1. Сколько моль АТФ (с учетом процессов окислительного фосфорилирования) может образоваться при полном аэробном окислении 360 мг глюкозы.

2. Рассчитать энергетический эффект (в молекулах АТФ):

- 1) анаэробного распада 5 молекул глюкозы в процессе гликолиза,
- 2) окислительного декарбоксилирования 10 молекул пировиноградной кислоты,
- 3) окисления 3 молекул ацетил-КоА в цикле Кребса, 4) полного аэробного окисления 2 молекул глюкозы.

3. В эксперименте *in vitro* к 2 мл гомогената печени, содержащем все ферменты цикла трикарбоновых кислот и электрон-транспортной цепи митохондрий добавили 2 мкмоль ацетил-КоА. Какое количество АТФ может образоваться (теоретически возможный максимальный выход), если известно, что концентрация оксалоацетата в исследуемом гомогенате составляет 1 мкмоль/л.

4. Сколько молекул макроэргических нуклеозидтрифосфатов NTP (с учетом процессов окислительного фосфорилирования) может образоваться при окислении 10 молекул ацетил-КоА в цикле Кребса, если 20% образующегося α -кетоглутарата вступает в процессы переаминирования и выводится из цикла.

5. Сколько моль макроэргических нуклеозидтрифосфатов NTP (с учетом процессов окислительного фосфорилирования) может образоваться при окислении пировиноградной кислоты, образующейся при переаминировании 0,2 ммоль аланина с α -кетоглутаровой кислотой?

6. Сколько моль глюкозы должны окислиться до ацетил-КоА, из которого могут быть синтезированы 2 ммоль пальмитиновой кислоты?

7. Сколько моль макроэргических нуклеозидтрифосфатов NTP (суммарно АТФ и ГТФ) необходимо для синтеза 18 мг глюкозы из лактата?

8. На рисунке 1 показана концентрация лактата в крови до бега на 400 м и после него.

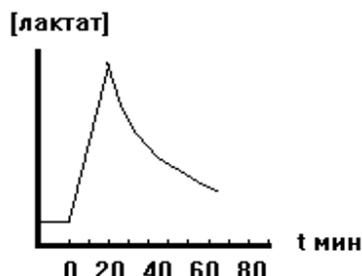


Рисунок 1 – Уровень лактата в крови при физической нагрузке.

Чем вызвано быстрое повышение концентрации лактата?

Что является причиной снижения уровня лактата после бега? Подтвердите объяснение схемой.

9. Добавление адреналина к гомогенату или препарату разрушенных клеток здоровой печени приводило к увеличению активности гликогенфосфорилазы. Однако, если гомогенат предварительно центрифугировали при высокой скорости и затем к прозрачной надосадочной жидкости добавляли адреналин или

глюкагон, то увеличения фосфорилазной активности не наблюдалось. Объясните полученные результаты.

10. К 2 мл гомогената печени, содержащем все ферменты цикла трикарбоновых кислот и электрон-транспортной цепи митохондрий добавили 2 мкмоль ацетил-КоА. Сколько моль АТФ может образоваться (теоретически возможный максимальный выход), если содержание оксалоацетата в исследуемом гомогенате составляет 1 мкмоль.

2.6. Метаболизм углеводов. Цикл трикарбоновых кислот

1. Радиоактивную глюкозу, меченную углеродом ^{14}C в положении 3, инкубировали в анаэробных условиях в бесклеточном гомогенате печени. В каких положениях будет содержать ^{14}C образовавшийся лактат?

2. Напишите суммарное уравнение превращения 3- ^{14}C -фруктозо-6-фосфата в пируват в клетках печени. Какие углеродные атомы продукта будут меченными?

3. Как выбрать из двух возможных путей окисления глюкозы, если имеются меченные по С-1 и по С-6 соединения?

4. Для синтеза глюкозы в печени необходим фосфоенолпируват. Однако его образование в печени окажется неэффективным, если фосфоенолпируват будет дефосфорилироваться под действием пируваткиназы с образованием пирувата. Как избежать этого холостого цикла? Почему этот механизм не подходит для мышц?

5. Какова судьба метки, если в цикле трикарбоновых кислот подвергаются превращениям следующие соединения, меченные углеродом ^{14}C :

- а) 1- ^{14}C -пируват;
- б) 2- ^{14}C -пируват;
- в) 3- ^{14}C -пируват;
- г) 1- ^{14}C -ацетилСоА;
- д) глюкозо-6-фосфат, меченный по С-1?

Из каких субстратов после одного цикла будет образовываться $^{14}\text{CO}_2$?

6. При изучении тканевого дыхания мышц *in vitro*, исследователи использовали в качестве субстрата окисления сукцинат. Дополнительное добавление в эту среду малоновой кислоты прекращало поглощение кислорода и в среде накапливался промежуточный метаболит цикла Кребса. Ответьте на вопросы:

- а) какова причина остановки дыхания?
- б) возможно ли снять вызванное малонатом ингибирирование?
- в) если да, то каким образом?

2.7. Метаболизм липидов

1. Сколько молекул АТФ образуется (с учетом полного окисления метаболитов в цикле Кребса) при совместном β -окислении лауриновой (C_{12}) и олеиновой ($\text{C}_{18} \Delta^9$)?

2. Сколько моль НАДФН необходимо для синтеза пальмитиновой кислоты?

3. Сколько молекул ацетил-КоА необходимо для синтеза пальмитолеиновой кислоты?

4. Если предельная *n*-нонановая кислота $C_8H_{17}COO^-$, содержащая ^{14}C -метку в положении 7, окисляется в условиях функционирования цикла трикарбоновых кислот, то какие из атомов углерода следующих промежуточных продуктов окажутся меченными:

- а) янтарной кислоты;
- б) щавеливо-уксусной кислоты;
- в) α -кетоглутаровой кислоты?

5. Двуокись углерода - обязательный участник биосинтеза жирных кислот. Объясните, в чем заключается специфическая роль CO_2 ? Будет ли пальмитиновая кислота, образованная при инкубации растворимой фракции с $^{14}CO_2$ и другими компонентами, необходимыми для биосинтеза жирных кислот, содержать ^{14}C ? Докажите.

