



МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

КЕМЕРОВСКИЙ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ
ПИЩЕВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

Л.Г. Пинчук, Е.П. Зинкевич, С.Б. Гридина

БИОХИМИЯ

Учебное пособие

Для студентов вузов

Рекомендовано Сибирским региональным учебно-методическим центром высшего профессионального образования для межвузовского использования в качестве учебного пособия для студентов, обучающихся по направлениям подготовки 260100 «Продукты питания из растительного сырья», 260200 «Продукты питания животного происхождения», 260800 «Технология продукции и организация общественного питания» всех форм обучения

Кемерово 2011

УДК 577.1 (075)

ББК 28.072я7

П32

Рецензенты:

Е.П. Кондратенко, профессор, д-р с.-х. наук;

С.В. Овсянникова, доцент, канд. биол. наук

*Рекомендовано редакционно-издательским советом
Кемеровского технологического института
пищевой промышленности*

Пинчук, Л.Г.

П32 Биохимия : учеб. пособие / Л.Г. Пинчук, Е.П. Зинкевич, С.Б. Гридина; Кемеровский технологический институт пищевой промышленности. – Кемерово, 2011. – 364 с.

ISBN 978-5-89289-680-1

Рассмотрены вопросы статической и динамической биохимии белков, аминокислот, нуклеиновых кислот, углеводов, липидов, ферментов и витаминов. Особое внимание уделено их роли в организме человека и пищевых технологиях.

Предназначено для студентов вузов, научных работников и аспирантов.

УДК 577.1 (075)

ББК 28.072я7

ISBN 978-5-89289-680-1

*Охраняется законом об авторском
праве, не может быть использовано
любым незаконным способом
без письменного договора*

© КемТИПП, 2011

ВВЕДЕНИЕ

Биологическая химия (биохимия) – наука о структуре своеобразных молекул, из которых построена клетка, а также о непрерывных, сложных последовательных химических реакциях, благодаря которым клетки растут и делятся, питаются и выделяют шлаки, движутся и сообщаются друг с другом.

В учебных целях биохимию принято делить на *статическую* и *динамическую*. *Статическая биохимия* изучает количественные соотношения, природу и свойства веществ, образующих живой организм. Этот раздел биохимии в значительной мере базируется на материале органической химии. *Динамическая биохимия* изучает все химические превращения веществ, происходящие в процессе жизнедеятельности организмов, и сопровождающие эти превращения изменения энергии. Оба раздела биохимии тесно связаны между собой. Нельзя понять биохимические процессы, идущие в живом организме, не зная его состава и химической природы образующих его веществ.

В зависимости от объекта или направления его исследования различают биохимию человека, биохимию животных, биохимию растений, биохимию микроорганизмов, техническую биохимию, радиационную биохимию и т.п.

Биохимия дает знания, необходимые для решения многих задач в биологии, медицине, сельском хозяйстве, промышленности микробиологического синтеза, вопросах охраны окружающей среды, пищевой промышленности.

В результате совместной работы биохимиков, генетиков, селекционеров выведены новые, ценные для промышленности сорта растений, породы животных и птиц. Среди них высокомасличные сорта подсолнечника и кукурузы, высокосахаристые сорта сахарной свеклы, сорта ячменя со сбалансированным аминокислотным составом белков, порода голубых норок и др.

Исследования по биохимии микроорганизмов привели к созданию промышленности микробиологического синтеза. Продукцию этой промышленности составляют кормовой белок, аминокислоты, антибиотики, многие витамины, гормоны и ферменты.

На достижениях биохимии базируются создание и применение лекарственных веществ, выяснение причин болезней, передающихся по наследству, управление поведенческими реакциями животных и человека, применение химических препаратов для повышения продуктивности растениеводства и животноводства.

Существующая ныне теория «сбалансированного» пищевого рациона основана на исследованиях биохимии и физиологии о роли белков, жиров, углеводов, витаминов, минеральных веществ в обмене у здорового человека при различных условиях труда и быта, физиологического состояния.

Биохимия составляет научную основу пищевой технологии. Исключительная роль и широкий размах биохимических исследований переработки сельскохозяйственного сырья животного и растительного происхождения привели к формированию самостоятельной науки – технической биохимии (биохимия мяса, молока и молочных продуктов; зерна и продуктов его переработки, солода и пива; виноделия и др.). Эта биохимия изучает химический состав сырья для пищевой промышленности, происходящие в нем процессы при хранении и переработке, разрабатывает способы применения биологических препаратов в биотехнологии. Знания химических процессов (они обычно ферментативные), происходящих при хранении пищевого сырья, помогают технологу направить эти процессы в нужную сторону, чтобы выбирать оптимальные условия для хранения сырья, вырабатывать из него готовые продукты, имеющие хороший внешний вид, вкус, аромат и высокую пищевую ценность.

Как самостоятельная наука биохимия сложилась на рубеже XIX–XX веков, однако изучение проблем, составляющих предмет современной биохимии, началось в конце XVIII века. Исторически становление биохимии тесно связано с достижениями в области органической химии, физиологии и медицины.

В начале XIX века был осуществлен ряд исследований по изучению химического состава растительных и животных клеток, в 1828 г. была синтезирована мочевина (Ф. Велер). Во второй половине XIX века были получены данные о структуре аминокислот, углеводов и жиров, установлена природа пептидной связи (Э. Фишер), накоплены некоторые сведения о составе и химических превращениях белков, жиров и углеводов, о процессе брожения (Ю. Либих, Л. Пастер, Э. Бухнер), о фотосинтезе (К.А. Тимирязев), положе-

но начало изучению нуклеиновых кислот (И.Ф. Мишер). Большой вклад в развитие биохимии в России внесли М. Ненцкий, А.Я. Данилевский, В.С. Гулевич и А.Н. Бах. В конце XIX века сформировалось представление о сходстве основных принципов и механизмов химических представлений у различных групп организмов, а также об особенностях их обмена веществ.

Первая половина XX века отмечена рядом открытий в области биохимии питания; предложена концепция заболеваний, обусловленных пищевой недостаточностью. Были открыты витамины, гормоны, определена их роль в организме, установлены механизмы брожения и биологического окисления (О. Варбург, Г. Эмбден, О. Мейергоф, Я.О. Парнас, Х. Кребс). Классическими работами Дж. Самнера (1926) доказана белковая природа ферментов, что послужило толчком для быстрого развития энзимологии. В 1939 г. В.А. Энгельгард и М.Н. Любимовой установлена ферментативная (аденозинтрифосфатазная) активность мышечного белка миозина. К середине 50-х годов были открыты и охарактеризованы основные классы веществ, входящих в состав организмов, изучены пути их превращений. Дальнейшее развитие биохимии связано с изучением структуры и функции ряда белков, разработкой основных положений теории ферментативного катализа, установлением принципиальных схем обмена веществ и т.д.

Основными направлениями современных биохимических исследований является дальнейшее познание процессов биосинтеза нуклеиновых кислот и белков, изучение особенностей промежуточного обмена, изучение регуляторных механизмов клетки, ее ультраструктуры, молекулярных основ процессов морфогенеза, энергетических процессов в клетках, основ мышечного сокращения, механизма действия гормонов и т.д.

СТАТИЧЕСКАЯ БИОХИМИЯ

Глава 1. ОБЩИЙ ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ЖИВЫХ ОРГАНИЗМОВ. СТРОЕНИЕ КЛЕТКИ

Биомасса одновременно живущих на Земле организмов составляет в пересчете на сухое вещество $1,8-2,4 \cdot 10^{12}$ т. Эти организмы ежегодно продуцируют около 10^{11} т сухого вещества.

Из общего числа известных химических элементов в организмах, составляющих биомассу Земли, обнаружено около 60; однако не все входящие в это число химические элементы обязательно требуются каждому виду организмов.

По количественному содержанию встречающиеся в живом организме химические элементы делят на три группы: макроэлементы, массовая доля их в живом веществе превышает 10^{-3} % (С, О, N, H, P, S, Ca, Mg, K, Na, Cl, Fe); микроэлементы, массовая доля которых колеблется от 10^{-3} до 10^{-6} % (Mn, Zn, Cu, B, Mo, Co и др.), и ультраэлементы, массовая доля которых не превышает 10^{-6} % (Hg, Au, U, Ra и др.). Из макроэлементов в живом веществе в наибольшем количестве содержатся С, О, N, H, P, S и Ca. Эти элементы называют биофилами. Они составляют основу органических веществ организма.

Многочисленные химические элементы, составляющие живое вещество, образуют в нем различные органические и неорганические соединения.

Органические соединения живого организма представлены молекулами белков, нуклеиновых кислот, липидов, углеводов, органических кислот и биологически активными веществами (витаминами, гормонами, фитонцидами и др.). Массовая доля органических соединений составляет в организмах животных 25–30 %, в семенах растений 80–90 %, в стеблях, листьях, плодах, овощах, фруктах 5–25 %.

Неорганические соединения организма представлены водой, минеральными веществами, неорганическими кислотами (соляной и ортофосфорной).

Вода – один из широко распространенных компонентов живого. На ее долю в организме теплокровных животных приходится

65–70 %, в растениях (листья, стебли, плоды, овощи, клубни, корни) – 75–95 %, в покоящихся семенах растений – 5–15 %. Вода играет огромную роль в создании условий для жизнедеятельности. Она основной участник всех физико-химических процессов организма, обеспечивающих функционирование и возобновление живого. Вода, являясь универсальным биологическим растворителем, изменяет реакционную способность растворяющихся в ней биологически активных веществ.

Минеральные вещества в животных и растительных организмах находятся в свободном (в виде ионов) и связанном состоянии. Массовая доля минеральных веществ составляет: в животном организме до 10 %, в семенах растений 2–5 %, в стеблях, плодах, овощах, фруктах 0,3–1 %.

Клетка – это структурно-функциональная единица живого организма, элементарная живая система. Диаметр клеток колеблется в пределах от 1–2 мкм у бактерий до 20–30 мкм у животных. Размеры клеток определяются следующими условиями: минимальным числом необходимых для жизнедеятельности молекул; фиксированной величиной этих молекул, задаваемой размерами входящих в их состав атомов; скоростью диффузии молекул, растворенных в водной среде клетки.

Отдельные биохимические реакции, протекающие в живых клетках, локализованы в компартментах («отсеках»). Например, синтез белка происходит в рибосомах, фотосинтез – в хлоропластах, получение энергии в доступной форме – в митохондриях. Вследствие компартментализации – пространственного разделения – биохимические реакции, зачастую противоположного характера, идут в клетке одновременно, не мешая друг другу.

Рассмотрим строение «обобщенной клетки», т.е. содержащей набор структур, обязательных для растений и животных (рис. 1.1).

Клеточная (плазматическая) мембрана состоит из двух слоев липидных молекул, в которые встроены белки. Кроме того, некоторые мембраны содержат углеводы, связанные с липидами и белками. Компоненты мембран удерживаются нековалентными связями, вследствие чего они обладают лишь относительной проницаемостью, т.е. могут диффундировать в пределах липидного бислоя.

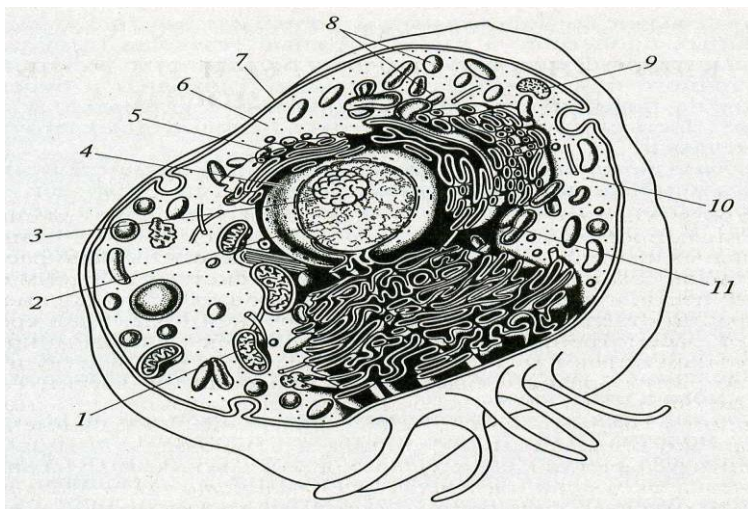


Рис. 1.1. Структура клетки и ее отдельные органеллы:

- 1 – митохондрия; 2 – хроматин; 3 – ядрышко; 4 – ядро; 5 – аппарат Гольджи;
 6 – цитоплазма; 7 – клеточная мембрана; 8 – пероксисома; 9 – лизосома;
 10 – рибосомы; 11 – эндоплазматический ретикулум

Если белки не закреплены в мембране, они «плавают» в липидном бислое как в жидкости. Поэтому говорят, что биомембраны имеют жидкостно-мозаичную структуру. Она отделяет клеточное содержимое от внешней среды, регулирует обмен между клеткой и средой, делит внутреннее пространство клетки на отсеки (компарменты), предназначенные для конкретных химических процессов. Кроме плазматической мембраны, в животных клетках имеются внутренняя и внешняя ядерные мембраны, мембраны эндоплазматического ретикулума и аппарата Гольджи, внутренняя и внешняя митохондриальные мембраны. Лизосомы, пероксисомы, различные органеллы также отделены от цитоплазмы мембранами. Клетки растений содержат дополнительно мембраны хлоропластов, лейкопластов и вакуолей. Все мембраны полярны, т.е. существует различие в составах внутреннего и внешнего слоев.

Биомембраны и их составляющие выполняют следующие функции: ограничение и обособление клеток и органелл; контролируют транспорт метаболитов и ионов, определяя внутреннюю среду, что существенно для гомеостаза; восприятие внеклеточных сигналов и их передачи внутри клетки, а также инициация сигнала

лов; ферментативный катализ; контактное взаимодействие с межклеточным матриксом и взаимосвязь с другими клетками.

Цитоплазма состоит из водянистого основного вещества и окружает клеточные структуры и различные включения (нерастворимые отходы обмена, запасные вещества). Жидкую часть цитоплазмы, заполняющую пространство между клеточными структурами, называют *цитозолем*. Химическую основу цитозоля составляет вода с растворенными в ней солями, сахарами, аминокислотами, жирными кислотами, нуклеотидами, белками и рибонуклеиновыми кислотами (РНК). В цитозоле происходят некоторые химические процессы (гликолиз, синтез жирных кислот, нуклеотидов и некоторых аминокислот).

Ядро – крупная органелла, заключенная в оболочку из двух мембран, пронизанную порами. Ядро содержит хроматин, ядрышко и нуклеоплазму. Нуклеоплазма (ядерный сок) – это гелеобразная структура, в которой располагаются хроматин и одно или несколько ядрышек. Основу хроматина составляет комплекс дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) с белками. В ДНК хранится генетическая информация. В ядрышке происходит синтез рибосомной РНК и начинается сборка рибосом. Завершается эта сборка в цитоплазме. В ядрышке имеется хроматин.

Эндоплазматический ретикулум (ЭР) представляет обширную систему уплощенных мембранных мешочков – цистерн – в виде трубочек и пластинок. Образует единое целое с наружной мембраной ядерной оболочки (наружная мембрана ядерной оболочки непосредственно переходит в ЭР). Если цистерны ЭР покрыты рибосомами, его называют *шероховатым*; если рибосомы отсутствуют, то его называют *гладким*. По цистернам шероховатого ЭР транспортируются белки, синтезированные рибосомами на его поверхности. Гладкий ЭР служит местом синтеза липидов и стероидов.

Аппарат Гольджи представляет собой стопку уплощенных мембранных мешочков – цистерн – и связанную с ними систему пузырьков. На одном конце стопки мешочки непрерывно образуются, на другом – отшнуровываются в виде пузырьков (пузырьки Гольджи). Многие клеточные продукты, например белки, поступают в аппарат Гольджи из эндоплазматического ретикулума, претерпевают в его цистернах модификацию (видоизменение) и в пу-

зырьках транспортируются к нужному месту клетки, например, в лизосомы или к плазматической мембране. Аппарат Гольджи участвует в выведении веществ из клетки наружу (секреции) и в образовании лизосом.

Лизосомы – простые, сферической формы мембранные мешочки, заполненные гидролитическими ферментами. Содержимое лизосом имеет кислую реакцию. Стенка мешочка состоит из одинарной мембраны. Лизосомы участвуют в переваривании поступившего в клетку извне материала и отслуживших свой срок веществ клеточных структур, а также в саморазрушении клетки (автолизе).

Пероксисомы – маленькие пузырьки, в которых протекают процессы окисления различных веществ – субстратов с участием кислорода по перекиси водорода. В пероксисомах содержится фермент пероксидаза.

Рибосомы служат местом синтеза белка, представляют собой мелкие, округлой формы органеллы, состоящие из двух субчастиц – большой и малой. Они связаны с эндоплазматическим ретикуломом, а также свободно лежат в цитоплазме; обнаруживают рибосомы в митохондриях, ядре, хлоропластах. Число рибосом в клетках бактерий достигает до 10 000; в клетках животных и растений – в несколько раз больше. Рибосомы состоят из примерно равных (по массе) количеств РНК и белка.

Митохондрии – органеллы клеток, имеющие различную форму и размеры. Митохондрии могут быть спиральными, округлыми, вытянутыми, чашевидными. Число митохондрий в клетке колеблется от нескольких десятков до нескольких тысяч. Митохондрия окружена оболочкой, состоящей из двух мембран. Наружная мембрана гладкая, а внутренняя образует многочисленные гребневидные складки – *кристы*, направленные во внутреннюю полость митохондрии. Эта полость заполнена гелеобразной массой, называемой *матриксом*. В матриксе находятся рибосомы, молекула ДНК и фосфатные гранулы. На кристах происходит синтез аденозинтрифосфата (АТФ) – универсального источника энергии для организма; в матриксе находятся ферменты, участвующие в окислительном декарбоксилировании пировиноградной кислоты, клеточном дыхании, окислительном фосфорилировании, цикле Кребса и окислении жирных кислот.

Микротельца – неправильной сферической формы органеллы, окруженные одинарной мембраной. Все микротельца содержат каталазу – фермент, катализирующий расщепление пероксида водорода. У растений в микротельцах (глиоксисомах) протекает глиоксилатный цикл.

Клеточная стенка – жесткая структура, окружающая растительную клетку, расположенная снаружи клеточной мембраны. Она обеспечивает клетке механическую опору и защиту. Химическую основу клеточной стенки составляют полисахариды – целлюлоза, пектиновые вещества, гемицеллюлозы. В клеточной стенке имеются поры, выстланные клеточной мембраной. Через клеточную стенку происходит передвижение воды и минеральных солей.