6. Линетол – препарат, получаемый из льняного масла, содержит смесь этиловых эфиров, ненасыщенных жирных кислот: олеиновой (15%), линолевой (15%) и линоленовой (57%), применяют внутрь для профилактики и лечения атеросклероза и наружно при ожогах и лучевых поражениях кожи. Применение линетола при атеросклерозе основано на данных о благоприятном влиянии ненасыщенных жирных кислот на обмен липидов и белков.

$CH_3(CH_2)_7CH=CH(CH_2)_7COOH$	олеиновая
$CH_3(CH_2)_3-(CH_2CH=CH)_2(CH_2)_7COOH$	линолевая
$CH_3(CH_2CH=CH)_3(CH_2)_7COOH$	линоленовая
$CH_3(CH_2)_4(CH=CHCH_2)_4(CH_2)_2COOH$	арахидоновая

7. Экспериментально показано, что питание животных жирами, содержащими большое количество насыщенных жирных кислот, приводит к появлению гиперхолистеринемии; применение же с пищей растительных масел, содержащих большое количество ненасыщенных жирных кислот, способствует снижению холистерина в крови. Этиловые эфиры кислот льняного масла в виде препарата линетола оказывают такое же действие, как кислоты, но имеют лучшие огранолептические свойства и лучше переносятся при длительном применении. Изобразите схему биохимических процессов, в которых принимают участие компоненты линетола (с указанием всех механизмов и названий ферментов). Подсчитайте, какое количество АТФ будет синтезироваться при употреблении 1 моль линетола.

8. В эксперименте использовали препарат, содержащий все ферменты и кофакторы, необходимые для синтеза жирной кислоты из ацетил-КоА и малонил-КоА. Поставлены два варианта экспериментов. Сколько атомов дейтерия (тяжелого изотопа водорода) включится в молекулу пальмитиновой кислоты, если: а) в качестве субстратов использовали меченный дейтерием ацетил-КоА ($CD_3CO-S-KoA$) и избыток немеченого малонил-КоА. В каких положениях будет находиться метка? б) в качестве субстратов использовать немеченный ацетил-КоА и меченный дейтерием малонил-КоА ($HOOC-CD_2-CO-S-KoA$). В каких положениях будет находиться метка? Напишите уравнения реакций.

2.8. Взаимосвязь метаболизма. Биоэнергетика.

1. После 24 часов гидролиза запасы гликогена в печени истощаются, но в организме имеются большие запасы жиров. Зачем при голодании протекает процесс глюконеогенеза, если в организме есть практически безграничные запасы ацетил-СоА (из жирных кислот), которых вполне хватает для производства энергии?

2. Сколько молекул АТФ образуется при полном окислении до CO_2 и H_2O следующих соединений (считайте при этом, что речь идет о клетках печени, почек или сердца):

- а) фосфоенолпируват;
- б) ацетил-СоА;
- в) дигидроксиацитонфосфата;
- г) глицерина;
- д) пирувата;
- е) NADH;
- ж) фруктозо-1,6-дифосфата;
- з) глюкозы?

3. Немедленное введение нитрита оказывает очень эффективное лечебное действие при отравлении цианидом. Какова основа действия этого антидота? (Подсказка: нитрит окисляет феррогемоглобин в ферригемоглобин).

4. При выделении митохондрий и использовании их для изучения скорости окислительного фосфорилирования к буферной системе, содержащей окисляемый субстрат, АДФ и H_3PO_4 , обычно добавляют небольшое количество чистого цитохрома С, выделенного из любого источника.

5. Почему необходимо добавлять цитохром с и почему его не обязательно выделять из того же источника, что и митохондрии?

6. При добавлении к суспензии митохондрий изоцитрата скорость поглощения кислорода увеличивается. При добавлении малоната количество потребляемого кислорода снижается. Почему прекращается поглощение O_2 ? Объясните результаты эксперимента, для чего напишите реакции и ответьте на вопросы:

- а) какой промежуточный продукт накапливается и почему?
- б) каким образом можно восстановить скорость дыхания?

7. В инкубационную среду с изолированными митохондриями добавляли АДФ. Как это влияет на скорость поглощения кислорода митохондриями? Объясните, как влияет повышение концентрации АДФ на скорость этих процессов?

8. В митохондрии окисляется 30 молекул НАДН. Теоретический выход: Р/О=2.5 Доступно только 50 молекул АДФ. Скорость синтеза АТФ описывается отношением $\text{АДФ}/(\text{АДФ}+\text{K}_m)$, где $\text{K}_m = 10$ молекул (условная единица).

Найдите максимально возможный выход АТФ при данном ограничении.

Что происходит с электронами и потреблением O_2 при низком содержании АДФ?