Хлоропласт – крупная пластида (органелла растительной клетки), содержащая хлорофилл, в которой протекает фотосинтез. Хлоропласт окружен оболочкой из двойной мембраны и заполнен студенистой массой – *стромой*. В строме находится система мембран, собранных в стопки, или граны, а также рибосомы, молекулы ДНК и капельки масла.

Крупная центральная вакуоль – мешок, образованный одинарной мембраной, называемой *тонопластом*. Вакуоль заполнена клеточным соком, содержащим концентрированный раствор различных веществ (минеральные соли, сахара, пигменты, органические кислоты, ферменты и другие соединения).

Таким образом, клетка представляет собой самовоспроизводящуюся химическую систему. Стабильность этой системы обеспечена тем, что она физически отделена от окружения, обладает способностью поглощать из окружающей ее среды требующиеся ей вещества и выводить наружу конечные продукты обмена. Роль барьера между данной химической системой и окружающей средой выполняет плазматическая мембрана.

Глава 2. БЕЛКИ

2.1. Общая характеристика

Впервые белком назвали часть куриного яйца, приобретающую после термической обработки белый цвет. Соединения, напоминающие по свойствам белок куриного яйца, были выделены из всех тканей как животного, так и растительного происхождения и объединены под общим названием – белковые вещества, или белки.

Белки, или *протеины* (от греч. *protos* – первый, важнейший, главный), – высокомолекулярные, азотсодержащие органические полимеры, построенные из остатков α -аминокислот.

Массовая доля белков в пересчете на сухое вещество в среднем составляет в организме животных 40–50 %, в семенах растений 10–35 %. В пересчете на свежую (сырую) ткань массовая доля белка в органах, тканях и жидкостях организма колеблется в следующих пределах: животный организм в целом 18–21 %, яйца птиц 12–14 %, молоко 2,5–5 %, семена растений 10–13 %, стебли и листья растений 1,2–3 %, корни и клубни растений 0,5–3 %, фрукты и ягоды 0,3–2 %, грибы 3–4 %.

В пересчете на сухое вещество независимо от источников получения белки содержат (в %): углерода 50–55, кислорода 21–24, азота 15–18, водорода 6,5–7,3, серы 0,3–2,5, фосфора 0–2, золы 0–0,5.

Белки – важнейшие вещества, входящие в состав живых систем. Они обладают многими свойствами и функциями, отсутствующими у других органических соединений.

Строительная (структурная) функция. Белки составляют основу цитоплазмы любой клетки, с липидами создают структуру всех клеточных мембран и органелл.

Каталитическая функция. Все катализаторы биохимических реакций, называемые ферментами, по своей химической природе являются белками. Эта функция белков является уникальной, не свойственной другим полимерным соединениям.

Двигательная функция. Любые формы движения в живой природе (сокращение и расслабление мышц, движение ресничек и

жгутиков у простейших, движение протоплазмы в клетке и т.д.) осуществляются белковыми веществами клеток.

Опорная функция. Сухожилия, суставные сочленения, кости скелета, копыта образованы в значительной мере белками.

Транспортная функция. Перенос веществ в организме осуществляется белками-переносчиками. В зависимости от характера переносимых веществ транспортную функцию можно разделить на питательную – перенос питательных веществ, дыхательную – перенос газов и выделительную – перенос конечных продуктов обмена к выделительным органам.

Защитная функция. Многие белки защищают организм от вторжения других организмов или предохраняют его от повреждений. Антитела, образующиеся в организме, – это специфические белки, обладающие способностью распознавать проникшие в организм бактерии, чужеродные белки, токсины, а затем обезвреживать их. Белки, участвующие в процессе свертывания крови, предохраняют организм от потери крови при повреждении кровеносных сосудов. Токсины многих видов организмов, защищающие их в борьбе за существование, также являются белками (змеиные яды, токсины бактерий, токсичные белки растений).

Регуляторная функция. Некоторые белки участвуют в регуляции обмена веществ в организме. Одни из регуляторных белков вырабатываются железами внутренней секреции животных и называются *гормонами*. Каждый из белков-гормонов регулирует какую-либо из сторон обмена веществ, например, обмен глюкозы, транспорт ионов кальция и фосфора. Другие регуляторные белки, называемые *репрессорами*, регулируют биосинтез ферментов в клетках. К регуляторным белкам можно отнести белковые ингибиторы ферментов.

Запасная (пищевая) функция. Семена многих растений образуют запасы белков, потребляемые как питательные вещества на первых стадиях развития зародыша. Пищевые белки имеются в яйце птиц, молоке и т.д.

Энергетическая функция. В организме человека в среднем при окислении 1 г белков выделяется 4,1 ккал (17,2 кДж).

Перечисленные функции белков не охватывают все их многообразие. Можно указать и на другие функции белков, в частности, участие их в размножении, поддержании осмотического дав-

ления, поведенческих реакций человека и животных. Через специфические белковые образования – рецепторы (зрительные, тактильные, термические, обоняния) осуществляется взаимосвязь организма с окружающей средой и т.д.

Белки представляют собой незаменимые составные части пищи человека и кормов сельскохозяйственных животных. Белки – важнейший фактор биологической и пищевой ценности мясных и молочных продуктов, хлеба, крупы, макаронных изделий. Недостаток белка в питании человека приводит к белковому голоданию и болезни. От содержания белков и их качества в кормах зависит продуктивность сельскохозяйственных животных.

Технология многих производств основана на переработке белков, изменении их свойств: в кожевенной промышленности, при выделке мехов, натурального шелка. В хлебопекарном производстве важнейшую роль играют свойства белков муки.

Белки – это органические соединения, в состав которых входит азот. Массовая доля азота в белке зависит от вида биологического объекта и составляет в белках животных тканей 16 %, молока (казеин) – 15,65 %, зерна пшеницы, ржи, ячменя, овса – 17,54 %, зерна кукурузы и гречихи – 16,67 %. По содержанию азота (определяемому методом Кьельдаля) высчитывают массовую долю белка в биологических объектах и продуктах, используя коэффициенты пересчета. Последний определяют исходя из массовой доли азота в белке. Если анализ белков, например, зерна пшеницы показал 17,54 % азота, то это значит, что в 100 г чистых белков пшеницы содержится 17,54 г азота и коэффициент пересчета массовой доли азота на белок составит: $100 : 17,54 = 5,7$.

Например, в навеске зерна пшеницы массовая доля азота составила 2 %, значит, в исследуемом зерне массовая доля белка составляет: $2 \cdot 5,7 = 11,4$ %.

В ряде случаев для вычисления массовой доли белка по азоту берут коэффициент пересчета 6,25, учитывая, что массовая доля азота в белках составляет в среднем 16 %.

Интересным является то, что все белки, существенно различающиеся по структуре, свойствам и функциям, построены из одних и тех же аминокислот.

2.2. Аминокислоты – структурные элементы белков

К настоящему времени описано около 200 природных аминокислот, выделенных из животного и растительного материала. Все природные аминокислоты делят на две группы: *протеиногенные*, или белковые (обнаружены только в белках), и *непротеиногенные*, или небелковые (в белках не обнаружены).

2.2.1. Гидролиз белков – метод определения их аминокислотного состава

При гидролизе белковые вещества распадаются до аминокислот. Гидролиз белка можно осуществить следующими методами:

– *кислотный гидролиз* – нагревание белка в растворе с концентрацией соляной кислоты 6 моль/л при 100–105 °С в течение 20–24 часов в запаянных ампулах. Обычно берут 200–500-кратное количество этого раствора кислоты к массе белка. После окончания гидролиза кислоту испаряют, смесь аминокислот промывают водой и используют для анализа. При кислотном гидролизе аминокислота триптофан полностью разрушается;

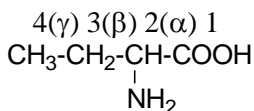
– *щелочной гидролиз* – нагревание белка в насыщенном растворе гидроксида бария или в растворе с концентрацией гидроксида натрия 2–5 моль/л при 100 °С в течение 4–8 часов (кипятят с обратным холодильником). При этом виде гидролиза большинство аминокислот разрушается, за исключением триптофана, тирозина, треонина и серина;

– *ферментативный гидролиз* – расщепление белка протеолитическими ферментами. При помощи ферментов можно произвести полный или частичный гидролиз белков. Процесс идет при температуре 37 °С, что не приводит к разрушению аминокислот. Однако ферментативный гидролиз белков до аминокислот осуществить довольно трудно.

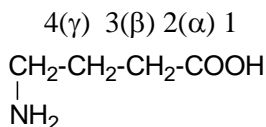
Разделение, очистку и качественную идентификацию можно производить методами хроматографического анализа.

2.2.2. Определение и стереохимия аминокислот

Аминокислоты – это органические соединения, в молекуле которых одновременно присутствуют основная аминогруппа ($-\text{NH}_2$) и кислая карбоксильная группа ($-\text{COOH}$). В соответствии с международной номенклатурой атомы углерода главной цепи нумеруют цифрами, начиная с атома углерода карбоксильной группы. В рациональной номенклатуре нумерацию начинают с атома углерода, следующего за карбоксильной группой, и используют буквы греческого алфавита:

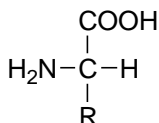


α -Аминомасляная кислота
(α -аминобутановая кислота)



γ -Аминомасляная кислота
(4-аминобутановая кислота)

Из белков при помощи гидролиза выделено 20 аминокислот, которые представляют собой карбоновые кислоты, замещенные в α -положении (или в положении 2) аминогруппой, и имеют следующую общую формулу:



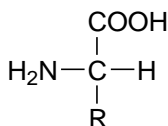
Буквой R обозначена боковая группа (радикал) (R-группа). Каждая α -аминокислота имеет специфическую R-группу.

Первая аминокислота, аспарагин (точнее амид аспарагиновой кислоты), была выделена из сока спаржи в 1806 г. Последней из 20 обнаруженных в белках аминокислот был треонин, который идентифицировали в 1935 г.

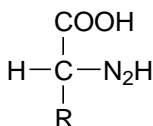
Аминокислоты, входящие в состав белков, называют стандартными, протеиногенными или нормальными. Каждая из них имеет тривиальное название и условное сокращенное обозначение. Все стандартные аминокислоты, кроме глицина, содержат асимметрич-

ный атом углерода в α -положении (атом углерода, с которым связаны четыре разные замещающие группы) и, следовательно, оптически активны. Они способны вращать плоскость поляризованного луча света в разные стороны, существовать в виде пары энантиомеров D и L, относящихся друг к другу как предмет и его зеркальное изображение (или как правая и левая рука).

Заглавные буквы D и L указывают на конфигурацию молекулы. Расположение аминогруппы справа от оси COOH—R соответствует D-аминокислоте, слева – L-аминокислоте:

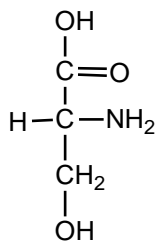


L-аминокислота

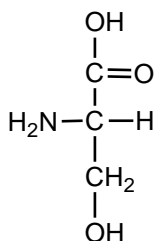


D-аминокислота

Направление вращения плоскости поляризации света обозначают знаком «+» – вращение вправо (по часовой стрелке) и знаком «-» – вращение влево (против часовой стрелки):



D(+)-серин



L(-)-серин

Знак и величина оптического вращения зависят от природы растворителя, реакции среды, наличия в растворе солей и от природы боковой цепи (R-группы).

В состав белков входят только аминокислоты L-ряда. При гидролизе белков в мягких условиях аминокислоты сохраняют свою оптическую активность. Аминокислоты, присутствующие в организме животных и растений в свободном виде, также принадлежат к L-ряду. D-аминокислоты встречаются в природе очень

редко и обнаружены в составе некоторых микроорганизмов и пептидных антибиотиков.

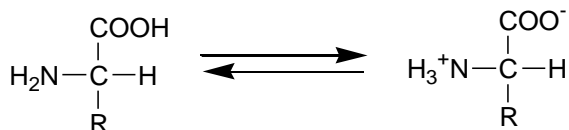
Аминокислоты D-ряда не усваиваются животными и растениями, поскольку ферментные системы этих организмов приспособлены к L-аминокислотам, но окисляются в пероксисомах.

2.2.3. Физико-химические свойства аминокислот

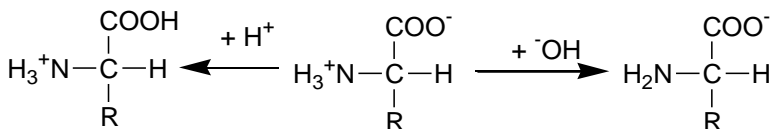
Аминокислоты представляют собой белые кристаллические вещества, хорошо растворимые (за некоторым исключением) в воде, аммиаке и других полярных растворителях; в неполярных и слабополярных растворителях (метанол, этанол, ацетон) растворяются плохо.

Большинство D-аминокислот обладает сладким вкусом, а L-аминокислоты безвкусные или горькие.

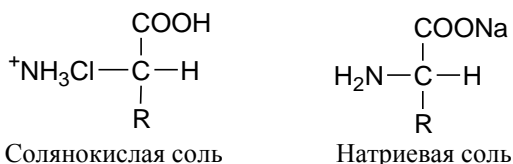
В водных растворах все α -аминокислоты существуют в виде биполярных ионов (цвиттер-ионов) с диссоциированной карбоксильной группой и протонированной аминогруппой:



В зависимости от pH среды аминокислоты могут быть в форме катионов, анионов, электронейтральных биполярных ионов или смеси этих форм, одна из которых обычно доминирует. Заряд молекулы аминокислоты изменяется под воздействием pH окружающей среды. Значение pH среды, при которой аминокислоты электронейтральны, называется изоэлектрической точкой (ИЭТ). В кислой среде относительно ИЭТ молекула приобретает положительный заряд, в щелочной – отрицательный:



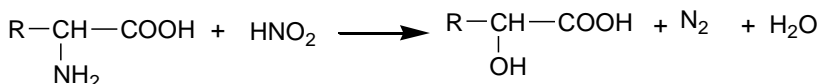
Аминокислоты – амфотерные соединения. Вследствие амфотерности аминокислоты в зависимости от состава раствора могут реагировать с кислотами и основаниями, образуя соответствующие соли:



Благодаря амфотерности аминокислоты являются буферными веществами, выполняющими важную функцию регулирования рН в организме.

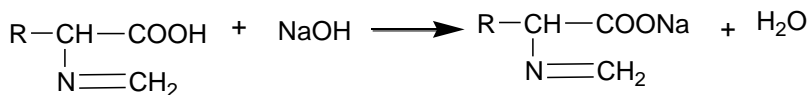
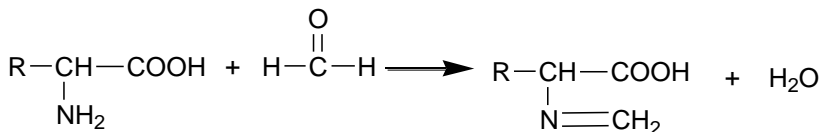
Аминокислоты вступают в реакцию как по карбоксильной группе, так и по аминогруппе.

Аминогруппа может реагировать с азотистой кислотой и формальдегидом. При взаимодействии аминокислот с азотистой кислотой образуется соответствующая оксикислота, азот и вода:



Измерение объема выделенного при этой реакции азота положено в основу количественного определения аминокислот.

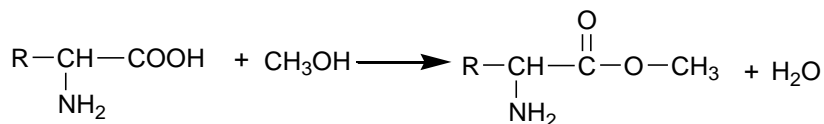
При взаимодействии аминокислот с формальдегидом образуются метиленовые соединения, в составе которых усиливаются кислотные свойства карбоксильной группы, что позволяет титровать их щелочами.



Эта реакция лежит в основе метода формольного титрования при количественном определении аминокислот по Серенсену.

Все α -аминокислоты реагируют с нингидрином (трикетогидринденгидратом) с образованием продукта, окрашенного в сине-фиолетовый цвет. Эта реакция применяется для точного определения очень маленьких количеств аминокислот.

За счет карбоксильной группы аминокислоты реагируют со спиртами, образуя сложные эфиры:



Эту реакцию используют для разделения и определения аминокислот путем фракционной перегонки их эфиров в вакууме.

Аминокислоты могут вступать в реакцию с соединениями, содержащими карбонильную группу ($>\text{C}=\text{O}$), например с восстанавливающими сахарами и альдегидами.

В результате этой реакции из аминокислоты образуются соответствующий альдегид, аммиак и диоксид углерода, а из сахара – фурфурол или оксиметилфурфурол. Образующиеся альдегиды обладают определенным запахом, от которого зависит аромат пищевых продуктов. Фурфурол и оксиметилфурфурол легко вступают в соединение с аминокислотами, образуя темноокрашенные соединения – *меланоидины*. Особенно интенсивно реакция между аминокислотами и восстанавливающими сахарами происходит при повышенных температурах, имеющих место при сушке овощей, фруктов, молока и солода, при упаривании сахарных сиропов, выпечке хлеба и изготовлении кондитерских изделий, самосогревании зерна, обработке вина теплом.

Реакция образования меланоидинов может происходить при взаимодействии сахаров с белками.

2.2.4. Структура и классификация аминокислот

Протеиногенные аминокислоты, обнаруженные в белках, можно классифицировать по разным признакам:

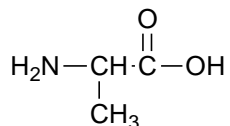
– по полярности радикалов в зависимости от соотношения электроотрицательности атомов функциональных групп, входящих в их состав, определяющих способность к взаимодействию с водой;

- строению радикалов;
- количеству и соотношению аминных и карбоксильных групп;
- положению изоэлектрической точки;
- биологической ценности.

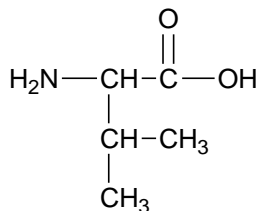
По полярности радикалов α -аминокислоты делят на четыре группы: с неполярными (гидрофобными) R-группами, полярными незаряженными R-группами, отрицательно заряженными R-группами и положительно заряженными R-группами. Рассмотрим строение аминокислот этих групп.

1. *Аминокислоты с неполярными (гидрофобными) радикалами.* В эту группу входит восемь аминокислот.

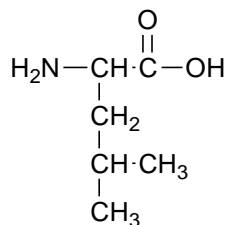
1. Аланин, ала (α -аминопропионовая кислота):



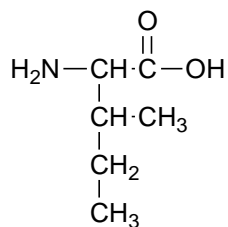
2. Валин, вал (α -амино- β -метилмасляная кислота):



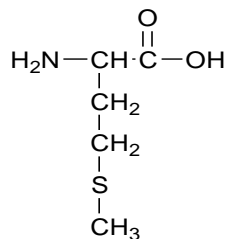
3. Лейцин, лей (α -амино- γ -метилвалериановая кислота):



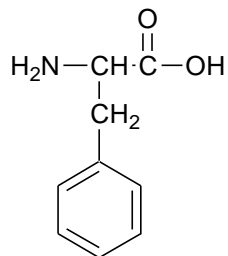
4. Изолейцин, иле (α -амино- β -метилвалериановая кислота):



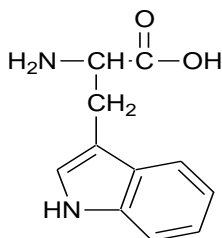
5. Метионин, мет (α -амино- γ -метилтиомасляная кислота):



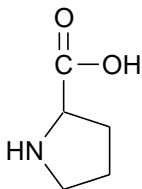
6. Фенилаланин, фено (α -амино- β -фенилпропионовая кислота):



7. Триптофан, три (α -амино- β -индолилпропионовая кислота):



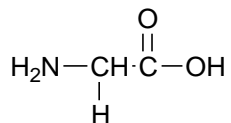
8. Пролин, про (пирролидинкарбоновая кислота):



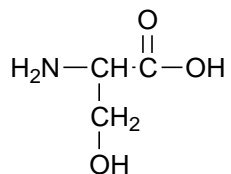
Гидрофобные радикалы разной формы, величины, объема играют важную роль в формировании третичной и четвертичной структуры молекулы белка и их стабилизации силами гидрофобного взаимодействия, так как молекулы воды, образуя между собой водородные связи, а также вступая во взаимодействие с гидрофильными (полярными) группами молекул белка, выталкивают гидрофобные группы, заставляют их собираться внутри структуры и уплотняться. Часть радикалов может располагаться снаружи молекулы, образуя гидрофобные зоны или участки, за счет которых белки взаимодействуют между собой и с другими гидрофобными соединениями, например липидами.

2. *Аминокислоты с полярными (гидрофильными) незаряженными радикалами.* В эту группу входят пять аминокислот и два амида.

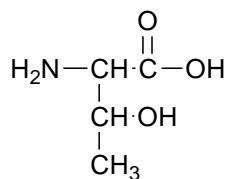
1. Глицин, гли (аминоуксусная кислота):



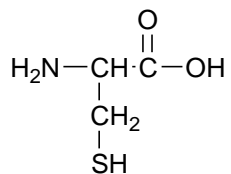
2. Серин, сер (α -амино- β -гидроксипропионовая кислота):



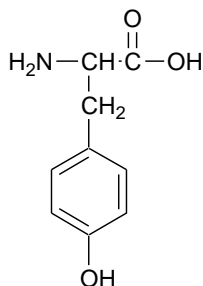
3. Треонин, тре (α -амино- β -гидроксимасляная кислота):



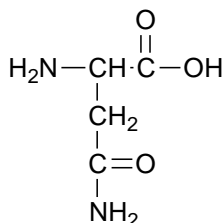
4. Цистеин, цис (α -амино- β -тиопропионовая кислота):



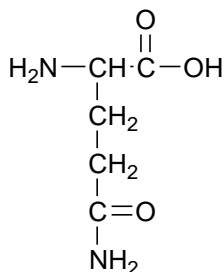
5. Тирозин, тир (α -амино- β -парагидроксибензилпропионовая кислота):



6. Аспарагин, асп (β -амид аспарагиновой кислоты, или полуамид α -аминоянтарной кислоты):



7. Глутамин, глн (γ -амид глутаминовой кислоты, или полуамид α -аминоглутаровой кислоты):



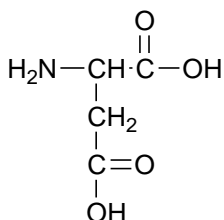
Полярность серина, треонина, тирозина обусловлена их гидроксильными группами. Полярность аспарагина и глутамина обусловлена их амидными группами, цистеина – сульфгидрильной группой.

Цистеин участвует в образовании дисульфидной связи. Сульфгидрильные группы двух молекул, сближаясь, окисляются с образованием дисульфидной связи, которая участвует в формировании первичной и стабилизации третичной структуры белка.

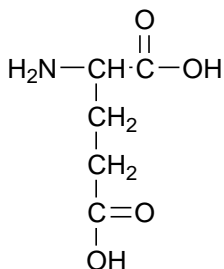
Полярные незаряженные радикалы остатков аминокислот, сближаясь при формировании третичной и четвертичной структуры белка, образуют внутримолекулярные водородные связи. Оставаясь свободными, они образуют водородные связи с другими органическими и неорганическими молекулами, в том числе и воды.

3. *Аминокислоты с отрицательно заряженными (кислыми) радикалами.* В эту группу входят моноаминодикарбоновые аминокислоты, содержащие две карбоксильные группы, диссоциирующие с образованием протонов водорода H^+ и при pH 7,0 несущие суммарный отрицательный заряд.

1. Аспарагиновая кислота, асп (α -аминоянтарная кислота):



2. Глутаминовая кислота, глут (α -аминоглутаровая кислота):



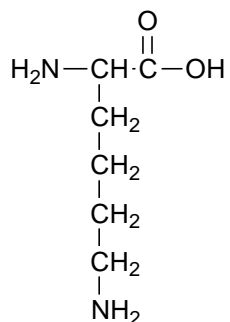
Карбоксильные группы радикалов аспарагиновой и глутаминовой кислот способны амидироваться с образованием аспарагина и глутамина. Это свойство кислых аминокислот имеет боль-

шое значение в обезвреживании аммиака и обмене азота у всех организмов.

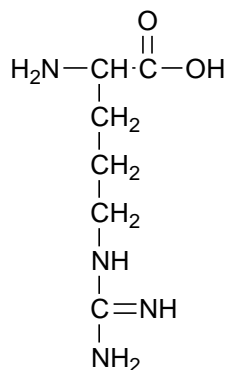
Белки, в которых преобладают аминокислоты с отрицательно заряженными радикалами, имеют суммарный отрицательный заряд молекулы и называются *кислыми*. Они преобладают в живых организмах.

4. *Аминокислоты с положительно заряженными (основными) радикалами*. К этой группе относят три аминокислоты.

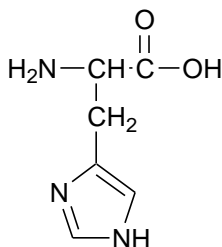
1. Лизин, лиз (α, ϵ -диаминокапроновая кислота):



2. Аргинин, арг (α -амино- δ -гуанидинвалериановая кислота):



3. Гистидин, гис (α -амино- β -имидазолпропионовая кислота):



Положительный заряд радикалов обусловлен способностью к протонированию ϵ -аминогруппы лизина, гуанидиновой и имидазольной групп аргинина и гистидина.

Классификация аминокислот по строению радикалов включает следующие группы.

1. *Ациклические, или алифатические* (аланин, валин, лейцин, метионин, глицин, серин, треонин, цистеин, аспарагин, глутамин, аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота, лизин, аргинин).

2. *Циклические:*

а) гомоциклические (фенилаланин, тирозин);

б) гетероциклические (пролин, триптофан, гистидин).

3. *Гидроксиаминокислоты* (серин, треонин, тирозин).

4. *Серосодержащие* (цистеин, метионин).

5. *Ароматические* (фенилаланин, тирозин, триптофан).

6. *Иминокислоты* (пролин, аргинин, гистидин).

По числу аминных и карбоксильных групп выделяют следующие группы.

1. *Моноаминомонокарбоновые* (нейтральные): аланин, валин, лейцин, изолейцин, метионин, фенилаланин, триптофан, пролин, глицин, серин, треонин, цистеин, тирозин, аспарагин, глутамин.

2. *Диаминомонокарбоновые* (основные): лизин, аргинин, гистидин.

3. *Моноаминодикарбоновые* (кислые): аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота.

Классификация аминокислот по биологической ценности включает три группы.

1. *Незаменимые (жизненно необходимые) аминокислоты.* В организме человека не синтезируются и должны поступать с пищей. Растения (продуценты) синтезируют все аминокислоты. Для взрослого человека (консумента) существует восемь незаменимых аминокислот: валин, лейцин, изолейцин, лизин, метионин, треонин, триптофан, фенилаланин. Недостаток в пище таких аминокислот приводит к задержке роста, расстройству биосинтеза белков, возникновению заболеваний и т.д.

2. *Полузаменимые (условно незаменимые) аминокислоты.* К ним относятся аргинин и гистидин. Механизм их биосинтеза в организме человека есть, но в детском возрасте их синтезируется в недостаточном количестве.

3. *Заменимые аминокислоты.* В организме человека синтезируются. К ним относятся: аланин, пролин, глицин, серин, цистеин, тирозин, аспарагин, глутамин, аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота.

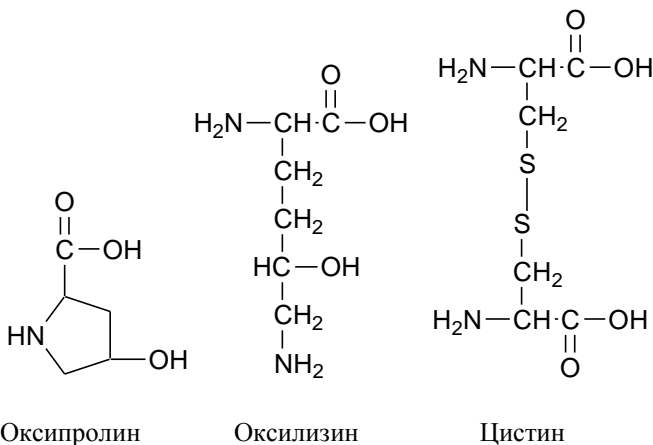
С понятиями заменимые и незаменимые аминокислоты связаны понятия *полноценные* и *неполноценные белки*. *Полноценными* называют белки, содержащие все незаменимые аминокислоты. Белки, не содержащие хотя бы одну незаменимую аминокислоту, называют *неполноценными*. Например, триптофан отсутствует в желатине, зеине кукурузы, белках яблок.

На основании аминокислотного состава суммарного белка определенного пищевого продукта можно говорить лишь о его меньшей или большей биологической ценности. *Биологическая ценность белка* – это интегральный показатель, который определяется качеством (аминокислотным составом) и количеством белка в рационе, перевариваемостью белка в желудочно-кишечном тракте, скоростью всасывания аминокислот и последующим использованием их на нужды организма. Высокую биологическую ценность имеют белок куриного яйца и белок молока. Эти белки содержат незаменимые аминокислоты не только в достаточном количестве, но и в необходимом для человека соотношении. Если принять биологическую ценность белков молока или яйца (их называют идеальными белками) за 100 %, то для белков мяса и рыбы она будет составлять в среднем 90–95 %, белков клубней картофеля – 85 %, белков бобовых культур – 75–85 %, белков пшеницы и ячменя – 60–70 %. Низкая ценность многих белков

связана с небольшим содержанием в них незаменимых аминокислот, т.е. лимитирующих (главным образом лизина, метионина, триптофана и треонина).

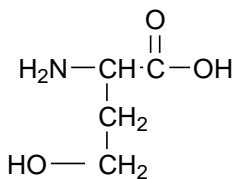
2.2.4.1. Нестандартные (редкие) аминокислоты

Нестандартные (редкие) аминокислоты содержатся не во всех белках. Представляют собой производные некоторых стандартных аминокислот; образуются путем модификации соответствующих стандартных аминокислот после того, как они были включены в полипептидную цепь. В триплетном коде ДНК нет кодонов (троек нуклеотидов) для редких аминокислот. К таким аминокислотам относятся 4-оксипролин, 4-оксилизин, цистин:

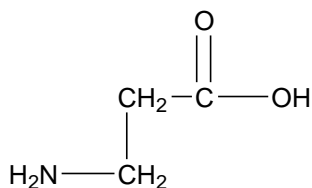


2.2.4.2. Небелковые аминокислоты

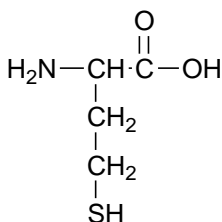
Из животных, растений и микроорганизмов выделено свыше 150 аминокислот, которые существуют в клетке в свободном или связанном виде, но никогда не обнаруживаются в составе белков. Многие из этих аминокислот участвуют в качестве промежуточных продуктов в различных реакциях обмена веществ или служат предшественниками других соединений. Приводим химическое строение некоторых из них:



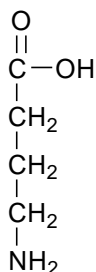
Гомосерин



β -Аланин



Гомоцистеин



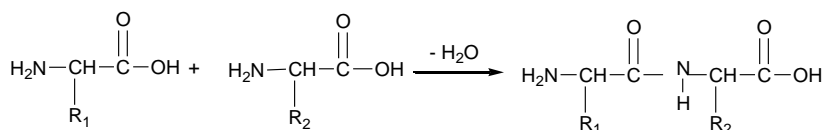
γ -Аминомасляная кислота

2.3. Строение и пространственная структура белков

2.3.1. Химические связи в молекуле белка

В молекулах белков имеются следующие типы связей: пептидные, дисульфидные, водородные, ионные (солевые), гидрофобное взаимодействие.

Пептидная связь. Образуется в результате реакции конденсации между двумя молекулами α -аминокислот, в результате которой выделяется молекула воды, образующаяся за счет аминогруппы предыдущей аминокислоты и карбоксильной группы последующей аминокислоты. Возникающая ковалентная азот-углеродная ($-\text{CO}-\text{NH}-$) связь называется *пептидной* (амидной) связью:



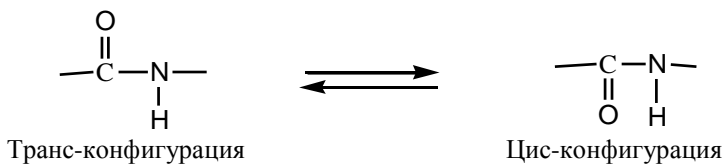
Образование пептидной связи в белках происходит только за счет взаимодействия α -аминогруппы и карбоксильной группы α -аминокислот. Соединение, образованное в результате реакции конденсации двух α -аминокислот, называют *дипептидом*. На одном конце его молекулы находится свободная α -аминогруппа, а на другом – свободная карбоксильная группа, за счет которой дипептид может вступать в реакцию конденсации с новой молекулой α -аминокислоты и, образуя пептидную связь, превращается в трипептид и т.д.

Аминокислотные звенья, входящие в состав пептида, называют *аминокислотными остатками*.

Исследованиями Л. Полинга и Р. Кори было показано, что пептидная связь имеет характер частично двойной связи (промежуточной между простой и двойной), поэтому вокруг нее не может происходить свободного вращения:

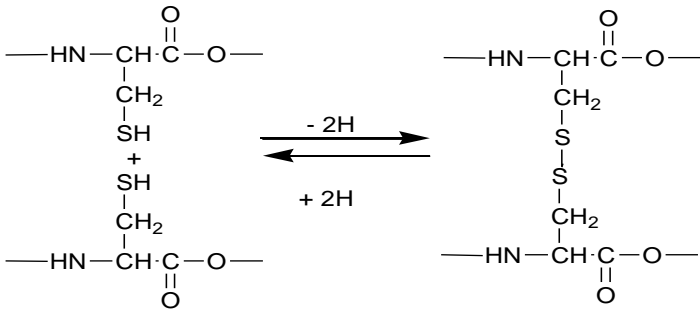


В результате все четыре атома пептидных групп лежат в одной плоскости, причем кислород СО-группы и водород NH-группы могут находиться относительно пептидной связи в цис- или транс-конфигурации, из которых только транс-конфигурация встречается в белках и природных пептидах:



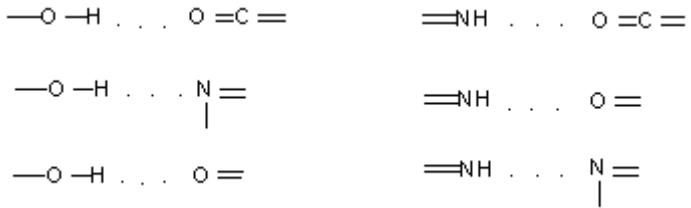
Жесткий плоскостной (планарный) характер пептидных связей имеет важное значение для структуры белков.

Дисульфидная связь. Прочная ковалентная связь, образующаяся в результате окисления SH-групп двух рядом расположенных молекул цистеина:



Дисульфидные связи образуются как между разными полипептидными цепями, так и между различными участками одной и той же полипептидной цепи.

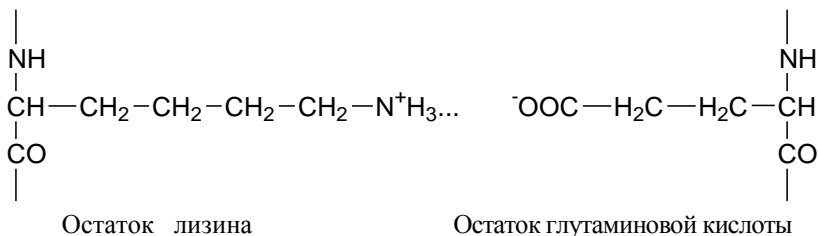
Водородная связь. Особый вид химической связи, в которой атом водорода, ковалентно связанный с одним из электроотрицательных атомов, образует дополнительную связь с соседним электроотрицательным атомом, имеющим направленную вдоль линии этой связи неподеленную пару электронов. В биологических системах электроотрицательными атомами, участвующими в образовании водородных связей, являются кислород и азот. Известно несколько типов водородных связей:



Различают межмолекулярные и внутримолекулярные водородные связи.

Ионная (солевая) связь. В молекуле белков ионная связь возникает между ионизированными при определенных значениях pH аминной и карбоксильной группами.

Кроме того, ионная связь образуется при взаимодействии положительно и отрицательно заряженных групп аминокислот с заряженными радикалами и NH₂ и COOH-группами свободных концов полипептидных цепей:



Ионные связи легко разрываются при изменении pH среды.