3. РАЗДЕЛ КОНТРОЛЯ ЗНАНИЙ

3.1. Вопросы к зачету

1. Структурные типы биогенных аминокислот: аминокарбоксикислоты (α -аминокислоты, D- и L-изомеры; β -аланин, γ аминомасляная кислота) и другие (аминосульфокислота таурин, пара-аминобензойная кислота). Их номенклатура (одно- и трех-буквенные сокращенные обозначения). Классификация по физико-химическим свойствам (гидрофобность, суммарный заряд, химическая природа боковых радикалов).
2. Биологические функции аминокислот (структурные компоненты пептидов и белков, структурные компоненты природных соединений непептидной природы (кофермент А, фосфотидилсерин), сигнальные молекулы или их предшественники, источники углерода и азота для биосинтеза различных соединений). Протеиногенные и непротеиногенные аминокислоты. Незаменимые и заменимые для млекопитающих аминокислоты.
3. Примеры превращения аминокислот в организме млекопитающих.
4. Качественные реакции на аминокислоты.
5. Методы количественного определения аминокислот. Основные методы разделения аминокислот: высоковольтный электрофорез, хроматография (бумажная, тонкослойная, ионообменная, ГХ-МС с дериватизацией).
6. Общая структура пептидов и белков. Критерии отличия пептидов от белков (молекулярная масса < 10 кДа или число аминокислотных остатков в цепи < 50). Пептидная (амидная) связь и ее мезомерия (резонансная стабилизация).
7. Биологические функции пептидов: пептидные гормоны (вазопрессин, окситоцин, ангиотензины), нейропептиды, энкефалины, эндорфины.
8. Примеры использование пептидов в качестве лекарственных препаратов.
9. Белки. Четыре уровня организации структур белков.
10. Установления первичной структуры белка.
11. Вторичная структура белка. Альфа-спираль и бета-слои, петли. Устойчивые сочетания типов вторичной структуры (супервторичная структура белков): β -бочонок (β -барабан), « α -спираль - β -поворот - α -спираль», «цинковые пальцы», «лейциновая молния».
12. Третичная структура белка.
13. Четвертичная структура. Примеры белков с четвертичной структурой.
14. Сложные белки. Простетическая группа. Общая характеристика основных классов сложных белков. Гликопротеины и протеогликаны. Липопротеины. Нуклеопротеины. Металлопротеины. Селенопротеины.
15. Денатурация белков: определение, механизмы. Обратимая и необратимая денатурация. Физические и химические денатурирующие факторы. Ренатурация и ренативация.
16. Гидролитические и негидролитические модификации белков и пептидов.
17. Методы выделения и очистки белков. Общая схема выделения белков из клеток и тканей. Гомогенизация. Хроматография. Электрофорез. Диализ.

Седиментационные методы. Ультрафильтрация. Аффинные методы. Иммунохимические подходы к выделению и анализу белков.

18. Определение аминокислотного состава пептидов и последовательности аминокислот в пептидах (химическое секвенирование и масс-спектрометрия).

19. Компьютерные алгоритмы сравнения первичных структур пептидов и белков.

20. Методы изучения пространственного строения белков: рентгеноструктурный анализ, нейтронная дифракция, многомерная ЯМР-спектроскопия.

21. Ферменты (энзимы) как катализаторы белковой природы. Особенности действия ферментов: высокая эффективность, специфичность, мягкие условия протекания реакции, способность к регуляции. Количественное определение ферментативной активности (по убыли субстрата и по нарастанию продукта), способы её выражения.

22. Международная классификация ферментов (КФ). Общая характеристика основных классов ферментов: оксидоредуктазы, трансферазы, гидrolазы, лиазы, изомеразы, лигазы (синтазы). Систематическое и тривиальное название фермента. Изоферменты.

23. Основные понятия ферментативного катализа. Общий механизм ферментативного катализа. Многостадийность ферментативной реакции и последовательные этапы катализа: Фермент-субстратный комплекс. Модели взаимодействия субстрата с ферментом: «ключ-замок» и «индукционного соответствия». Активный центр фермента, его субстрат-связывающий и катализический участки, образование на уровне третичной или четвертичной структуры.

24. Влияние концентрации фермента, концентрации субстрата, pH и температуры среды на скорость ферментативной реакции. Модель ферментативного катализа Михаэлиса - Ментен. Максимальная скорость ферментативной реакции (V_{max}) и константа Михаэлиса (K_m). Способы их определения: графический (гиперболический график, метод Лайниувера - Берка, метод Иди-Хофстри). Сигмоидная кинетическая кривая, модель Хилла.

25. Примеры механизмов катализа реакций ферментами, функционирующими с участием кофакторов. Примеры механизмов катализа ферментами

26. Примеры ферментов, используемых в качестве лекарственных препаратов, заместительная терапия.

27. Ингибиторы ферментов. Обратимые и необратимые ингибиторы. Типы обратимого ингибирования. Кинетика ингибирования, понятие о кажущейся константе ингибирования. Конкурентное ингибирование: аналоги субстрата, аналоги переходного состояния. Неконкурентное ингибирование. Бесконкурентное ингибирование. Кинетики ингибирования. Понятие о кажущейся константе Михаэлиса. Типы необратимого ингибирования. Модифицирующие реагенты и суицидные субстраты.

28. Азотистые основания, нуклеозиды и нуклеотиды: строение, принципы классификации, номенклатура, биологическая роль. Биосинтез пуриновых и

пириимидиновых азотистых оснований. Путь повторного биосинтеза оснований из катаболитов («путь спасения»).

29. ДНК, ее локализация в клетке и биологическая функция. Первичная структура ДНК. Вторичная структура ДНК. Антипаралельность. Суперспирализация. Денатурация и ренативация ДНК.

30. Белки-факторы транскрипции, «лейциновые молнии» и «цинковые пальцы».

31. Гистоны. Роль гистонов в формировании нуклеосом. Ковалентная модификация белков класса гистонов и ее роль в регуляции структуры и активности хроматина.

32. Репликация ДНК. Общие принципы.

33. Ген как функциональная единица ДНК. Генетический код. Понятие о геноме. Особенности организации генома эукариот, промоторы, операторы, энхансеры и сайленсеры.

34. РНК. Рибосомные, транспортные и матричные РНК, их первичная, вторичная и третичная структуры. Типы РНК: матричная (мРНК), транспортная (тРНК), рибозимы.

35. Передача кода ДНК на РНК (биосинтез РНК или транскрипция). Посттранскрипционная модификация различных классов РНК, созревание РНК. Сплайсинг мРНК, интроны и экзоны. Кэпирование, образование полиаденилового хвоста, алкилирование нуклеотидов.

36. Полимеразная цепная реакция.

37. Передача (трансляция) кода мРНК на белковую последовательность. Кодоны: инициирующие, кодирующие и стоп- (нон-сенс) кодоны.

38. Моносахариды. Аминосахара. Олигосахариды. Полигликаны. Гетерогликаны. Протеогликаны. Гликозаминогликаны.

39. Гликолиз: биологическая роль. Энергетический эффект гликолиза при наличии и в отсутствие сопряжения гликолиза с функционированием системы окислительного фосфорилирования.