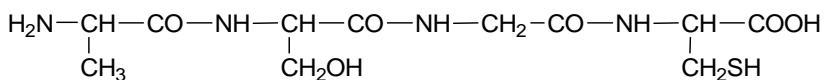
Гидрофобные взаимодействия. Представляют собой слабые межмолекулярные силы, действующие только между неполярными молекулами (радикалами) только в водной среде. В молекуле белка содержатся гидрофобные (неполярные) участки – представленные углеводородными радикалами аминокислот и гидрофильные (полярные) группы –COOH, –NH₂, –OH и др. Попадая в воду, полярные группы молекул белков под воздействием диполей воды (H⁺OH⁻) «вытягиваются» наружу, за счет чего гидрофобные участки оказываются сосредоточенными чаще всего внутри молекулы белка, занимая «вынужденное» пространственное положение как относительно друг друга, так и относительно гидрофильных участков. Такое их состояние и лежит в основе гидрофобных взаимодействий.

2.3.2. Пептиды

Аминокислоты, соединяясь друг с другом пептидными связями, образуют пептиды. По числу аминокислотных остатков, содержащихся в пептиде, различают ди-, три-, тетра-, ... нона-, декапептиды и т.д. Пептиды, в молекулах которых меньше 10 аминокислотных остатков, условно относят к *олигопептидам*; пептиды, построенные из большего числа аминокислотных остатков (до 50), – к *полипептидам*.

Названия отдельных пептидов составляют следующим образом: аминокислоты, карбоксильные группы которых участвуют в образовании пептидных связей, рассматриваются как ацильные радикалы и приобретают окончание «-ил»; аминокислота (последняя), карбоксильная группа которой в реакции не участвует, сохраняет свое первоначальное название. Например, пептид, состоящий

из остатков аланина, серина, глицина и цистеина, носит название аланил-серил-глицил-цистеин (сокращенно: ала-сер-гли-цис):



Ала-сер-гли-цис

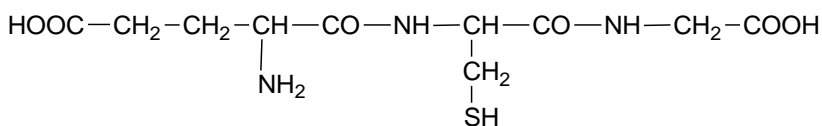
В формулах линейных пептидов аминокислота со свободной α -аминогруппой называется *N-концевой аминокислотой*; в горизонтально изображенной пептидной цепи она стоит слева (в начале полипептидной цепи). Аминокислота со свободной карбоксильной группой обозначается как *S-концевая аминокислота* (конец полипептидной цепи).

Пептиды различной длины образуются при неполном гидролизе полипептидных цепей белков. Пептиды широко распространены в природе. Они присутствуют в организме как свободные соединения, обладают высокой биологической активностью. Служат гормонами, некоторые представлены сильнейшими ядами (яды змей, жаб, насекомых, высших грибов, микроорганизмов), антибиотиками (химические вещества, вырабатываемые одними микроорганизмами и «убивающие» другие микроорганизмы), регуляторами клеточного деления, регуляторами психической деятельности, переносчиками молекул и ионов через клеточные мембраны и др.

Отдельные свободные пептиды содержат аминокислоты и связи, не встречающиеся в белках.

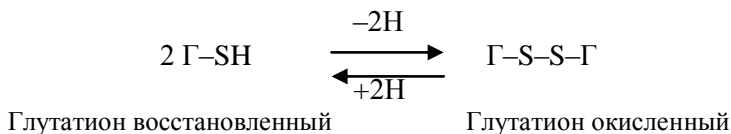
Например, *глутатион* (γ -глутаминил-цистеил-глицин – γ -глутис-гли) – внутриклеточный трипептид, обнаруженный в клетках животных, растений, в грибах и микроорганизмах. Его содержание особенно высоко в зародышах семян пшеницы и дрожжах.

Глутатион состоит из остатков глутаминовой кислоты, цистеина и глицина:



Глутатион

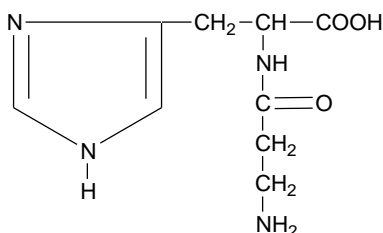
Приведенная формула соответствует восстановленному глутатиону (SH-глутатион). В клетках наряду с восстановленным глутатионом всегда присутствует окисленный глутатион (–S–S-глутатион), состоящий из двух молекул восстановленного глутатиона, соединенных дисульфидной –S–S-связью:



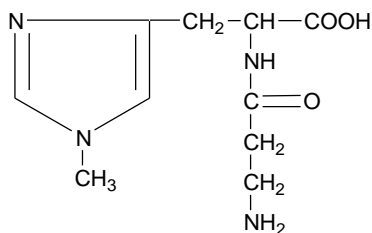
Восстановление окисленного глутатиона происходит за счет источников водорода, вырабатываемых в процессе обмена веществ в организме.

Глутатион – сильный внутриклеточный восстановитель, его основная функция состоит в том, чтобы защитить SH-группы белков от окисления и тем самым сохранить биологическую функцию белков. Глутатион выполняет специфическую роль при восстановлении пероксида водорода и аскорбиновой кислоты, служит небелковой группой отдельных белков – ферментов, играет определенную роль в транспорте аминокислот через мембрану клеток, активирует протеолитические ферменты.

Карнозин и ансерин – имидазолсодержащие дипептиды, входящие в группу так называемых экстрактивных азотистых веществ скелетных мышц:



Карнозин (β-аланил-L-гистидин)



Ансерин (β-аланил-L-метилгистидин)

Биологическая функция этих дипептидов окончательно не выяснена; считают, что они способны восстанавливать работоспособность утомленных скелетных мышц.

2.3.3. Полипептидная теория строения белков

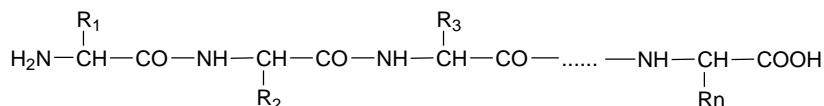
Первая теория строения белков – *теория протейна* – была предложена голландским химиком и врачом Г.Я. Мульдером в 1836 г. В последующие годы было предложено еще несколько разнообразных теорий строения белков, но лишь одна из них – *полипептидная теория строения белков*, предложенная немецким химиком Э. Фишером в 1902 г., выдержала испытание временем.

Одна из теорий строения белка – *теория элементарных рядов* – была обоснована в 1888–1891 гг. А.Я. Данилевским. По А.Я. Данилевскому, белковая частица состоит из нескольких десятков цепей, названных «элементарными рядами». Соединение этих рядов друг с другом может происходить с образованием связей двух типов: во-первых, в результате взаимодействия двух карбоксильных групп и, во-вторых, в результате взаимодействия аминогрупп и карбоксильных групп. Элементарные ряды А.Я. Данилевского не являются аминокислотами.

Допущенные возможности «полимеризации» элементарных рядов с образованием связи –NH–CO– послужили причиной того, что А.Я. Данилевского называют предшественником Э. Фишера в открытии пептидной связи.

Согласно пептидной теории основой структуры белковой молекулы является полипептидная цепь, которая построена из нескольких десятков, а иногда и сотен остатков аминокислот, связанных между собой пептидными связями.

Полипептидная цепь в общей форме:



Граница между полипептидами и белками проведена условно. К белкам относят полипептиды с молекулярной массой 6 тысяч и более и числом аминокислотных остатков свыше

50. Такой принцип деления основан на способности к диализу через природные полупроницаемые мембраны.

Характерной особенностью строения полипептидной цепи является то, что атомы углерода и азота в ее остове (основе, хребте), образованном из чередующихся пептидных связей и α -метильных групп ($-\text{NH}-\text{CH}-\text{CO}$ -фрагментов), располагаются приблизительно в одной плоскости. Радикалы аминокислотных остатков направлены к этой плоскости под углом $109^{\circ}28'$. При этом радикалы соседних аминокислотных остатков находятся в транс-положении друг относительно друга. Это стабилизирует молекулу белка и делает ее более устойчивой.

Любая полипептидная цепь (в белках и полипептидах) имеет N-концевую и C-концевую аминокислоты. Разработаны методы определения N- и C-концевых аминокислот. Это важно для установления числа полипептидных цепей, входящих в состав белковой молекулы.

Полипептидная цепь белка не содержит разветвлений. Это объясняется тем, что в белках пептидные связи образуются только за счет взаимодействия α -аминогруппы одной (предыдущей) аминокислоты и карбоксильной группы другой (последующей) аминокислоты.

Белковая молекула может состоять из одной или нескольких полипептидных цепей, которые соединены между собой ковалентными или нековалентными связями. Белки, состоящие из двух или нескольких полипептидных цепей, не связанных между собой ковалентными связями, называют *олигомерными*. Отдельные полипептидные цепи в таких белках называют *протомерами*, а их функционально активные части – *субъединицами*.

Радикалы аминокислотных остатков полипептидных цепей структурно и функционально многолики. Они могут быть маленькими (глицин и аланин) или большими (триптофан и лейцин), полярными и неполярными, заряженными и незаряженными. В радикалах находятся аминные, карбоксильные, гидроксильные, фенольные, тиольные, дисульфидные, амидные, метильные, имидазольные и другие функциональные группы. Разнообразие функциональных групп обеспечивает белкам полифункциональные свойства (разнообразие реакций, в которых участвуют белки).

Таким образом, молекулы белка представляют уникальную полипептидную цепь со специфической последовательностью аминокислотных остатков.

2.3.4. Пространственная структура белковой молекулы

Молекулы многих органических соединений могут принимать множество различных конформаций (пространственных укладок).

Полипептидная цепь нативного белка (белка, сохранившего структуру, присущую ему в живой клетке) в нормальных (естественных) биологических условиях: оптимальные температура, рН, давление и т.д. имеет, как правило, одну *конформацию*, называемую *нативной* (натуральной, естественной), отличающуюся достаточной устойчивостью. Если выделение белка проводить осторожно, избегая воздействий, приводящих к разворачиванию цепей (денатурации), то выделенный белок полностью сохраняет свою биологическую активность. Стабильность нативной конформации обусловлена отсутствием свободного вращения вокруг пептидной связи в нативных белках.

Универсальным методом изучения пространственной организации белковой молекулы является рентгеноструктурный анализ. На основании рентгеноструктурного анализа и других методов исследования белков получено подтверждение о существовании первичной, вторичной, третичной и четвертичной структур.

Первичная структура определяется числом и последовательностью расположения аминокислотных остатков, образующих полипептидную цепь молекулы белка. Для первичной структуры характерны только ковалентные связи (пептидная и дисульфидная), поэтому ее обозначают как ковалентную структуру.

Между первичной структурой и функцией белка у данного организма существует самая тесная связь. Для того чтобы белок выполнял свойственную ему функцию, необходима совершенно определенная последовательность аминокислот в полипептидной цепи этого белка.

Исследования показали, что *первичная структура белков задана генетически*. Поэтому гомологичные, выполняющие одни и

те же функции белки у разных видов животных или растений в отдельных участках полипептидной цепи могут иметь неодинаковую последовательность аминокислот.

Например, известна первичная структура цитохрома С более чем у 30 видов организмов. У всех этих видов его молекула состоит из одной полипептидной цепи, содержащей 104 аминокислотных остатка. Из них 35 у всех видов совершенно идентичны, а остальные заменяются в большей или меньшей степени в зависимости от физиологических различий между отдельными организмами. Например, молекулы цитохрома С лошади и дрожжей различаются по 48 аминокислотным остаткам, утки и курицы – по двум, а молекулы цитохрома С курицы и индейки идентичны. Таким образом, первичная структура гомологичных белков может быть использована в качестве критерия для установления родства между отдельными видами.

Первичная структура не объясняет всех свойств белка, но определяет дальнейшую пространственную укладку молекулы белка.

Под вторичной структурой белковой молекулы подразумевают ту или иную конфигурацию, характерную для одной или нескольких полипептидных цепей, входящих в состав молекулы. Преобладающими способами укладки полипептидной цепи являются α -спираль и β -структура.

α -Спираль (спираль Л. Полинга и Р. Кори) стабилизирована водородными связями, образующимися между находящимися рядом СО- и NH-группами пептидных связей данной полипептидной цепи. При этом кислород каждой СО-группы образует водородную связь с водородом NH-группы четвертой по ходу цепи аминокислоты. Благодаря α -спирали белковая молекула напоминает растянутую пружину. Один виток спирали включает 3,6 аминокислотных остатка (11 атомов полипептидной цепи), высота одного витка по оси (шаг спирали) $\approx 0,54$ нм, внутренний диаметр спирали 1,01 нм. Водородные связи приблизительно параллельны оси спирали (рис. 2.1).

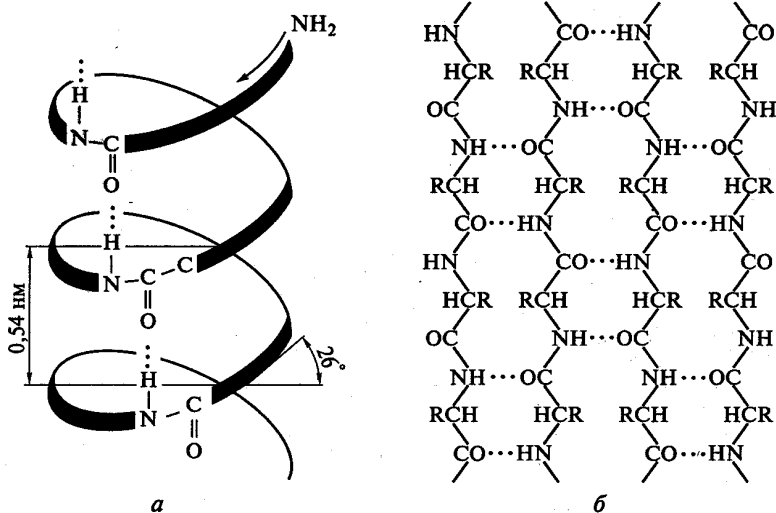


Рис. 2.1. Схема α -спирали (а) и β -структуры (б) молекулы белка

Теоретически все CO- и NH-группы могут участвовать в образовании водородных связей, стабилизирующих α -спираль. Однако степень спирализации белка сильно варьирует. Например, полипептидные цепи гемоглобина спирализованы на 75 %, инсулина – на 60 %, рибонуклеазы – на 57 %, лизоцина белка куриного яйца – на 42 %, пепсина – на 30 %. Основная причина нарушения регулярности спирализации – образование дисульфидных связей, которые скрепляют отдельные точки спирали и могут соединять между собой несколько спиралей. В местах образования дисульфидных связей создается напряжение, ослабляющее водородные связи и нарушающее спиральную структуру.

β -Структура (или структура складчатого листа) стабилизирована водородными связями, возникающими между CO- и NH-группами прилегающих друг к другу различных полипептидных цепей или различных участков одной и той же полипептидной цепи. В пространственном представлении β -структура обнаруживает складчатость, причем радикалы аминокислотных остатков стоят попеременно с разных сторон складчатого листа. В зависимости от взаимного положения атомов в разных цепях или участках одной

цепи возможно существование двух типов складчатого листа. Если обе цепи направлены в одну сторону (синхронно друг другу), то такое расположение называют параллельным; если цепи направлены в противоположные стороны – антипараллельным.

Исследования белков с известной первичной и вторичной структурами показали, что если на участке полипептидной цепи чаще встречаются радикалы метионина, валина и изолейцина, то образуется β -структура. Установлено также, что радикалы глицина, пролина и аспарагина обычно расположены в местах изгибов полипептидной цепи, с которых начинается формирование складчатой структуры (см. рис. 2.1).

В зависимости от характера вторичной структуры все белки можно разделить на три группы. К первой относятся белки, у которых преобладает спиралевидная структура. Например, гемоглобин и миоглобин имеют вторичную структуру преимущественно в виде α -спиралей. Во вторую группу входят белки, молекулы которых полностью упакованы по типу β -структур. К ним можно отнести растительный белок семян канавалии – канавалин А. Третья группа включает белки со смешанной вторичной структурой, у которых в составе одной и той же полипептидной цепи имеются участки, структурированные как в виде α -спиралей, так и по типу β -структур. Смешанную вторичную структуру имеют белки: папаин, гексокиназа, карбоксипептидаза, фосфоглицераткиназа и др.

Третичная структура – полная укладка молекулы белка, основанная на взаимодействии групп, далеко отстоящих друг от друга вдоль цепи, приводящая к формированию полной трехмерной структуры. В стабилизации третичной структуры участвуют водородные связи (между пептидными группами, радикалами аминокислотных остатков), ионные, дисульфидные связи, гидрофобное взаимодействие (рис. 2.2).

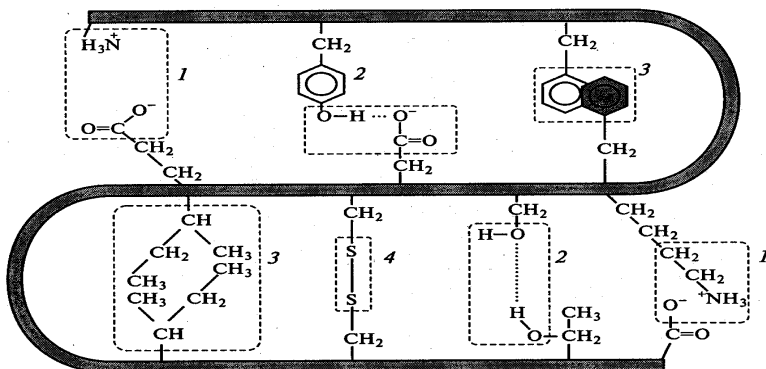


Рис. 2.2. Типы связей, образующиеся между радикалами аминокислот при формировании третичной структуры белка:
 1 – ионная связь; 2 – водородная связь; 3 – гидрофобные взаимодействия;
 4 – ковалентная (дисульфидная) связь

Важное значение в формировании третичной структуры белковой молекулы имеют последовательность аминокислотных остатков полипептидной цепи, размер, форма и полярность радикалов аминокислотных остатков. При формировании третичной структуры большая часть гидрофобных радикалов располагается внутри белковой молекулы; полярные (гидрофильные) радикалы локализуются на ее поверхности. Таким образом, поверхность молекулы белка преимущественно гидрофильная.

Взаимодействие белков с другими молекулами (липидов, других белков) возможно за счет существования на гидрофильной поверхности их молекул негидратированных участков.

Третичная структура многих белков составлена из нескольких компактных фрагментов, называемых *доменами*. Домены представляют собой структурные и функционально обособленные фрагменты молекулы белка, соединенные друг с другом вытянутыми короткими участками полипептидной цепи, называемыми *шарнирными* участками. Под воздействием протеолитических ферментов (протеаз) в первую очередь расщепляются пептидные связи, расположенные в этих участках, тогда как отдельные домены могут быть достаточно устойчивы к протеолиту.

Первыми белками, у которых была установлена третичная структура, являются миоглобин мышц кашалота и гемоглобин крови лошади. Молекула гемоглобина состоит из четырех полипептидных цепей, молекула миоглобина – из одной полипептидной цепи. Исследование по установлению структур гемоглобина проводил М. Перуц с 1936 по 1959 г., по установлению пространственной структуры миоглобина – Д. Кендрию с 1946 по 1957 г. В 1962 г. М. Перуцу и Д. Кендрию была присуждена Нобелевская премия по химии за исследование структуры глобулярных белков.

Четвертичная структура. Белки, имеющие молекулярную массу более 50 тыс. и состоящие из двух и более отдельных полипептидных цепей, называются *олигомерными*. Ранее указывалось, что отдельные полипептидные цепи в таких белках называют *протомерами*, а функциональные части – *субъединицами*. Субъединицы могут состоять из одной или более полипептидных цепей. Каждая из полипептидных цепей, образующих субъединицу, характеризуется своей первичной, вторичной и третичной структурами.

Наиболее часто в составе олигомерных белков содержатся 2 или 4 протомера, реже – от 6 до 12 или 24 и в очень редких случаях их число может быть нечетным. Между собой отдельные протомеры соединяются водородными, ионными, гидрофобными и другими нековалентными связями.

Четвертичная структура показывает расположение в пространстве отдельных протомеров олигомерного белка друг относительно друга. Способ совместной упаковки и укладки в пространстве полипептидных цепей олигомерного белка в его нативной конформации называют *четвертичной структурой*. Эта структура олигомерных белков определяется первичной структурой входящих в их состав протомеров.

Классическим примером белка, для которого методом рентгеноструктурного анализа М. Перуц и его сотрудники установили третичную и четвертичную структуры, является *гемоглобин*. Молекула гемоглобина состоит из четырех полипептидных цепей (протомеров) – двух α -цепей (по 141 остатку) и двух β -цепей (по 146 остатков аминокислот), каждая из которых связана с небелковым железосодержащим веществом – *гемом* (рис. 2.3).

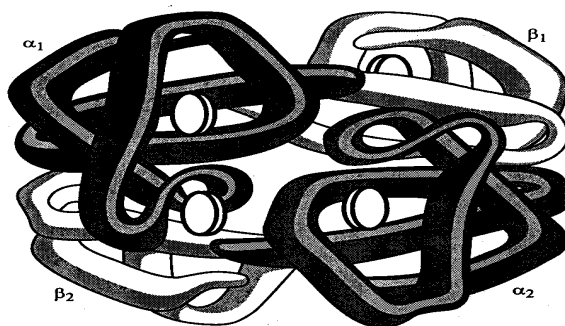
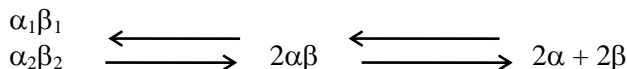


Рис. 2.3. Четвертичная структура гемоглобина
(показаны две субъединицы α и две субъединицы β ; светлые диски – группы гема)

При образовании единой молекулы гемоглобина одинаковые цепи (α - α и β - β) мало соприкасаются и между ними осуществляется лишь ионное взаимодействие концевых групп. В то же время между α - и β -цепями образуется большое число неполярных и водородных связей. При этом в образовании связей между α_1 и β_1 (α_2 и β_2) димерами участвуют 34 боковых остатка, а между α_1 и β_2 (α_2 и β_1) – 19 остатков.

В настоящее время выяснена четвертичная структура нескольких сотен белков.

Молекулы белков, имеющие четвертичную структуру, при определенных условиях могут обратимо диссоциировать в растворе на субъединицы, которые, в свою очередь, расщепляются на отдельные протомеры. Например, тетрамер гемоглобина в растворе находится в равновесии с субъединицами и свободными цепями:



Свойства $\alpha_1\beta_1$ и $\alpha_2\beta_2$ димеров гемоглобина идентичны.

Многие олигомерные белки наделены способностью к самосборке, т.е. способны восстанавливаться из отдельных полипептидных цепей; легко происходит, например, самосборка гемоглобина из смеси α - и β -цепей. Это обстоятельство доказывает, что порядок чередования остатков аминокислот в полипептидной цепи

олигомерного белка определяет не только третичную структуру, но и геометрическую форму контактных участков, с которыми соединяются контактные участки других специфических протомеров. Таким образом, первичная структура полипептидной цепи содержит информацию о вторичной, третичной и четвертичной структурах.

Крупные молекулы белков состоят обычно из нескольких полипептидных цепей, а не из одной очень длинной цепи. Это дает ряд преимуществ: при их биосинтезе требуется значительно меньшая генетическая информация (меньший участок структурного гена ДНК), чем для большой одноцепочечной молекулы; к минимуму сводятся появления случайных ошибок при их биосинтезе, становясь возможными регуляторные взаимодействия.

Четвертичная структура играет большую роль в регуляции биологической активности белков. Она высокочувствительна к внешним условиям, незначительные отклонения которых приводят к изменению взаимного расположения субъединиц, что вызывает изменение биологической активности белка. Это явление представляет собой один из важнейших механизмов регуляции метаболизма, поскольку многие ферменты имеют четвертичную структуру.

2.4. Физико-химические свойства белков

2.4.1. Молекулярная масса белков. Размер молекул белка

Молекулярные массы белков колеблются от 6 тыс. (условно принятый нижний предел) до 1 млн и выше. Например, инсулин бычий – 5733; β -казеин – 24 000; пепсин – 35 500; альбумин яиц – 45 000; зеин кукурузы – 50 000; гемоглобин лошади – 65 000; гексокиназа из дрожжей – 96 000.

Молекулярную массу белков определяют с помощью специальных методов: по скорости осаждения в центробежном поле, по скорости диффузии белков в растворителе, по осмотическому давлению, на основании рентгеноструктурного анализа и др.

Определение молекулярной массы белка по скорости осаждения в центробежном поле проводят в аналитических ультрацентрифугах. В этом приборе можно создать центробежное уско-

рение (g), в десятки и сотни тысяч раз превышающее ускорение земного притяжения. Под действием таких центробежных полей, противодействующих диффузионным силам, происходит осаждение (*седиментация*) белковых молекул. В результате осаждения между свободной от молекул белка областью растворителя и содержащей их образуется граница раздела (*седиментационная граница*). Перемещение этой границы в процессе ультрацентрифугирования регистрируют через определенные промежутки времени с помощью специальной оптической системы, встроенной в ультрацентрифугу.

Скорость седиментации, выражаемая через коэффициент седиментации (S), зависит от массы и от формы частиц и вычисляется по формуле

$$S = \frac{dx/dt}{w^2 x},$$

где x – расстояние от оси вращения до седиментационной границы, см; w – угловая скорость вращения ротора, рад \cdot с $^{-1}$; t – время, с.

Значения коэффициентов седиментации для белков лежат в пределах от $1 \cdot 10^{-13}$ до $200 \cdot 10^{-13}$ с. Величина коэффициента седиментации, равная $1 \cdot 10^{-13}$, принята за единицу, называемую *сведберг* (S). Таким образом, коэффициент седиментации 12S равен $12 \cdot 10^{-13}$ с. На основании коэффициента седиментации по уравнению Сведберга рассчитывают молекулярную массу белков.

С увеличением молекулярной массы коэффициент седиментации увеличивается, однако прямой пропорциональности при этом не наблюдается.

Первая ультрацентрифуга с оптической приставкой, позволяющей наблюдать и фотографировать процесс седиментации частиц, сконструирована шведским ученым Т. Сведбергом в 1922 г. Делая 10 тыс. оборотов ротора в минуту, эта центрифуга создавала центробежное ускорение, превышающее ускорение силы тяжести в 5000 раз.

В последние годы широкое распространение получил *гель-фильтрационный* метод определения молекулярной массы белков. Этот метод применяют в двух вариантах: *колоночная* гель-

фильтрация (колонку заполняют пористым гелем, например сефадексом) и *тонкослойная* гельфильтрация, или тонкослойная хроматография (пористый гель тонким слоем наносят на твердую подложку). При колоночном варианте строят калибровочный график зависимости $\lg M$ (M – молекулярная масса) от V_e / V_o , где V_e – объем растворителя, необходимый для элюирования (извлечения) исследуемого белка; V_o – объем растворителя, требуемый для элюирования соединения, не проникающего в неподвижную фазу (например, голубой декстран). Калибровочный график строят по 5–6 стандартным белкам с различной молекулярной массой (белки-маркеры). Затем, определив отношение V_e / V_o для исследуемого белка, находят по калибровочному графику его молекулярную массу.

При тонкослойной хроматографии молекулярную массу исследуемого белка находят по калибровочному графику зависимости $\lg M$ от длины пробега (мм) белков-маркеров за определенное время.

Некоторое распространение имеет *химический* метод. Сущность его заключается в том, что в составе белка определяют массовую долю характерного для него химического элемента или аминокислоты и проводят расчет минимальной молекулярной массы (M_{\min}) исходя из того, что в молекуле белка содержится один атом этого элемента или один аминокислотный остаток. Например, гемоглобин содержит 0,335 % железа (атомная масса железа 55,8). Минимальная молекулярная масса гемоглобина, рассчитанная по формуле, равна 16 700:

$$M_{\min} = \frac{\text{Атомная масса элемента}}{\text{Массовая доля элемента в белке, \%}} \cdot 100.$$

В молекуле гемоглобина имеется четыре атома железа, и в целом его молекулярная масса составит $4 \cdot 16\,700 = 66\,800$. Эта величина очень близка к молекулярной массе гемоглобина, определенной по скорости седиментации в ультрацентрифуге. Подобным образом может быть рассчитана минимальная молекулярная

масса исходя из содержания остатков аминокислот, присутствующих в белке в небольших количествах.

Следует отметить, что величины молекулярных масс белков, определенные различными методами, имеют близкие значения (расхождения в несколько сотен и тысяч допустимы). Например, определение различными методами молекулярной массы белка молока β -лактоглобулина дало следующие результаты:

Диффузия.....	38 000
Скорость седиментации	41 500
Рентгеноструктурный анализ	33 000–35 000
Осмотическое давление	35 050

Молекулярную массу белков с установленной первичной структурой можно рассчитать с высокой точностью.

Белки относят к высокомолекулярным соединениям, так как их молекулярные массы колеблются от нескольких тысяч до миллионов.

Размеры молекул белков составляют 1–100 нм и соответствуют размерам частиц коллоидно-дисперсных систем. Молекулы белков вследствие необычайно больших размеров называют *макромолекулами*.

2.4.2. Амфотерные свойства и изоэлектрическая точка белков

Макромолекулы белков содержат большое количество карбоксильных и аминных групп, что придает им свойства амфотерных полиэлектролитов. Карбоксильные группы, способные к диссоциации с образованием протонов (H^+), определяют кислотные свойства молекулы белка; аминогруппы, способные присоединять протоны, определяют основные свойства.

Соотношение между количеством кислых и основных групп варьируется. Белки, в которых преобладают кислые группы, имеют в водных растворах суммарный отрицательный заряд и являются *кислыми*; белки, в которых преобладают основные группы, имеют положительный заряд и являются *основными*. В живых организмах преобладают кислые белки.

В кислой среде относительно изоэлектрической точки молекулы белка приобретают положительный заряд и в поле постоянного электрического тока движутся к катоду; в щелочной среде они приобретают отрицательный заряд и в поле постоянного электрического тока движутся к аноду. Передвижение заряженных растворенных частиц в поле постоянного электрического тока называется *электрофорезом* (движение посредством электрического поля).

В изоэлектрической точке белок обладает наименьшей растворимостью, легко выпадает в осадок, растворы его менее вязки. Эти явления можно объяснить отсутствием электростатического отталкивания между молекулами белка.

2.4.3. Растворимость и осаждаемость белков

Большинство белков обладает гидрофильными свойствами, т.е. способностью легко взаимодействовать с молекулами воды. Гидрофильность белков обусловлена полярными заряженными и незаряженными группами их молекул. Полярными заряженными группами в молекуле белка являются радикалы лизина, гистидина, аргинина, аспарагиновой и глутаминовой кислот; полярными незаряженными – функциональные группы радикалов серина, треонина, тирозина, цистеина, аспарагина, глутамина и др. Гидрофильные вещества легко растворяются в воде и водных растворах.

Растворимость белков в растворителях неодинакова и зависит от многих факторов: природы белка, состава и рН растворителя, ионной силы и температуры раствора, структурных особенностей молекулы данного белка и других факторов. Одни белки хорошо растворимы в воде, другие – в водных растворах нейтральных солей, третьи – в слабых растворах кислот или щелочей, четвертые – в смеси воды и органических растворителей (например, этанола или ацетона). Белки не растворяются в большинстве чистых органических растворителей. Среди белков есть и нерастворимые во всех перечисленных растворителях. Это связано с особенностью их структуры.

Большое значение для растворимости белка имеет ионная сила раствора (в частности, концентрация электролита). При низких ионных силах растворимость белка увеличивается, а при вы-

соких – уменьшается. Зависимость растворимости большинства белков от рН при данной ионной силе описывается U-образной кривой с минимумом растворимости вблизи изоэлектрической точки и увеличением растворимости при значениях рН ниже и выше значения изоэлектрической точки.

С повышением температуры до определенной величины (от 0 до 20–40 °С) растворимость большинства белков повышается (за некоторым исключением).

При растворении белков в воде и водных растворах происходит гидратация каждой белковой молекулы, т.е. взаимодействие полярных групп белка с диполями воды. При этом, например, –СО–NH-группы связывают по одной молекуле воды, карбоксильные группы – по четыре молекулы воды, аминогруппы – по одной молекуле воды.

В результате гидратации вокруг заряженных молекул белка образуется заряженный водный слой (гидратная оболочка), состоящий из молекул (диполей) воды, ориентированных по отношению к молекуле белка строго определенным образом в соответствии с суммарным зарядом молекулы.

Чем дальше молекулы воды удалены от поверхности молекулы белка, тем беспорядочнее их расположение в растворе. Вокруг электронейтральных молекул белка гидратная оболочка не образуется.

Гидратная оболочка препятствует агрегации белковых молекул и тем самым способствует устойчивости белков в растворе. Таким образом, заряд молекулы белка и образующаяся за счет него гидратная оболочка являются важными факторами, обуславливающими агрегативную устойчивость белковых растворов.

Вода, входящая в состав гидратной оболочки, обладает специфическими свойствами (не растворяет солей и сахаров, замерзает при температуре ниже 0 °С и др.) и называется *связанной*, или *структурированной* (иммобилизованной).

Таким образом, разрушение гидратной оболочки и снятие электрического заряда как факторов агрегативной устойчивости белков в растворах приводит к выпадению их в осадок (осаждению).

Разрушение гидратной оболочки происходит при прибавлении к раствору белка достаточно больших количеств водоотнимающих (дегидратирующих) веществ (например, этанол, ацетон,

нейтральные соли), при добавлении которых к раствору белка происходит значительное связывание воды, приводящее к разрушению гидратной оболочки вокруг молекул белка и, следовательно, к слипанию последних в более крупные частицы (агрегаты), выпадающие из раствора в осадок. После удаления водоотнимающих веществ белковый осадок в большинстве случаев может быть растворен в первоначальном растворителе (воде, разбавленных растворах нейтральных солей и т.п.).

Осаждение белка из раствора при добавлении нейтральных солей (в частности, сульфата аммония) называют *высаливанием*. Осаждающая способность нейтральной соли зависит как от катиона, так и от аниона. Разные белки высаливаются при неодинаковых концентрациях нейтральных солей. Это свойство широко используют для разделения смеси белков.

Электрический заряд можно снять добавлением к раствору белка кислоты или щелочи до рН, равной изоэлектрической точке растворенного белка. Как упоминалось выше, в изоэлектрической точке отсутствует электростатическое отталкивание между молекулами белка и они легко выпадают в осадок. Поскольку разные белки имеют разные изоэлектрические точки, то их можно отделить друг от друга путем осаждения в изоэлектрической точке.

Наиболее полное осаждение белка может быть достигнуто путем разрушения гидратной оболочки и снятия электрического заряда.

Перед проведением некоторых исследований (определение сахаров, аминокислот и других низкомолекулярных соединений) возникает необходимость освободить жидкость (молоко, кровь, вытяжку из тканей) от присутствия белка. Для этих целей часто используют трихлоруксусную, сульфосалициловую или хлорную кислоты, которые образуют с белками кислотонерастворимые соли. Такими же осадителями белков являются вольфрамовая, фосфовольфрамовая и метафосфорная кислоты. Белки можно осадить с помощью катионов тяжелых металлов Zn(II), Pb(II), Cu(II) и др., которые с белками образуют труднорастворимые хелатные соединения.

2.4.4. Коллоидные свойства белков

Растворы белков обладают свойствами как истинных, так и коллоидных растворов. Это связано с тем, что белки в растворе диспергированы до единичных молекул, но вследствие большой молекулярной массы и связанного с ней большого размера молекул (1–100 нм) растворы белков имеют коллоидный характер.

Как коллоидные системы растворы белков рассеивают свет (явление Тиндаля), характеризуются высокой вязкостью, при определенных условиях могут терять текучесть и образовывать *гели*, или *студни* (студни, сформированные из молекул белков, рассматривают как частную форму гелей).

Гели образуются в результате объединения молекул белка в виде сетчатого каркаса, внутреннее пространство которого заполнено растворителем (обычно водой). Вода в гелях может находиться в двух состояниях: *связанном* и *свободном*. Связанная вода входит в состав гидратных оболочек молекул белка; свободная – механически (подобно впитыванию в губку) включена в каркас геля. Полагают, что в ряде тканей животных и растений белки находятся как в виде растворов, так и в виде гелей (протоплазма клеток, хрусталик глаза, соединительная ткань и др.). При подготовке растений к зиме происходит переход части белков из растворенного состояния в гелеобразное.

При старении гели сжимаются и выделяют воду. Этот процесс получил название *синерезиса*. Его можно наблюдать при хранении простокваши и кефира.

Высушенный гель способен впитывать в больших количествах воду, что сопровождается увеличением его объема и сильным повышением давления в нем. Впитывание воды гелем называют *набуханием*. Степень набухания (относительное увеличение массы) белка может достигать 200 %.

Набухание сопровождает жизнедеятельность всех растительных и животных организмов (прорастание семян, регуляция обмена воды и др.). Оно имеет важное значение при изготовлении теста, для облегчения разрушения зерна при помоле (гидротермическая обработка зерна), при выделке кожи, меха и других процессах.

Белки вследствие больших размеров молекул медленно диффундируют в растворе в направлении более низкой концентрации и не способны проникать через поры искусственных полупроницаемых мембран (целлофан, коллодий, пергамент), а также большинства биологических мембран клеток растений и животных. В то же время молекулы низкомолекулярных веществ (вода, этанол, соли, аминокислоты, сахара и т.п.) свободно проходят через такие мембраны.