40. Строение и биологические функции высших жирных кислот. Незаменимые высшие жирные кислоты (ВЖК). Метаболизм ВЖК. Этапы катаболизма ВЖК. Активация ВЖК, строение, свойства и механизм действия ацил-КоА-синтетазы. Механизм транспорта ацил-КоА через мембрану митохондрий, карнитин и ацилкарнитинтрансферазы.

41. Митохондриальное и пероксисомальное β -окисление жирных кислот.

42. Эйкозаноиды: типы и биологические функции.

42. Холестерин: химическое строение, функции, принципы классификации. Пути поступления, использования и выведения холестерина. Биосинтез холестерина, его этапы, последовательность реакций, характеристика ферментов. Ингибиторы биосинтеза холестерина как лекарственные препараты.

43. холестерина и их биологические функции. Желчные кислоты: химическое строение, классификация, биосинтез, роль желчных кислот в переваривании и всасывании жиров. Стероидные гормоны: строение, номенклатура. Ферменты биосинтеза. Оксистеролы.

44. Фосфолипиды (глицерофосфолипиды и сфингофосфолипиды): функция, основные принципы строения, физико-химические свойства.

45. Триацилглицеролы и эфиры стеринов: строение, биологические функции, локализация в организме.

46. Окислительное фосфорилирование

47. Цикл Креббса

3.2. Тесты для самоконтроля

3.2.1. Аминокислоты и белки

Вариант 1.

1. Белки – биополимеры, мономерами которых являются:

- а) карбоновые кислоты;
- б) амины;
- в) β -аминокислоты;
- г) α -аминокислоты;
- д) амиды карбоновых кислот.

2. В белках аминокислотные остатки связаны между собой:

- а) сложноэфирными связями;
- б) водородными связями;
- в) пептидными связями;
- г) ангидридными связями;
- д) гликозидными связями.

3. К основным аминокислотам относятся:

- а) аланин;
- б) лизин;
- в) тирозин;
- г) глутамин;
- д) триптофан.

4. К кислым аминокислотам относится

- а) лейцин;
- б) цистеин;
- в) аспарагиновая кислота;
- г) треонин;
- д) валин.

5. В изоэлектрической точке пептиды имеют:

- а) отрицательный заряд;
- б) положительный заряд;
- в) нулевой заряд.

6. Условный заряд лизилглицилпролил треонина в кислой среде равен:

- а) 0; б) 2+; в) 1+; г) 2-, д) 1-.

7. Между остатками треонина и глутамина при формировании третичной структуры белка возникает: а) ионная связь; б) водородная связь; в) ковалентная связь.

Вариант 2

1. Белки – биополимеры, мономерами которых являются:

- а) карбоновые кислоты;
- б) амины;
- в) β -аминокислоты;
- г) α -аминокислоты;
- д) амиды карбоновых кислот.

2. В белках аминокислотные остатки связаны между собой:

- а) сложноэфирными связями;
- б) водородными связями;
- в) пептидными связями;
- г) ангидридными связями;
- д) гликозидными связями.

3. К основным аминокислотам относятся:

- а) аланин;
- б) лизин;
- в) тирозин;
- г) глутамин;
- д) триптофан.

4. К кислым аминокислотам относится:

- а) лейцин;
- б) цистеин;
- в) аспарагиновая кислота;
- г) треонин;
- д) валин.

5. В изоэлектрической точке пептиды имеют:

- а) отрицательный заряд;
- б) положительный заряд;
- в) нулевой заряд.

6. Условный заряд лизилглицилпролил треонина в кислой среде равен:

- а) 0; б) 2+; в) 1+; г) 2 $^-$, д) 1 $^-$.

7. Между остатками треонина и глутамина при формировании третичной структуры белка возникает: а) ионная связь; б) водородная связь; в) ковалентная связь.

8. К положительно заряженным при pH 7 аминокислотам относятся:

- а) аланин;
- б) лизин;
- в) тирозин;
- г) глутамин;
- д) триптофан.

3.2.2. Основы энзимиологии

1. Абсолютная специфичность – это способность фермента катализировать:

- а) превращение веществ с одним типом химической связи
- б) превращение стереоизомеров

- в) превращение только одного субстрата
- г) превращение только двух субстратов

2. Участок молекул фермента, обеспечивающий непосредственное взаимодействие с субстратом и прямое участие в акте катализа, называется:

- а) катализитическим центром
 - б) активным центром
 - в) субстратным центром
 - г) аллостерическим центром
3. Мономерными (однокомпонентными) ферментами являются:
- а) пепсин
 - б) дегидрогеназы
 - в) трансферазы
 - г) фосфатаза

4. Международная ферментативная единица 1 катал – количество фермента, которое обеспечивает превращение:

- а) 1г субстрата в 1 сек
- б) 1 моль субстрата в 1 сек
- в) 1 г субстрата в 1 час
- г) 1 моль продукта в 1 час

5. Монооксигеназы относятся к классу:

- а) гидrolазы
- б) оксидоредуктазы
- в) изомеразы
- г) лигазы

6. В состав аминотрансфераз входит кофермент:

- а) ФАД
- б) НАД
- в) пиридоксальфосфат
- г) тиаминпирофосфат

7. В основу принятой классификации ферментов положен:

- а) характер связей
- б) тип катализируемой реакции
- в) тип субстрата
- г) механизм действия фермента

8. Ферменты, катализирующие реакции разрыва связей или реакции отщепления различных групп от субстратов без участия воды:

- а) лигазы
- б) изомеразы
- в) лиазы
- г) гидrolазы

10. Фермент амилаза гидролизует связи:

- а) сложноэфирные
- б) пептидные
- в) $\alpha,1\rightarrow6$ -гликозидные
- г) $\alpha,1\rightarrow4$ -гликозидные

3.2.3. Нуклеиновые основания, ДНК и РНК

1. Репликация – это
 - а) Процесс деления клетки
 - б) Процесс синтеза белка
 - в) Процесс синтеза РНК
 - г) Процесс синтеза ДНК.
2. Репликация происходит следующим образом:
 - а) На каждой цепи материнской ДНК достраивается дочерняя
 - б) ДНК разрезается на небольшие отрезки и сшивается в две молекулы.
 - в) Новая молекула ДНК синтезируется заново по матрице белка.
 - г) Новая молекула ДНК синтезируется заново по матрице тРНК.
3. ДНК и РНК отличаются
 - а) По количеству атомов углерода в сахаре
 - б) По положению фосфодиэфирной связи
 - в) РНК не имеет спирализованных участков
 - г) По составу азотистых оснований
 - д) По наличию фосфата
4. Урацил не содержится в:
 - а) и-РНК
 - б) т-РНК
 - в) р-РНК
 - г) ДНК
5. Транскрипция – это
 - а) Процесс деления клетки
 - б) Процесс синтеза белка
 - в) Процесс синтеза и-РНК
 - г) Процесс синтеза ДНК.
6. и-РНК (оно же м-РНК) синтезируется комплементарно к
 - а) 3'-цепи ДНК
 - б) 5'-цепи ДНК
7. Экзон - это
 - а) Участок ДНК, кодирующий информацию о 1-ой структуре белка
 - б) Участок РНК, не кодирующий информацию о 1-ой структуре белка
 - в) Участок РНК, кодирующий информацию о 1-ой структуре белка
 - г) Участок РНК, кодирующий информацию о 2-ой структуре белка

4. ВСПОМОГАТЕЛЬНЫЙ РАЗДЕЛ

4.1. Содержание учебного материала

Тема 1.1 Предмет и задачи биохимии

Предмет и задачи биохимии. Объекты биохимических исследований. Разделы биохимии (биологической химии): статическая биохимия, динамическая биохимия, функциональная биохимия. Исторический очерк возникновения и развития биохимии. Химия природных (биогенных) соединений и физиологическая химия. Связь биохимии с молекулярной биологией, биоорганической и бионеорганической химией, биотехнологией, генетическая инженерия. Комплекс дисциплин физико-химической биологии.

Раздел 2 Аминокислоты, пептиды, белки

Тема 2.1 Аминокислоты

Структурные типы биогенных аминокислот: аминокарбоксикислоты (α -аминокислоты, D- и L-изомеры; β -аланин, γ аминомасляная кислота) и другие (аминосульфокислота таурин, парааминобензойная кислота).

Кислотно-основные свойства аминокислоты, амфотерность, цвиттер-ионы, константы кислотности pK_a и изоэлектрическая точка pI . α -Аминокислоты, их номенклатура (одно- и трехбуквенные сокращенные обозначения). Классификация по физико-химическим свойствам (гидрофобность, суммарный заряд, химическая природа боковых радикалов).

Биологические функции аминокислот (структурные компоненты пептидов и белков, структурные компоненты природных соединений непептидной природы (кофермент А, фосфотидилсерин), сигнальные молекулы или их предшественники, источники углерода и азота для биосинтеза различных соединений). Протеиногенные и непротеиногенные аминокислоты, модифицированные аминокислотные остатки в составе белков. Незаменимые и заменимые для млекопитающих аминокислоты.

Примеры превращения аминокислот в организме млекопитающих.

Биосинтез заменимых аминокислот. Химическая и ферментативная модификация аминокислот по α -аминогруппе, α -карбоксильной группе, боковому радикалу. Качественные реакции на аминокислоты. Методы количественного определения аминокислот. Основные методы разделения аминокислот: хроматография (бумажная, тонкослойная, ионообменная), высоковольтный электрофорез.

Пример «зеленого» микробиологического производства аминокислот на примере продукции, производимой «БНБК».

Тема 2.2 Пептиды и белки: структура и биологические функции

Общая структура пептидов и белков. Критерии отличия пептидов от белков (молекулярная масса < 10 кДа или число аминокислотных остатков в цепи < 50). Пептидная (амидная) связь и ее мезомерия (резонансная стабилизация). Валентные связи и углы между аминокислотными остатками в пептидах. Разрешенные и запрещенные конформации аминокислотных остатков в пептидной цепи. Транс-конформация пептидной связи. Цис- и транс-

конформация остатка пролина в пептидах. Общие физико-химические свойства пептидов.

Биологические функции пептидов: пептидные гормоны (вазопрессин, окситоцин, ангиотензины), нейропептиды, энкефалины, эндорфины, защитные пептиды (дефенсины, карнозин).

Примеры использование пептидов в качестве лекарственных препаратов.

Белки. Четыре уровня организации структур белков.

Первичная структура белка, её характерные признаки: линейность и генетическая предопределенность. Установления первичной структуры белка.

Вторичная структура белка, регулярность как её характерное свойство. Стабилизация вторичной структуры водородными связями между пептидными группами. Основные типы вторичной структуры: правозакрученная α -спираль (период идентичности, величина витка, расположение внутримолекулярных водородных связей); левозакрученная спираль коллагена; β -слои (параллельные, антипараллельные и смешанные). Нерегулярные и слабо упорядоченные элементы вторичной структуры. Устойчивые сочетания типов вторичной структуры (супервторичная структура белков): β -бочонок (β -барабан), « α -спираль - β -поворот - α -спираль», «цинковые пальцы», «лейциновая молния».

Третичная структура белка. Уникальность третичной структуры. Стабильность третичной структуры и определяющие её силы: силы Ван-дер-Ваальса, водородные связи, электростатические взаимодействия, ковалентные связи (дисульфидные связи), гидрофобные взаимодействия.

Взаимосвязь между первичной, вторичной и третичной структурами, возможность и способы расчета третичной структуры.

Четвертичная структура белка как надмолекулярный уровень пространственной организации. Взаимодействия между отдельными субъединицами, стабилизирующие четвертичную структуру. Организация межсубъединичных контактов. Функциональное значение четвертичной структуры белка. Кооперативность. Надмолекулярные белковые ансамбли.

Несколько структурно-функциональных единиц из одной полипептидной цепи – доменные белки. Понятие домен и особенности пространственной организации и функционирования доменных белков. Относительная структурная обособленность и функциональная автономность доменов. Эволюционное значение доменной организации белков. Роль доменной организации в функционировании иммуноглобулинов.