Целлофановые мембраны часто используют для удаления растворенных низкомолекулярных веществ из растворов белков. Этот метод очистки растворов белка от низкомолекулярных веществ называют *диализом*. Мембраны, которые пропускают малые молекулы, но задерживают большие, называют *полупроницаемыми*.

В настоящее время прием диализа широко используют для концентрирования белковых растворов (например, молока) методом *ультрафильтрации*. Принцип этого метода состоит в том, что полупроницаемую мембрану с калиброванными порами, укрепленную на поддерживающем слое с губчатой структурой, вставляют в специальное устройство. Прохождение жидкости через мембрану в этом устройстве происходит либо посредством снижения давления, чтобы «отсосать» воду, либо, чаще всего, под давлением.

Белки способны образовывать *пену*. Это их свойство широко используют в пищевой промышленности (приготовление пастилы, безе, зефира, хлеба и т.п.).

2.4.5. Денатурация белков

Под денатурацией понимают утрату молекулой белка присущей ей нативной конформации, вызванную различными физическими и химическими факторами. Денатурация – характерное свойство белков. При денатурации происходит разрыв нековалентных (в первую очередь водородных) связей в молекуле белка, что сопровождается нарушением четвертичной, третичной и частично вторичной структур белка без каких-либо изменений первичной структуры. Разрыв нековалентных связей приводит к тому, что компактная молекула белка превращается в беспорядочный клубок.

Денатурация белковых молекул сопровождается потерей ими биологической активности и изменением многих физико-химических свойств: уменьшением (и даже потерей) растворимости, способности кристаллизоваться, водопоглотительной способности и способности к набуханию, смещением изоэлектрической точки и константы седиментации, повышением вязкости, увеличением поглощения света в ультрафиолетовой области и др.

Из химических соединений денатурацию вызывают кислоты и щелочи (при рН ниже 3 и выше 10–11), этанол и ацетон при продолжительном воздействии, мочевины, гуанидинхлорид, ионы тяжелых металлов, йода, тиоцианата, поверхностно-активные вещества (додецилсульфат), дубильные вещества (танин) и др.

Механизм денатурирующего воздействия различных химических веществ окончательно не выяснен и в настоящее время излагается исходя из их строения и свойств. Например, мочевины и гуанидинхлорид разрывают в молекуле белка водородные связи, органические растворители нарушают гидрофобные взаимодействия, ионы тяжелых металлов образуют с белками труднорастворимые соединения.

Способность белков осаждаться ионами тяжелых металлов используют в медицинской практике. При отравлении солями тяжелых металлов (например, ртути) больному дают большое количество яичного белка или молока и тем самым связывают ионы тяжелого металла, препятствуя их всасыванию из желудочно-кишечного тракта.

Следует отметить, что некоторые белки довольно устойчивы к денатурации при крайних значениях рН. Например, гистоны, протамины и лизоцим не денатурируют при рН 2 и рН 10, а пепсин при рН 1,5–2,5 проявляет максимальную активность.

Из физических факторов денатурацию вызывают сильное перемешивание или встряхивание, высокое давление – 500–1000 МПа, высушивание, нагревание, активное вспенивание растворов белка, ультрафиолетовое, рентгеновское и радиоактивное облучение, обработка ультразвуком и др.

Наиболее распространенным фактором денатурации является нагревание. Этот прием широко используют в пищевой промышленности. Важное значение при тепловой денатурации белка имеет вода. Например, в водных растворах белки денатурируют

при нагревании выше 50–60 °С, обезвоженный белок не денатурирует при нагревании до 100 °С.

Существуют многочисленные данные о том, что у термофильных микроорганизмов большинство белков обладает повышенной устойчивостью к нагреванию (при 60 °С белки этих микроорганизмов не денатурируют).

При нагревании происходит агрегация и выпадение белков в осадок. Однако этот факт представляет собой вторичное явление, так как в выпадении денатурированного при нагревании белка в осадок важную роль играют соли и рН среды. В сильноокислых (за исключением кислой среды, создаваемой азотной, трихлоруксусной и сульфосалициловой кислотами) и сильнощелочных растворах денатурированный при нагревании белок в осадок не выпадает. Это связано с приобретением молекулами белка заряда. Наиболее полное и быстрое осаждение белка происходит в изоэлектрической точке.

Денатурация белков имеет большое значение и в явлениях жизни. Так, по мере старения организма происходит постепенная, хотя и очень медленная, денатурация белков, сопровождающаяся снижением их гидрофильности. Примером такой денатурации служит старение семян. При длительном хранении, даже при благоприятных условиях, происходит уменьшение гидрофильности белков семян и, как следствие, снижается интенсивность прорастания.

При переработке сырья животного и растительного происхождения в продукты в одних случаях необходимо создать условия, способствующие денатурации белков, в других – предотвратить этот процесс. Денатурация белков имеет важное значение при изготовлении консервов, выделке кожи и меха, выпечке хлеба и кондитерских изделий, при сушке макарон и овощей, приготовлении пищи и т.п. При этом повышается срок хранения, качество и ценность готового продукта. Кроме того, денатурированные белки по сравнению с нативными легче перевариваются под влиянием протеолитических ферментов.

При получении биологически активных препаратов (ферментов, гормонов и т.п.) процесс денатурации необходимо предотвратить. С этой целью часто применяют сахара, глицерин, органические анионы (например, капроновой кислоты). Денатурация белка не происходит при быстром замораживании тканей живот-

ных и растений (например, в жидком азоте). Не вызывают денатурацию этанол и ацетон при низких температурах; эти вещества часто используют при получении некоторых ферментных препаратов. Важным приемом в получении биологических препаратов и чистых белков является *лиофильная* сушка (высушивание в вакууме из замороженного состояния). Высушенные этим способом белки можно хранить при комнатной температуре в течение длительного времени без потери нативных свойств.

В большинстве случаев денатурация – процесс необратимый, однако известны случаи обратимой денатурации белков, называемой *ренатурацией*. Например, денатурация под действием мочевины и хлористого гуанидина может иметь обратимый характер, но это возможно лишь на первых этапах, так как вслед за обратимой фазой процесса наступают более глубокие необратимые изменения.

2.4.6. Химические реакции, характерные для белков. Оптические свойства белков

Белки как полифункциональные соединения вступают в разнообразные реакции, обусловленные входящими в их состав функциональными группами –COOH, –NH₂, –OH, –SH и др.

Для качественной и количественной идентификации белков широко используются цветные реакции и реакции осаждения.

Биуретовая реакция обусловлена наличием в белках пептидных связей, образующих в щелочной среде с ионами двухвалентной меди комплекс, окрашивающий раствор в фиолетовый или красно-фиолетовый цвет.

Нингидриновая реакция – универсальная реакция на отдельные аминокислоты и белки. Обусловлена наличием в белках α-аминных групп, образующих при нагревании с нингидрином соединение, окрашенное в сине-фиолетовый цвет.

Ксантопротеиновая реакция характерна для бензольного ядра циклических аминокислот, входящих в состав белка (тирозина, триптофана, фенилаланина). При действии концентрированной азотной кислоты на свободные ароматические аминокислоты и белки, их содержащие, происходит нитрование бензольного кольца с образованием нитросоединения желтого цвета. Этим объясня-

ется появление желтого окрашивания, которое наблюдается при попадании азотной кислоты на кожу, шерсть, ногти и т.д.

Реакция Фоля (на слабосвязанную серу). Этой реакцией в белках открывают радикалы цистеина, содержащие как свободные $-SH$ (тиоловые) группы, так и окисленные дисульфидные ($-S-S-$) связи цистеина. Реакция происходит под воздействием концентрированного раствора щелочи и ацетата свинца с образованием бурого или черного осадка.

Реакция Адамкевича обусловлена наличием в белковой молекуле индольных группировок. При добавлении к раствору белка нескольких капель глиоксилевой, а затем концентрированной серной кислот появляется фиолетовое окрашивание (для реакции обычно используют ледяную уксусную кислоту, содержащую следы глиоксилевой кислоты).

Реакции осаждения белков делят на две группы: *обратимые* и *необратимые*. При необратимых реакциях осаждения белки подвергаются денатурации и, утрачивая свои нативные свойства, теряют способность растворяться в первоначальном растворителе. К этим реакциям относят: осаждение белков кислотами, солями тяжелых металлов, при нагревании и др.

При обратимых реакциях осаждения молекулы белка не подвергаются глубоким изменениям (разрушаются четвертичная и до 30 % третичная структуры), сохраняют свои нативные (первоначальные) свойства; полученные осадки можно вновь растворить в первоначальном растворителе. К названным реакциям относят: осаждение белков этанолом и ацетоном при температуре $-3...-5$ °С, высаливание (осаждение белков насыщенными растворами нейтральных солей – $NaCl$, $MgSO_4$, $(NH_4)_2SO_4$, $NaSO_4$ и др.).

Реакции осаждения применяют для обнаружения белка в растворе, получения безбелковых фильтратов (например, при определении сахаров в молоке или крови), выделения из раствора отдельных групп белков (фракционирование белков).

Растворы белков обладают способностью поглощать ультрафиолетовый свет (УФ-свет) в трех областях: вблизи 190, при 210–250 и более 250 нм. Поглощение УФ-света при длинах волн более 250 нм с максимумом при 280 нм обусловлено радикалами триптофана, тирозина и в меньшей степени фенилаланина. Это свойство белков используют для их количественного определения

методом *спектрофотометрии*. Поскольку число остатков ароматических аминокислот в одной и той же массе разных белков варьирует в широких пределах, метод не является точным. При работе с белками условно принимают, что одна единица оптической плотности при 280 нм соответствует массовой концентрации белка, равной приблизительно 1 мг/мл (при толщине слоя жидкости 1 см). На основании этого делают расчет. Метод прост и быстр в исполнении, поэтому, несмотря на недостаточную точность, его широко применяют в анализе индивидуальных белков.

2.5. Выделение белков из биологических объектов.

Очистка белков

Выделение белков из биологического материала (семян, листьев, плодов, корней, органов и тканей животных и т.п.) представляет собой сложный и трудный процесс, так как при внешних воздействиях белки легко теряют свои природные, присущие им в естественном состоянии нативные свойства (растворимость, биологическую активность и др.) и переходят в денатурированное состояние. Чтобы избежать денатурации белка в процессе его выделения, все операции проводят при температуре около 4 °С и значениях рН 4,0–8,0, хотя известны и исключения.

Перед выделением белка исходный биологический материал тщательно измельчают, добиваясь максимального разрушения тканей и клеток. Для измельчения используют специальные валковые или шаровые мельницы, в которых исходный материал многократно продавливается между тесно сближенными валками или разрушается непрерывно сталкивающимися шарами. Широко применяют гомогенизаторы, в которых материал измельчается специальными ножами, вращающимися с огромной скоростью (6000 об/мин и более), либо растирается между шлифованными стенками цилиндра и тефлонового пестика, либо в замороженном состоянии продавливается через фильеры специального пресса. В лабораторных условиях биологический материал можно разрушить растиранием в ступке с кварцевым песком или стеклом.

После измельчения материала проводит следующий этап – *экстрагирование* белков соответствующим растворителем в зависимости от физико-химических свойств извлекаемых белков. В ка-

честве растворителей используют воду, растворы нейтральных солей с небольшой ионной силой, буферные смеси (боратные, цитратные, ацетатные и т.п.), спиртово-солевые смеси, глицерин.

Многие белки в клетке находятся в ассоциированном с другими веществами состоянии (углеводами, липидами и др.) или клеточными структурами. Для лучшей солюбилизации таких белков применяют слабые растворы детергентов (додецилсульфата натрия, дезоксихолата натрия, тритона X-100), а также неполярных растворителей, например ацетона или эфира, удаляющих липиды, или бутанола, разрушающего клеточные структуры.

В результате экстракции получают смесь различных белков, разделение которой на фракции (группы белков) достигается за счет изменения условий, влияющих на растворимость: концентрации солей, рН, концентрации органического растворителя (этанола, ацетона). Эффективным способом разделения белков является ступенчатое осаждение при увеличении концентрации сульфата аммония. В полунасыщенном растворе сульфата аммония осаждаются одни белки (глобулины), в насыщенном – другие (альбумины).

Дальнейшее разделение и очистку белковых осадков проводят по схемам, специально разработанным для отдельных белков или групп гомологичных белков, в соответствии с их физико-химическими свойствами.

Среди методов разделения широко распространены ультрацентрифугирование, различные виды электрофореза и хроматографии.

При ультрацентрифугировании первоначально осаждаются более тяжелые молекулы, затем менее тяжелые, т.е. в ультрацентрифуге можно разделить белки, различающиеся по молекулярной массе.

Метод электрофореза основан на способности различных белков перемещаться в электрическом поле со скоростью, зависящей от величины их зарядов при данном значении рН и ионной силе раствора. Электрофоретическое разделение белков производят при нескольких значениях рН, так как установлено, что при одном рН препарат белка ведет себя как однородное вещество, при другом рН этот же препарат может быть неоднородным.

Электрофоретическое разделение белков можно проводить в растворе или на различных поддерживающих средах (носителях) –

фильтровальной бумаге, гелях крахмала, агар-агара и полиакриламида. Твердые носители имеют высокую разрешающую способность. Так, при разделении белков сыворотки крови человека посредством электрофореза на бумаге наблюдают 6 фракций, в крахмальном геле – 10, а в полиакриламидном геле – 16 фракций. Белки на электрофореграммах проявляют с помощью красителей, например амидового черного (амидолшварц 10 В).

Наиболее тонкой и современной разновидностью электрофореза является *изоэлектрическая электрофокусировка*, позволяющая разделить белки, отличающиеся изоэлектрическими точками на 0,02 рН. Градиент рН при этом виде электрофореза создается с помощью *амфолитов* – полиаминополикарбоновых кислот, синтезированных специально для этих целей.

Хроматографический метод разделения заключается в пропускании смеси белков через колонку, заполненную адсорбентом. В качестве адсорбента применяют фосфат кальция, гидроксилалатит, производные целлюлозы (диэтиламиноэтилцеллюлоза, триэтиламиноэтилцеллюлоза, карбоксиметилцеллюлоза) и другие носители.

Особенно хорошие результаты дает *аффинная хроматография* на колонках, заполненных носителем, избирательно адсорбирующим определенный белок. Например, α -амилазу можно выделить из смеси белков на колонке, заполненной крахмалом.

В настоящее время широкое применение в биохимии получила хроматография, основанная на принципе молекулярных сит (*гельфльтрация*). При этом методе хроматографическая колонка заполняется гранулами пористого геля, чаще всего *сефадекса*. Сефадекс получают путем обработки эпихлоргидрином глицерина полисахарида декстрана, в результате чего из молекул этих соединений формируется пористая структура (молекулярное сито). При пропускании через такую колонку смеси низкомолекулярных и высокомолекулярных белков происходит их разделение в зависимости от величины молекул. Молекулы, размер которых меньше размера пор, легко проникают внутрь гранул сефадекса и вследствие этого движутся по колонке с меньшей скоростью; молекулы, размер которых превышает размер пор, движутся в пространстве между гранулами сефадекса и выходят из колонки быстрее.

Гельфильтрация дает хорошие результаты при очистке белка от низкомолекулярных примесей (например, солей). С этой целью используют сефадексы с самым малым размером пор (например, G-25).

Очистку белков от низкомолекулярных соединений можно производить и методом диализа.

При определении степени чистоты выделенного белка применяют методы, основанные на различных свойствах молекулы, таких как размер, заряд, растворимость и т.д. Важным методом исследования однородности белков является метод, основанный на изучении их поведения при растворении и на построении кривых растворимости.

Выделенный и очищенный белок хранится при низкой температуре. Чаще всего белки хранят в высушенном состоянии. Сушку производят под высоким вакуумом из замороженного состояния (лиофилизация).

2.6. Номенклатура и классификация белков

В настоящее время из животных и растительных организмов выделено большое количество самых разнообразных белков, что требует создания определенной системы в их номенклатуре и классификации. Однако попытки создать строгую номенклатуру и четкую классификацию белков на какой-либо единой основе встречают некоторые затруднения. Эти трудности обусловлены сложностью строения белковых молекул, огромным разнообразием их функций и свойств; близкие по строению белки могут существенно отличаться друг от друга по свойствам и функциям.

Названия белкам дают по различным признакам: латинскому названию объекта, из которого выделен белок, химическому составу белка, выполняемой функции и т.п. Например, название авидин – белок яиц – происходит от латинского слова *avis* – птица; оризин – белок риса – от *oryza* – рис; авенин – белок овса – от *avena* – овес; гордеин – белок ячменя – от *hordeum* – ячмень и т.д. На основании химического состава и функций названы: ферритин – белок тканей животных и зеленых растений, содержащий железо; трансферрин – белок животных тка-

ней, участвующий в транспорте железа; церулоплазмин – белок крови, содержащий медь и участвующий в ее обмене и др.

В основу классификации белков положено несколько подходов, а именно: различие в форме их молекул, различие в функциях, различие в структуре, различие в химическом составе.

В зависимости от формы молекул белки делят на *глобулярные* (шаровидные) и *фибриллярные* (нитевидные).

Глобулярные белки характеризуются тем, что их молекулы, называемые глобулами, по своей форме приближаются к шару или эллипсоиду вращения. В молекулах этих белков отношение длинной оси к короткой (степень асимметрии) наиболее часто колеблется в пределах от 3 до 6 (1 бывает редко). В некоторых случаях степень асимметрии может достигать 11–20 и даже более. Таким образом, глобулярные белки могут иметь шарообразную форму, форму сигары, эллипсоида вращения.

Для глобулярных белков наиболее типична третичная структура, они растворимы в воде и разбавленных растворах нейтральных солей. К этой группе белков относятся все ферменты и, за исключением структурных, большинство других белков животных и растительных организмов.

Фибриллярные белки – устойчивые, нерастворимые в воде и разбавленных растворах нейтральных солей вещества. Для этих белков наиболее характерна вторичная структура, третичная почти или полностью не выражена. Полипептидные цепи, располагаясь параллельно друг другу вдоль одной оси, образуют длинные волокна (фибриллы) или слои. Отношение длинной оси к короткой в молекулах этих белков составляет несколько десятков, сотен и даже тысяч единиц. Фибриллярные белки являются основными элементами сухожилий, костей, хрящей, волос, перьев, рогов, паутины и т.п.

Некоторые белки принадлежат к *промежуточному* типу. Эти белки имеют фибриллярную природу, но растворимы в водных растворах нейтральных солей. К таким белкам относятся миозин мышц и фибриноген – предшественник фибрина (основного компонента сгустка крови).