Семейства и суперсемейства белков, примеры суперсемейств (цитохромы P450, иммуноглобулины, ДНК-связывающие белки, серпины (белки-ингибиторы сериновых протеаз)).

Общие свойства трехмерной структуры мембранных белков.

Общие свойства трехмерной структуры глобулярных белков (гидрофобное ядро глобулы, ограниченность числа типов структур), классы глобулярных белков (α - и β -глобулярные белки).

Сложные белки. Простетическая группа. Общая характеристика основных классов сложных белков. Гликопротеины и протеогликаны. Липопротеины. Нуклеопротеины. Металлопротеины. Селенопротеины.

Нативная (природная) структура белка. Фолдинг белков: концепция стадийного сворачивания белков (каркасная модель).

Денатурация белков: определение, механизмы. Обратимая и необратимая денатурация. Физические и химические денатурирующие факторы. Ренатурация и ренативация.

Значение различных уровней структуры белков для сохранения их биологических функций белков.

Посттрансляционные гидролитические и негидролитические модификации белков и пептидов. Убиквитин-зависимая полная гидролитическая деградация белков.

Тема 2.3 Пептиды и белки: методы анализа

Химический синтез пептидов.

Методы выделения и очистки белков. Общая схема выделения белков из клеток и тканей. Гомогенизация. Хроматография. Электрофорез. Диализ. Седиментационные методы. Ультрафильтрация. Аффинные методы. Иммунохимические подходы к выделению и анализу белков.

Определение аминокислотного состава пептидов и последовательности аминокислот в пептидах (химическое секвенирование и масс-спектрометрия).

Регоселективные ферментативные и химические способы расщепления полипептидной цепи белков. Определение молекулярной массы белков, микрогетерогенность и ее причины (изоформы, модификации при выделении).

Компьютерные алгоритмы сравнения первичных структур пептидов и белков.

Методы изучения вторичной структуры (дисперсия оптического вращения и круговой дихроизм). Компьютерные алгоритмы предсказания вторичной структуры белка по его первичной структуре. Взаимосвязь между первичной и вторичной структурой белка.

Методы изучения пространственного строения белков: рентгеноструктурный анализ, нейтронная дифракция, многомерная ЯМР-спектроскопия.

Методы исследования взаимосвязи структуры и функции белков: химическая модификация аминокислотных остатков, сайт-направленный мутагенез, меченные и фотоактивируемые лиганды.

Раздел 3 Основы энзимологии

Тема 3.1 Энзимология. Основные принципы и термины

Ферменты (энзимы) как катализаторы белковой природы. Особенности действия ферментов: высокая эффективность, специфичность, мягкие условия протекания реакции, способность к регуляции. Количественное определение ферментативной активности (по убыли субстрата и по нарастанию продукта), способы её выражения.

Международная классификация ферментов (КФ). Общая характеристика основных классов ферментов: оксидоредуктазы, трансферазы, гидролазы, лиазы, изомеразы, лигазы (синтазы). Систематическое и тривиальное название фермента. Изоферменты. Основные понятия ферментативного катализа. Общий механизм ферментативного катализа. Многостадийность ферментативной

реакции и последовательные этапы катализа: Фермент-субстратный комплекс. Модели взаимодействия субстрата с ферментом: «ключ-замок» и «индуцированного соответствия». Активный центр фермента, его субстрат-связывающий и катализический участки, образование на уровне третичной или четвертичной структуры. Специфичность ферментов. Реакционная и субстратная специфичность. Абсолютная и относительная (групповая) специфичность. Ключевой момент катализа - стабилизация продуктивного переходного состояния.

Тема 3.2 Кинетика ферментативных реакций и ингибиование

Основные положения кинетики ферментативного катализа. Влияние концентрации фермента, концентрации субстрата, рН и температуры среды на скорость ферментативной реакции. Модель ферментативного катализа Михаэлиса - Ментен. Максимальная скорость ферментативной реакции (V_{max}) и константа Михаэлиса (K_m). Способы их определения: графический (гиперболический график, метод Лайнгувера - Берка, метод Иди-Хофсти) и расчетный с использованием компьютерных программ. Константа $k_{cat}=V_{max}/K_m$ как показатель каталитической эффективности фермента. Мультисубстратные реакции. Отклонения от кинетики Михаэлиса - Ментен. Сигмоидная кинетическая кривая, модель Хилла.

Механизмы катализа реакций ферментами, функционирующими с участием кофакторов. Кофакторы и коферменты: химическая природа коферментов, витамины как коферменты и их метаболические предшественники. Специфичность коферментов для определенного типа реакций. Окислительно-восстановительные коферменты. Коферменты переноса групп. Растворимые и ковалентно-связанные коферменты. Активированные метаболиты (УДФ-глюкоза, ЦДФ-холин, S-аденозил-метионин).

Механизмы катализа ферментами, не содержащими кофактор/кофермент (сериновые протеиназы, триозофосфатизомераза, рибонуклеаза).

Роль ионов металлов в ферментативном катализе. Металлоферменты и ферменты, активируемые металлами. Тройные комплексы «фермент - металл - субстрат».

Каскады ферментов: понятие и примеры (система свертывания крови, каспазный каскад; аденилатциклазный).

Прямая регуляция скорости ферментативной реакции. Регуляция посредством доступности субстратов или кофакторов/коферментов, ковалентной модификацией фермента, аллостерическая регуляция.

Энзимодиагностика. Молекулярные основы возможности диагностики приобретенных и наследственных заболеваний с помощью анализа активности и спектра ферментов в биологических пробах.

Примеры ферментов, используемых в качестве лекарственных препаратов, заместительная терапия.

Кинетика ферментативных реакций. Ингибиторы ферментов. Обратимые и необратимые ингибиторы. Типы обратимого ингибиования. Кинетика ингибиования, понятие о кажущейся константе ингибиования. Конкурентное ингибиование: аналоги субстрата, аналоги переходного состояния.

Неконкурентное ингибирирование. Бесконкурентное ингибирирование. Кинетики ингибирирования. Понятие о кажущейся константе Михаэлиса. Типы необратимого ингибирирования. Модифицирующие реагенты и суицидные субстраты.

Раздел 4 Нуклеиновые основания, ДНК и РНК.

Тема 4.1 Нуклеиновые (азотистые) основания

Азотистые основания, нуклеозиды и нуклеотиды: строение, принципы классификации, номенклатура, биологическая роль. Биосинтез пуриновых и пиримидиновых азотистых оснований. Путь повторного биосинтеза оснований из катаболитов («Путь спасения»). Общие физико-химические свойства и методы анализа азотистых оснований и нуклеотидов.

Тема 4.2 ДНК

ДНК, ее локализация в клетке и биологическая функция. Первичная структура ДНК. Вторичная структура ДНК. Антипаралельность. Суперспирализация. Денатурация и ренативация ДНК. Гибридизация ДНК-ДНК, ДНК-РНК. Взаимодействие ДНК с ДНК-связывающими белками (участки «спираль - виток - спираль», «лейциновые молнии», «цинковые пальцы»). Особенности первичной и пространственной структуры гистонов. Роль гистонов в формировании нуклеосом. Нуклеосомная сердцевина. Линкерная ДНК. Дальнейшая упаковка ДНК: соленоиды, петли и складки. Строение хроматина. Эухроматин и гетерохроматин. Хромосомы. Ковалентная модификация белков класса гистонов и ее роль в регуляции структуры и активности хроматина.

Репликация ДНК. Общие принципы. Инициация репликации. Топоизомеразы I, II, хеликаза их роль в релаксации сверхвитков ДНК. Двунаправленная репликация, устройство репликативной вилки. Типы ДНК-полимераз и их функции. Ленточная модель скользящих зажимов. Праймер. Фрагменты Оказаки. Механизмы исправления ошибок репликации. Терминация репликации. Теломеры и теломераза, их биологическое значение.

Повреждения ДНК и их репарация в живых организмах. Биологическое значение процессов репарации генетической информации. Причины повреждения ДНК: ошибки репликации, депуринация, дезаминирование и алкилирование оснований, образование пиримидиновых димеров. Природа мутаций и генетическая изменчивость. Молекулярные мутации: замены, делеции, вставки нуклеотидов. Частота мутаций, зависимость от условий среды (радиация, химические мутагены). Способы репарации ДНК: зависимая от метилирования, прямая, с вырезанием нуклеотида, эксцизионная, в процессе репликации.

Ген как функциональная единица ДНК. Генетический код. Понятие о геноме. Особенности организации генома эукариот, мозаичность структурных генов, промоторы, операторы, энхансеры и сайленсеры.

Тема 4.3 РНК

РНК. Рибосомные, транспортные и матричные РНК, их первичная, вторичная и третичная структуры. Типы РНК: матричная (мРНК), транспортная (тРНК), рибозимы.

Передача кода ДНК на РНК (биосинтез РНК или транскрипция): субстраты, матрица кодирующая и некодирующая цепи ДНК, энергетические затраты, ферменты, белковые факторы. Этапы транскрипции, характеристика процесса. Расплетание ДНК и синтез РНК. Терминация транскрипции, стоп-сигналы. Особенности транскрипции у эукариот: РНК- полимераза I, II, III; промоторы: СААТ-бокс, GC-бокс, ТАТА-бокс. Энхансерный элемент. Дополнительные факторы транскрипции.

Посттранскрипционная модификация различных классов РНК, созревание РНК. СплайсингРНК, интроны и экзоны. Кэпирование, образование полиаденилового хвоста, алкилирование нуклеотидов. Сайт ветвления. Расщепление ДНК и РНК нуклеазами и рестриктазами. Полимеразная цепная реакция.

Передача (трансляция) кода мРНК на белковую последовательность. Кодоны: инициирующие, кодирующие и стоп- (нон-сенс) кодоны. Этапы трансляции: инициация, элонгация, транслокация, терминация. Инициация (образование аминоацил-т-РНК, аминоацильный и пептидильный участки). Элонгация: образование пептидной связи. Транслокация и транслоказа. Терминация и факторы освобождения белка. Особенности синтеза белка у эукариот.

Раздел 5 Углеводы (сахара)

Тема 5.1 Основные структурные типы природных углеводов

Моносахариды. Аминосахара. Олигосахариды. Полигликаны.

Гетерогликаны. Протеогликаны. Гликозаминогликаны.

Тема 5.2 Гликолиз

Гликолиз: биологическая роль, общая схема процесса, последовательность реакций, обратимые и необратимые реакции, характеристика ферментов, лимитирующие стадии. Энергетический эффект гликолиза при наличии и в отсутствие сопряжения гликолиза с функционированием общего пути катаболизма и системы окислительного фосфорилирования.

Тема 5.3 Пути биосинтеза природных углеводов

Глюконеогенез. Пентозафосфатный шунт. Синтез аминосахаров. Гликогеногенез. Гликогенолиз.

Раздел 6 Липиды

Тема 6.1 Жирные кислоты

Строение и биологические функции высших жирных кислот. Незаменимые высшие жирные кислоты (ВЖК). Метаболизм ВЖК. Этапы катаболизма ВЖК. Активация ВЖК, строение, свойства и механизм действия ацил-КоА-сингтетазы, регуляция её активности. Дальнейшая судьба ацил-КоА. Типы окисления ВЖК: α -, β - и ω -окисление. Механизм транспорта ацил-КоА через мембрану митохондрий, карнитин, строение, механизм действия и регуляция активности ацилкарнитинтрансфераз. Митохондриальное β -окисление ВЖК: последовательность реакций, характеристика ферментов, структурно-функциональная организация процесса, сопряжение с циклом трикарбоновых кислот и окислительным фосфорилированием. Особенности митохондриального β -окисления ненасыщенных ВЖК и ВЖК с нечетным числом атомов.