В соответствии с биологическими функциями выделяют следующие группы белков: каталитические, транспортные, пище-

вые и запасные, сократительные и двигательные, структурные, защитные, регуляторные.

В зависимости от химического состава все белки делят на две группы: *простые* и *сложные*. Простые белки построены только из аминокислот. Сложные белки состоят из простого белка и небелковой компоненты, называемой *простетической группой*. Каждая из этих групп белков подразделяется на ряд подгрупп.

Следует отметить, что сделана попытка классифицировать белки в соответствии с их вторичной структурой. На основании этого подхода выделены четыре четко различающиеся структурные группы: α -, β -, $\alpha+\beta$ -, α/β -белки. К α -группе относятся белки, в которых, как в гемоглобине и миоглобине, преобладают α -спирали; к β -группе относятся белки, построенные из β -слоев, расположенных один над другим и образующих многослойную структуру (например, рубредоксин – железосодержащий белок из клостридий); $\alpha+\beta$ -группа – белки, имеющие в составе одной полипептидной цепи участки, построенные из α -спиралей, и участки, состоящие из β -слоев (например, папаин – белок млечного сока дынного дерева и термолизин – цинксодержащий белок, продуцируемый термостабильными микробами); α/β -группа – белки, в которых α -спирали и β -слои многократно чередуются по ходу полипептидной цепи (например, гексокиназа, карбоксипептидаза и др.).

2.6.1. Простые белки

На основании условно выработанных критериев (растворимость, аминокислотный состав, осаждаемость и др.) простые белки делят на следующие группы: протамины, гистоны, альбумины, глобулины, проламины, глютелины, протеиноиды. Первые шесть подгрупп (часто называемых фракциями) по форме молекул относят к глобулярным белкам, а последнюю – к фибриллярным. Простые белки выполняют самые различные функции.

Современными методами исследования (например, электрофорезом) установлено, что каждая из названных белковых фракций представляет собой смесь большого числа различных белков.

Протамины (простейшие белки) – относительно небольшие белки с молекулярной массой до 10 000, благодаря чему некоторые

из них проходят через полупроницаемые мембраны при диализе. Протамины встречаются в большом количестве в молоках рыб (семга, скумбрия, сельдь и др.), обнаружены в половых клетках млекопитающих и птиц, а также у представителей растительного царства (например, в спорах плауна). В составе молекулы этих белков содержится до 85 % аминокислот с положительно заряженными радикалами (обычно аргинин) и ограниченный набор (6–8) других аминокислот, что обуславливает их основные свойства. Примером протаминов может служить белок из молок семги сальмин, содержащий 85,2 % аргинина; 9,1 % серина; 5,8 % пролина; 3,1 % валина; 2,9 % глицина; 1,6 % изолейцина и 1,1 % аланина (при описании аминокислотного состава белков превышение суммарного итога 100 % допустимо).

Протамины растворимы в слабых растворах кислот, не осаждаются при кипячении, имеют изоэлектрическую точку при pH 10–12, входят в состав белков нуклеопротеинов, не содержат триптофан и серу.

Гистоны представляют собой основные белки с молекулярной массой от 12 000 до 20 000, содержащие в составе молекулы 20–30 % аминокислот с положительно заряженными радикалами (обычно аргинин и лизин). Гистоны не содержат триптофана, растворимы в разбавленных кислотах (0,2M HCl), осаждаются аммиаком и этанолом, имеют изоэлектрическую точку при pH 8,5.

Гистоны содержатся главным образом в ядрах клеток животных и растений, где играют важную роль в структуре хроматина (нитевидного комплекса ДНК и др.). По содержанию аргинина и лизина гистоны делят на пять типов: H1, H2A, H2B, H3 и H4. Например, гистон H1 содержит 27 % лизина и 2 % аргинина, а H4 соответственно 10 и 14 %. Типы гистонов различаются между собой и по молекулярной массе.

Гистоны одного и того же типа, выделенные из разных животных и растений, имеют сходную первичную структуру. Например, аминокислотные последовательности гистона H4 из проростков гороха и тимуса (железа внутренней секреции) быка отличаются только двумя из 102 аминокислотных остатков, образующих молекулу.

Альбумины относятся к белкам, широко распространенным в животных и растительных организмах. Они содержатся в сыворот-

ке крови, белке яиц, мышцах, молоке, семенах, листьях, стеблях и корнях растений. От общей массы всех белков на долю альбуминов приходится в сыворотке крови животных организмов 35–70 %, белках яиц – до 70 %, молоке – 10–15 %, семенах масличных культур – 20–25 %, семенах ржи – 20–40 %, семенах пшеницы, ячменя, гороха – 5–15 %.

Альбумины растворимы в воде, из водных растворов высаливаются сульфатом аммония при полном насыщении, при кипячении выпадают в осадок в виде сгустков денатурированного белка.

Наиболее известными представителями альбуминов являются сывороточный и яичный альбумины, лактальбумин молока, лейкозин из зародыша зерна пшеницы, легумелин из семян гороха и др.

Альбумины выполняют различные функции: участвуют в качестве ферментов в каталитических реакциях; альбумины сыворотки крови поддерживают кислотно-щелочное равновесие, выполняют транспортную функцию (переносят липиды, аминокислоты, жирные кислоты, ионы металлов); альбумины яйца, молока, семян выполняют питательную (резервную) функцию и т.д.

Альбумины белка яиц и молока применяются в кондитерской промышленности.

Глобулины – белки, нерастворимые в воде, но растворимые в разбавленных растворах нейтральных солей (4–10 %); осаждаются из раствора при полунасыщении сульфатом аммония, а также при полном удалении солей, например, посредством диализа. Представителями этой группы белков являются глобулины сыворотки крови, глобулины молока, яичный глобулин, легумин семян гороха, фазеолин семян фасоли, эдестин семян конопли и др.

От общей массы всех белков на долю глобулинов в сыворотке крови животных организмов приходится 30–65 %, молоке – 2–3,5 % (в молозиве – 50–75 %), белке яиц – 7 %, семенах кукурузы – 7–15 %, семенах пшеницы – 10–20 %, семенах овса и ржи – 15–25 %, семенах гороха – 60–80 %, семенах фасоли – 80–90 %, семенах масличных культур – 30–55 %. В животных организмах глобулины выполняют защитную, транспортную и некоторые другие функции; в семенах растений они являются в основном запасными белками, но среди них имеются белки, выполняющие каталитические функции.

Проламины – группа хорошо растворимых в 60–80 % водном растворе этанола белков. Они являются растительными белками, характерны исключительно для семян злаковых, в животном мире не обнаружены.

Проламины содержат много пролина (15 %) и глутаминовой кислоты (30–45 %); при их гидролизе образуется много аммиака.

От общей массы белков на долю проламинов в зерне ржи приходится 10–20 %, семенах овса – 20–30 %, семенах пшеницы – 20–40 %, семенах ячменя – 25–40 %, семенах кукурузы – до 50 %. Проламины семян довольно хорошо изучены; установлены их молекулярная масса, изоэлектрическая точка, аминокислотный состав и др. В семенах они выполняют запасную функцию, необходимы для формирования развивающегося зародыша на начальных этапах прорастания. Некоторые из них проявляют ферментативную активность. К наиболее изученным проламинам относятся глиадины пшеницы и ржи, гордеин ячменя, зеин кукурузы, авенин овса.

Проламины входят в состав клейковины – белкового сгустка, обеспечивающего упругость и эластичность теста.

Глютелины хорошо растворяются в слабых растворах щелочей (0,1–0,2 %), но не растворимы в воде, растворах этанола и нейтральных солей. Они содержат до 45 % глутаминовой кислоты. Эта группа белков содержится в семенах злаков и других культур, а также в зеленых частях растений. От общей массы белков на долю глютелинов в семенах риса приходится 60–70 %, пшеницы, ячменя и овса – 25–40 %, масличных культур – 10–30 %, семенах большинства бобовых – 10–20 %, семенах фасоли – 5–10 %. К глютелинам относится глютеин семян пшеницы, оризенин семян риса, глютелин кукурузы.

Глютелины вместе с проламинами входят в состав клейковины.

Протеиноиды (склеропротеины) растворяются только в специфических растворителях. Например, фиброин шелковой нити можно растворить в концентрированных водных растворах роданида лития и бромистого калия. Протеиноиды являются фибриллярными белками. Эти белки входят в состав кожи, сухожилий, костей, хрящей (коллаген), волос, рогов, копыт, перьев (кератин), паутины и шелковой нити (фиброин). Кератины содержат до 3 % серы.

При длительном нагревании с водой коллаген превращается в растворимый желатин. Желатин применяют в пищевой промышленности.

2.6.2. Сложные белки

Сложные белки состоят из белковой части и небелковой (простетической) группы различного происхождения. В зависимости от химической природы простетической группы различают: хромопротеины, фосфопротеины, липопротеины, гликопротеины, металлопротеины, нуклеопротеины.

Хромопротеины состоят из простого белка, связанного с каким-либо окрашенным соединением небелкового характера. Эти белки обладают высокой биологической активностью. Одни из них участвуют в окислительно-восстановительных реакциях, другие – в процессе фотосинтеза, третьи – в переносе кислорода, диоксида углерода и т.д.

Окрашенными небелковыми компонентами хромопротеинов могут быть производные каротина, изоаллоксазина, порфиринов и др. Производные каротина входят в состав хромопротеина родопсина; производные изоаллоксазина служат компонентами для построения простетической группы флавопротеинов; производные с магнием образуют хлорофилл, комплекс которого с белком обеспечивает фотосинтетическую деятельность растений; производные порфирина с железом служат для образования гемоглобина, миоглобина, цитохромов, каталазы, пероксидазы и др.

Гемоглобин – белок, играющий важную роль в дыхательной функции крови теплокровных (транспорт кислорода и диоксида углерода (IV)). Молекула гемоглобина состоит из белка глобина и небелковой группы гема. Видовая специфичность гемоглобина человека и животного обусловлена глобином; гем у всех имеет одинаковое строение.

Глобин состоит из четырех полипептидных цепей. Две из них, обозначаемые α -цепями, имеют одинаковую структуру и включают по 141 аминокислотному остатку. Две другие, называемые β -цепями, также построены идентично друг другу и содержат по 146 аминокислотных остатков. Каждая из цепей глобина связа-

на через остаток гистидина с одной группой гема (в гемоглобине четыре группы гема).

Связанные с гемом полипептидные цепи попарно объединены в две субъединицы, каждая из которых содержит одну α -цепь и одну β -цепь. Субъединицы, ассоциируясь, образуют молекулу гемоглобина.

Строение гема выяснено главным образом благодаря работам М.В. Ненцкого и Х. Фишера. В основе химической структуры гема лежит протопорфирин IX (1,3,5,8-тетраметил-2,4-дивинил-6,7-дипропионовокислый порфирин), представляющий собой производное порфирина – ароматического макроцикла, состоящего из четырех пиррольных колец, соединенных метиновыми группами ($-\text{CH}=\text{}$). Протопорфирин IX соединен с двухвалентным железом.

Гемоглобин легко соединяется не только с кислородом, углекислым газом, но и с CO , NO и другими газами. При воздействии окислителей к железу гемоглобина присоединяется группа $-\text{OH}$ и оно становится трехвалентным.

Миоглобин – относительно небольшой глобулярный кислородсвязывающий белок (молекулярная масса 16 700) мышечных клеток. Его молекула состоит из одной полипептидной цепи, содержащей 153 аминокислотных остатка с установленной последовательностью, и одного гема. Миоглобин депонирует доставляемый кровью кислород и способствует его переносу в митохондрии для окисления поступающих в клетку питательных веществ. У наземных животных миоглобин связывает около 10 % всего кислорода тканей, у морских животных (дельфин, кит, тюлень) – до 40 %. Создание резерва кислорода в тканях обусловлено тем, что миоглобин при равных условиях обладает более высоким сродством к кислороду, чем гемоглобин.

Миоглобин, кроме кислорода, способен легко соединяться с сероводородом, окисью азота и другими газами. При этом железо гема остается двухвалентным. В результате взаимодействия миоглобина с окисью азота образуется NO -миоглобин (нитрозомиоглобин), который после тепловой денатурации сохраняет красную окраску, что имеет важное значение в изготовлении солонящихся мясных изделий.

Фосфопротеины – белки, содержащие в своем составе ортофосфорную кислоту, присоединенную сложноэфирной связью к остаткам серина, реже треонина белков.

Фосфопротеины играют важную роль в питании как зародышей животных, так и молодого, растущего животного организма. Важными представителями этой группы белков являются: *казеин* – главный белок молока; *вителлин* и *фосфовитин* – белки яичного желтка; *ихтулин*, выделенный из икры рыб, и некоторые другие.

Казеин часто относят к металлофосфопротеинам, так как кроме фосфорной кислоты содержит углеводный компонент. Посредством электрофореза казеин можно разделить на ряд индивидуальных белков.

Некоторые белки (ферментативные, мембранные, рибосомальные и др.) существуют в виде фосфопротеинов непродолжительное время, и их следует отличать от структурно-постоянных фосфопротеинов.

Липопротеины – соединения, состоящие из липидов и специфических белков, связанных между собой гидрофобными и электростатическими взаимодействиями. Из липидов в составе липопротеинов обнаружены ацилглицерины, жирные кислоты, фосфолипиды, холестерин и его эфиры.

Различают *структурные* липопротеины (нерастворимые) и *свободные* (эмульгированные). Структурные липопротеины входят в состав мембран клетки и ее структурных образований, оболочки нервных волокон и жировых шариков молока, пластид растительной клетки (хлоропластов) и др. Структурные липопротеины обеспечивают избирательную проницаемость мембран.

Свободные липопротеины содержатся в плазме крови, молоке, желтке яиц и др. Они занимают ключевое место в транспорте и обмене липидов. Наиболее изученными являются липопротеины крови.

Гликопротеины – белки, содержащие в качестве небелковой группы углеводы и их производные (галактозу, маннозу, аминосахара, олигосахариды, гетерополисахариды и др.). Углеводный и белковый компоненты в гликопротеинах соединены О- или N-гликозидными связями. В образовании О-гликозидных связей между углеводным компонентом и белком участвуют остатки се-

рина, треонина, гидроксизина и гидроксипролина. В образовании N-гликозидной углевод-белковой связи могут участвовать глюкозамины (или N-ацетилглюкозамины) и амидная группа аспарагина пептидной цепи. Содержание углеводов в гликопротеинах колеблется от 1 до 30 % и более.

Гликопротеины содержатся в организме животных, растениях, в микроорганизмах и выполняют самые разнообразные функции. В составе поверхностных мембран клеток имеются гликопротеины, выполняющие роль систем для биологического узнавания определенных клеток и соединений и на основе этого определяющие взаимодействие клетка – клетка, клетка – молекула, молекула – молекула. В этом состоит функция избирательного взаимодействия и высокоспецифичного узнавания. Гликопротеины придают эластичность и упругость коже, хрящам и сухожилиям, выполняют роль смазки суставов и защитной смазки слизистых оболочек, осуществляют транспортную и каталитическую функции. Гликопротеины являются широко распространенными структурными компонентами различных клеточных мембран.

Примером гликопротеина животных организмов является *гликофорин* – белок мембраны эритроцитов, определяющий группу крови и связывающий некоторые патогенные вирусы; *авидин* – белок яиц, обладающий способностью связывать биотин (витамин Н) и др.

Примерами гликопротеинов растений служат: *вицилин* – запасной белок семян бобовых; *бромелаин* – фермент из стеблей ананаса, катализирующий гидролиз белков; *пероксидаза* хрена – фермент из класса оксидоредуктаз и др.

Металлопротеины – сложные белки, в состав которых входят ионы одного или нескольких металлов, соединенные с белковой частью комплексной связью. Ионы металлов в металлопротеинах можно отделить от белка только при энергичном воздействии. К металлопротеинам относятся: *ферритин*, содержащий железо; *церулоплазмин* и *полифенолоксидаза*, содержащие медь; *амилаза*, содержащая кальций, и др.

Некоторые металлопротеины, особенно из группы ферментов, содержат в качестве протетической группы несколько различных веществ. Например, в *сукцинатдегидрогеназе* наряду с

производным флавина содержится железо, *алкогольдегидрогеназа* содержит производные пиридина и цинк и т.д.

Нуклеопротеины – комплексы нуклеиновых кислот с белками. Они содержатся в каждой клетке и выполняют важнейшие специфические функции, связанные с хранением и реализацией генетической информации. Белковой составляющей нуклеопротеинов могут быть гистоны, протамины и так называемые негистоновые белки. Из нуклеиновых кислот в состав нуклеопротеинов входят дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) или рибонуклеиновая кислота (РНК).

Нуклеопротеины, содержащие ДНК, называют *дезоксирибонуклеопротеинами* (ДНП), а содержащие РНК – *рибонуклеопротеинами* (РНП). ДНП и РНП – это сложные комплексы, построенные из одной-двух молекул нуклеиновых кислот и большого числа прикрепленных к ней белковых молекул. Типичными представителями РНП являются органеллы клеток – *рибосомы* (комплексы рибосомных РНК с белками); типичный представитель ДНП – *хроматин* (комплекс ДНК с гистонами и негистоновыми белками, составляющий основу ядер клеток).

К нуклеопротеинам относят *вирусы* – паразиты, способные проникать в клетку специфического хозяина и, размножаясь, вызывать заболевание. Вирусы в виде чистых препаратов (вне клетки хозяина) не способны к самовоспроизведению. Вирусы, вызывающие заболевания человека и животных, содержат либо РНК, либо ДНК. Вирусы растений обычно содержат РНК.

Белки и нуклеиновые кислоты в нуклеопротеинах соединены между собой нековалентными взаимодействиями.

Глава 3. НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ

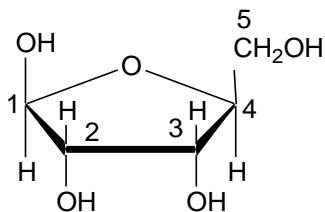
Нуклеиновым кислотам, как и белкам, принадлежит ведущая роль в жизни. Они являются генетическим материалом всех живых организмов и вирусов. Несмотря на огромную значимость для жизни, рацион человека, животных и птиц по нуклеиновым кислотам не балансируют; в процессе жизнедеятельности этих организмов нуклеиновые кислоты синтезируются из других компонентов.

Нуклеиновые кислоты в виде сложного соединения, названного *нуклеином*, были выделены в 1868 г. Ф. Мишером из лейкоцитов человека. Анализируя нуклеин, Ф. Мишер установил, что это сложное соединение, состоящее из кислого компонента с высоким содержанием фосфора и белка. В 1889 г. Р. Альтман предложил кислый компонент нуклеина называть нуклеиновой кислотой.