Пероксисомальное β -окисление. Механизмы образования непредельных ВЖК в организме человека. Ацил-КоА-оксигеназа. Структура, регуляция активности и экспрессии и функционирование десатураз жирных кислот. Эйкозаноиды: определение, классификация, характеристика, пути биосинтеза и биологические функции отдельных представителей (простагландины, тромбоксаны, простациклин, лейкотриены).

Тема 6.2 Холестерин и его производные

Холестерин: химическое строение, функции, принципы классификации. Пути поступления, использования и выведения холестерина. Аналоги холестерина в растениях и грибах. Биосинтез холестерина, его этапы, последовательность реакций, характеристика ферментов, лимитирующие стадии. Значение промежуточных метаболитов биосинтеза холестерина для образования убихинона и долихола. Регуляция биосинтеза холестерина. Ингибиторы биосинтеза холестерина как лекарственные препараты. Производные холестерина и их биологические функции. Желчные кислоты: химическое строение, классификация, биосинтез, роль желчных кислот в переваривании и всасывании жиров. Стероидные гормоны: строение, номенклатура. Ферменты биосинтеза. Оксистеролы.

Тема 6.3 Сложные липиды

Сложные липиды: глицеролипиды, сфинголипиды, гликолипиды, эфиры холестерина. Фосфолипиды (глицерофосфолипиды и сфингофосфолипиды): функция, основные принципы строения, физико-химические свойства. Синтез триглицеридов и глицерофосфолипидов: последовательность реакций, характеристика ферментов, источники глицерина и жирных кислот, механизмы регуляции. Обмен сфинголипидов, синтез церамида и его производных, наследственные и приобретенные нарушения метаболизма сфинголипидов. Кардиолипин. Плазмалогены и гликолипиды.

Триацилглицеролы и эфиры стеринов: строение, биологические функции, локализация в организме. Биосинтез триацилглицеринов и образование эстерифицированного холестерина.

Раздел 7 Энергетический обмен

Тема 7.1 Макроэргические соединения

Макроэргические соединения: определение, примеры, типы высокоэнергетических связей (фосфодиэфирная, тиоэфирная, фосфоамидная), причины их нестабильности и энергия гидролиза. Молекула аденоциртрафосфорной кислоты (АТФ) как основная форма сохранения химической энергии в клетке. Участие АТФ в реакциях энергетического сопряжения. Способы синтеза АТФ в живых организмах: субстратное фосфорилирование, окислительное фосфорилирование.

Электрохимический потенциал и протондвижущая сила. Протон-зависимый синтез на мембранах - основной источник образования АТФ в живых организмах. Н⁺-переносящая АТФ-синтетаза: биологическая роль, строение, механизм синтеза АТФ, особенности ферментов прокариот, митохондрий и хлоропластов. Транспорт АТФ и АДФ через митохондриальные мембранны. Роль митохондриальной креатинкиназы.

Тема 7.2 Окислительное фосфорилирование

Обобщенная схема процесса, субстраты. Окислительно-восстановительный механизм формирование протонного градиента. Цепь переноса электронов (дыхательная цепь) митохондрий. Источники электронов для функционирования дыхательной цепи. Сопряжение транспорта электронов и протонов. Структурно-функциональная организация дыхательной цепи. Особенности состава, строения и функций отдельных компонентов дыхательной цепи. Кофакторы, принимающие участие в переносе протонов и электронов. Представление о механизмах трансмембранных транспорта протонов в дыхательной цепи. Взаимосвязь функционирования дыхательной цепи и не входящих в неё митохондриальных флавин-зависимых дегидрогеназ. Дегидрирование субстратов как подготовительный этап для функционирования системы окислительного фосфорилирования.

Тема 7.3 Цикл Кребса и связанные процессы

Субстраты общего пути катаболизма (пируват, ацетил-КоА), основные источники их образования в клетке. Цикл трикарбоновых кислот (ЦТК): последовательность реакций, характеристика ферментов.

4.2. Рекомендуемая литература

Основная литература

1. Чиркин, А. А. Биологическая химия : учебник для студ. учреждений высшего образования по направлениям образования "Биологические и смежные науки", "Окружающая среда" и спец. "Природоведческое образование (с указанием предметных областей)" / А. А. Чиркин, Е. О. Данченко, В. В. Хрусталёв. - Минск: Вышэйшая школа, 2023. - 478 с.

Дополнительная литература

1. Машковский, Михаил Давыдович. Лекарственные средства / М. Д. Машковский - 16-е изд., перераб., испр и доп. - М. : Новая Волна, 2021. – 1216 с

2. Кольман, Ян. Наглядная биохимия = Color Atlas of Biochemistry / Я. Кольман, К.-Г. Рём ; пер. с англ. под ред. Т. П. Мосоловой. - 8-е изд. - Москва : Лаборатория знаний, 2023. - 509 с.

3. Принципы и методы биохимии и молекулярной биологии = Principles and Techniques of Biochemistry and Molecular Biology : [учебник] / [Э. Эйткен и др. ; ред.: К. Уилсон и Дж. Уолкер] ; пер. с англ.: Т. П. Мосоловой, Е. Ю. Бозелек-Решетняк ; под. ред. А. В. Левашова, В. И. Тишкова. - 5-е изд. - Москва : Лаборатория знаний, 2022. - 848 с.

4. Биохимия : учебное пособие для студ. учреждений высшего образования, по специальностям "Лечебное дело", "Педиатрия", "Медико-диагностическое дело", "Медико-психологическое дело", "Сестринское дело" / [авт.: В. В. Лелевич и др.] ; под ред. В. В. Лелевича ; М-во здравоохранения Республики Беларусь, УО "Гродненский гос. мед. ун-т", Кафедра биологической химии. - Гродно : ГрГМУ, 2022. - 411 с. : ил. ; 20x14 см. - Библиогр.: с. 408. - ISBN 978-985-595-696-0

4.3. Электронные ресурсы

1. Образовательный портал БГУ [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://educhem.bsu.by>. – Дата доступа: 20.11.2025.
2. The Universal Protein Resource [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.uniprot.org>. – Дата доступа: 20.11.2025.
3. PubChem open chemistry database [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. – Дата доступа: 20.11.2025.