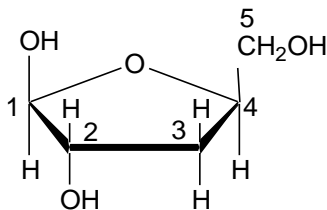
3.1. Химический состав нуклеиновых кислот

При гидролизе нуклеиновые кислоты распадаются с образованием пуриновых и пиримидиновых азотистых оснований, пентоз и ортофосфорной кислоты.

Из пентоз в нуклеиновых кислотах обнаружены *рибоза* и *дезоксирибоза*, находящиеся в β -D-рибофуранозной форме:



β -D-рибоза
(β -D-рибофураноза)

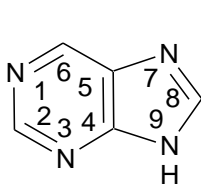


β -D-2-дезоксирибоза
(β -D-2-дезоксирибофураноза)

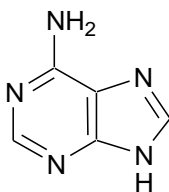
Нуклеиновые кислоты делят на два типа: *рибонуклеиновые* (РНК), содержащие рибозу, и *дезоксирибонуклеиновые* (ДНК), содержащие дезоксирибозу.

Пуриновые азотистые основания нуклеиновых кислот являются производными *пурина*, молекула которого состоит из двух

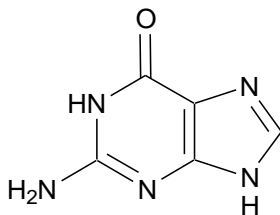
конденсированных гетероциклов: пиримидина и имидазола. В гидролизатах нуклеиновых кислот постоянно встречаются два производных пурина – *аденин* (А) и *гуанин* (Г):



Пурин

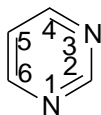


Аденин (А)

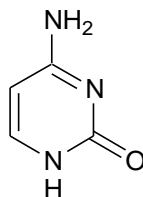


Гуанин (Г)

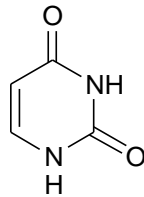
Пиримидиновые азотистые основания являются производными *пиримидина*. Из пиримидиновых оснований в составе нуклеиновых кислот постоянно обнаруживают *цитозин* (Ц), *урацил* (У), *тимин* (Т):



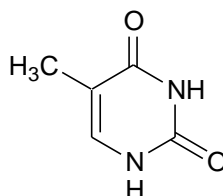
Пиримидин



Цитозин (Ц)



Урацил (У)



Тимин (Т)

Нуклеиновые кислоты отличаются друг от друга не только углеводными компонентами, но и составом азотистых оснований. В ДНК входят аденин, гуанин, цитозин, тимин; в состав РНК – аденин, гуанин, цитозин, урацил. Очень редко тимин встречается в составе РНК, а урацил – в составе некоторых ДНК.

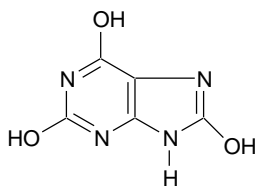
Кроме перечисленных азотистых оснований, в нуклеиновых кислотах присутствуют в небольших количествах так называемые необычные, или *минорные*, азотистые основания. Например, в состав ДНК входят 5-метилцитозин, N-6-метиладенин, 7-метилгуанин и другие. Особенно много минорных компонентов содержится в РНК: ксантин, гипоксантин, тиюрацил, оротовая кислота и другие. Всего около 60.

Все оксипроизводные азотистых оснований присутствуют в составе нуклеиновых кислот в форме лактамов (кето-форма). Сво-

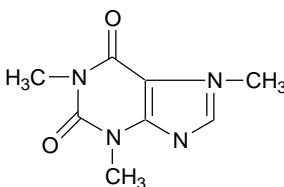
бодные пуриновые основания легко разделить и идентифицировать методами хроматографии на бумаге или в тонком слое.

Входящая в состав нуклеиновых кислот *фосфорная кислота* придает им свойства кислот.

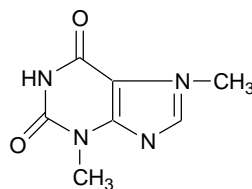
Биологическая роль производных пурина и пиримидина не ограничена нуклеиновыми кислотами. В процессе жизнедеятельности растительные и животные организмы на основе этих соединений образуют ряд продуктов, среди которых можно назвать мочевую кислоту, кофеин, теобромин и некоторые другие. У человека мочевая кислота является конечным продуктом пуринового обмена. Кофеин содержится в зернах кофе, листьях чая и других растениях. Теобромин находится в чае и бобах какао. Кофеин и теобромин обладают специфическими фармакологическими свойствами. Например, кофеин стимулирует деятельность центральной нервной системы.



Мочевая кислота
(енольная форма)



Кофеин



Теобромин

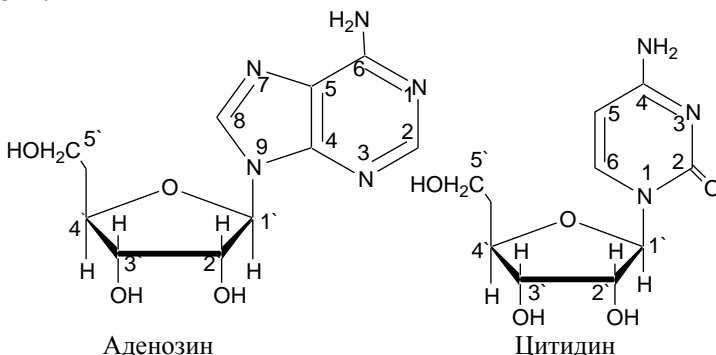
3.2. Структурные компоненты нуклеиновых кислот. Полинуклеотиды

В присутствии специальных катализаторов биологического происхождения *нуклеаз* нуклеиновые кислоты распадаются на структурные единицы, называемые *нуклеотидами*, или *мононуклеотидами*.

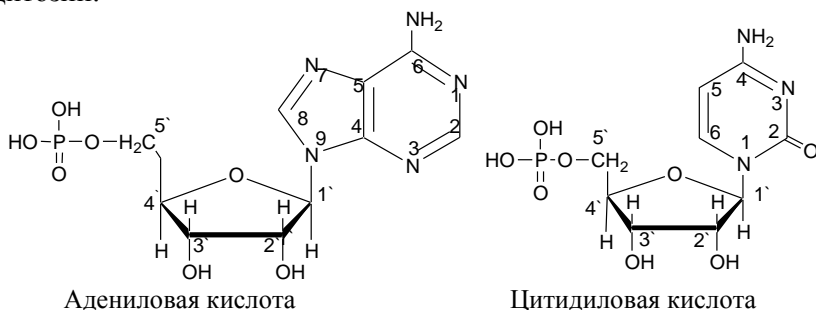
Нуклеотиды состоят из трех компонентов: пуринового или пиримидинового основания, пентозы (рибозы или дезоксирибозы) и фосфорной кислоты. Сахар в нуклеотидах занимает среднее положение. При отщеплении от нуклеотида остатка фосфорной кислоты остается *нуклеозид*.

Нуклеозиды – N-гликозиды пуриновых или пиримидиновых оснований, в которых первый атом углерода (С-1) рибозы или дезоксирибозы связан гликозидной связью с азотом у пуриновых оснований в 9-м положении, у пиримидиновых – в 1-м. Атомы углерода в рибозе и дезоксирибозе нумеруют со штрихом (1'–5') в отличие от атомов в пуриновых и пиримидиновых основаниях, нумеруемых без штриха (1–9 и 1–6).

Химическое строение нуклеозидов, содержащих аденин и цитозин:



Химическое строение нуклеотидов, содержащих аденин и цитозин:



Остальные нуклеозиды и нуклеотиды, освобождающиеся при гидролизе нуклеиновых кислот, имеют аналогичное строение. Разделить и идентифицировать нуклеозиды можно методами хроматографии на бумаге или в тонком слое. Нуклеозиды легко гид-

ролизуются специфическими биологическими катализаторами – *нуклеозидазами* и при нагревании с кислотами.

Таким образом, нуклеотиды состоят из пуринового или пиримидинового основания, связанного с сахаром (рибозой или дезоксирибозой), и фосфата, этерифицирующего эти пентозы по атомам С-3' или С-5'. Наиболее распространенной является этерификация по С-5'-положению. Именно они составляют основу строения (структурное звено) нуклеиновых кислот. Следовательно, нуклеотиды – это фосфорнокислые эфиры нуклеозидов.

Все нуклеотиды – сильные кислоты, так как остаток фосфорной кислоты легко диссоциирует. Фосфоэфирная связь в нуклеотидах относительно устойчива к кислотному гидролизу. При участии специфических катализаторов – нуклеотидаз – фосфатная группа легко отщепляется, не затрагивая N-гликозидную связь.

Нуклеотиды разделяют и идентифицируют методами электрофореза или хроматографии.

Нуклеотиды, содержащие рибозу, называют общим словом *рибонуклеотиды*, а содержащие дезоксирибозу – *дезоксирибонуклеотиды*. Названия отдельных нуклеозидов и нуклеотидов с указанием входящих в состав азотистых оснований приведены в табл. 3.1. В названии нуклеотидов используют два подхода: их рассматривают как кислоты (например, адениловая кислота и др.) или как фосфорные эфиры нуклеозидов (например, аденозинмонофосфат и др.).

В названии рибозных производных тимина часто употребляют приставку «рибо-»: риботимидин, риботимидиловая кислота (риботимидинмонофосфат). Если в состав нуклеозида или нуклеотида входит дезоксирибоза, то перед полным названием каждого ставится приставка «дезокси-», а перед сокращенным названием – строчная буква «д», например, дезоксиаденозин, дезоксиадениловая кислота (дезоксиаденозинмонофосфат, дАМФ).

Номенклатура нуклеозидов и нуклеотидов

Азотистые основания	Нуклеозиды	Нуклеотиды	
		Полное название	Сокращенное название
Аденин	Аденозин	Адениловая кислота (аденозинмонофосфат)	АМФ
Гуанин	Гуанозин	Гуаниловая кислота (гуанозинмонофосфат)	ГМФ
Цитозин	Цитидин	Цитидиловая кислота (цитидинмонофосфат)	ЦМФ
Урацил	Уридин	Уридиловая кислота (уридинмонофосфат)	УМФ
Тимин	Тимидин	Тимидиловая кислота (тимидинмонофосфат)	ТМФ

Нуклеотиды – это повторяющиеся мономеры олигонуклеотидов и полинуклеотидов. Олигонуклеотиды состоят из нескольких нуклеотидов, полинуклеотиды – из многих. Нуклеиновые кислоты представляют собой полинуклеотиды. Последовательно расположенные в молекулах нуклеиновых кислот нуклеотиды ковалентно соединены друг с другом фосфатными «мостиками». Роль этих мостиков выполняет фосфодиэфирная связь между С-3' рибозы или дезоксирибозы предыдущего нуклеотида и С-5' рибозы или дезоксирибозы последующего нуклеотида (рис. 3.1). Связь между нуклеотидами в нуклеиновых кислотах обозначают как 3'→5' фосфодиэфирную связь.

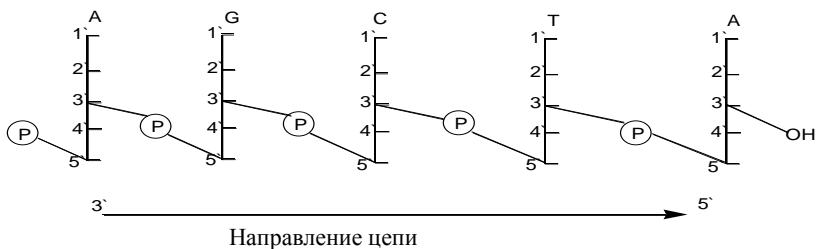


Рис. 3.1. Структура фрагмента молекулы нуклеиновой кислоты (полинуклеотидная цепь): А – аденин; G – гуанин; С – цитозин; Т – тимин; (P) – фосфорная кислота

Таким образом, на одном конце полинуклеотидной цепи при 5¹-углеродном атоме пентозы нуклеотид содержит остаток фосфорной кислоты, а на противоположном конце при 3¹-углеродном атоме пентозы – гидроксильную группу. Нуклеотидные остатки образуют 5¹- и 3¹-концы полинуклеотидных цепей в молекулах нуклеиновых кислот.

3.3. Структура и биологическая роль ДНК

ДНК служит универсальным хранителем и источником наследственной информации, записанной в виде специальной последовательности нуклеотидов и определяющей свойства живого организма. Ее молекулярная масса колеблется от 10⁷ до 10⁹, а число нуклеотидных остатков в молекуле достигает нескольких сотен тысяч и даже миллионов. Азотистые основания ДНК представлены аденином, гуанином, цитозином и тиминем.

Основная масса ДНК сосредоточена в ядрах клеток. Некоторое ее количество содержится в митохондриях и хлоропластах. ДНК ядра клеток животных и растений состоит из многих молекул, распределенных по разным хромосомам, число которых зависит от вида организма. Например, клетки мягкой пшеницы имеют 42 хромосомы, ржи и гороха – по 14, человека – 46, курицы – 78 и т.д. В хромосомах различают специфические участки молекулы ДНК, называемые генами. Роль гена заключается в том, что в нем закодирован тот или иной специфический признак.

При изучении нуклеотидного состава ДНК, выделенных из самых разных организмов, Э. Чаргафф с сотрудниками установили общие закономерности химического состава ДНК по количеству и соотношению нуклеиновых оснований. Число остатков аденина равно числу остатков тимина ($A = T$), а число остатков гуанина равно числу остатков цитозина ($G = C$). Таким образом, в молекулах ДНК содержание пуриновых оснований равно содержанию пиримидиновых оснований ($A + G = C + T$). Однако в молекулах ДНК разных видов число пар оснований $A + T$ и $G + C$ существенно отличается. Эти закономерности получили название *правил Чаргаффа*.

Если ДНК содержит «необычные» основания, например, замещенные цитозина, под «C» подразумевается цитозин и все его замещенные (5-метилцитозин), а под «G» – урацил и все замещенные урацилы, включая тимин.

На основании работ Э. Чаргаффа и результатов рентгеноструктурного анализа М. Уилкинса и Р. Франклин, а также с учетом данных, полученных другими исследователями, Д. Уотсон и Ф. Крик разработали в 1953 году модель структуры ДНК, которая впервые дала возможность объяснить ряд важных биологических явлений, связанных с передачей наследственности.

Согласно модели Уотсона – Крика молекула ДНК состоит из двух полинуклеотидных цепей. Каждая цепь закручена в спираль вправо, и обе они свиты вместе, т.е. закручены вправо вокруг одной и той же оси, образуя *двойную спираль*. Цепи антипараллельны по отношению к направлению связей $3' \rightarrow 5'$. Это означает, что межинуклеотидные связи одной цепи ориентированы в направлении $3' \rightarrow 5'$, а другой – в направлении $5' \rightarrow 3'$. В результате 5'-конец одной цепи располагается напротив 3'-конца другой.

В каждой полинуклеотидной цепи выделяют углеводно-фосфатный остов, вдоль которого перпендикулярно оси располагаются одно над другим основания. При скручивании цепей в двойную спираль углеводно-фосфатные остовы располагаются на периферии молекулы, а нуклеиновые основания внутри таким образом, что пурин одной цепи всегда образует пару с пиримидиновым основанием другой цепи и наоборот (т.е. по правилу комплементарности) (рис. 3.2).

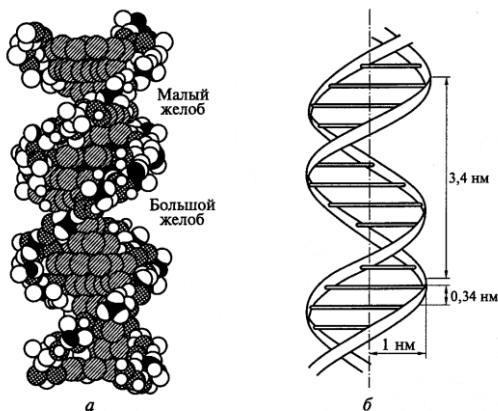


Рис. 3.2. Модель вторичной структуры ДНК:

а – пентозофосфатные цепи, обращенные наружу перпендикулярно оси молекулы, внутрь направлены азотистые основания (заштрихованы), соединяющиеся за счет водородных и гидрофобных связей; б – пространственное расположение полидезоксирибонуклеотидных цепей в молекуле ДНК; в поперечных плоскостях располагаются пары комплементарных оснований, которые связывают цепи друг с другом

Цепи в молекуле ДНК соединяются между собой водородными связями, возникающими между комплементарными друг другу пуриновыми и пиримидиновыми основаниями. Наряду с водородными связями фиксации двойной спирали ДНК способствуют и другие межмолекулярные взаимодействия (гидрофобные взаимодействия между основаниями и др.).

В силу пространственного соответствия структур двух молекул водородными связями могут соединяться только аденин с тимином и наоборот, а также гуанин с цитозином и наоборот. Между аденином и тимином образуются две водородные связи, а между гуанином и цитозином – три.

Пространственное соответствие структур двух молекул (в случае ДНК пуриновых и пиримидиновых оснований) называется *комплементарностью*. Вследствие комплементарности нуклеотидная последовательность одной цепи ДНК однозначно определяет нуклеотидную последовательность другой цепи.

Модель Уотсона – Крика позволяет объяснить механизм передачи генетической информации, закодированной в ДНК, от од-

ного поколения к другому. По этому механизму цепи ДНК разделяются и вдоль каждой из них синтезируется новая цепь, что дает в результате две новые молекулы ДНК, по одной на каждую из двух дочерних клеток (рис. 3.3). Синтез дочерней молекулы двухцепочной ДНК, идентичной материнской двухцепочной ДНК, получил название *репликация*.

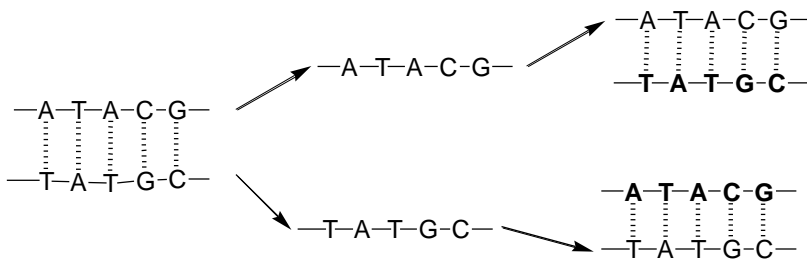


Рис. 3.3. Схема репликации молекулы ДНК

За установление молекулярной структуры ДНК и ее роли в передаче наследственной информации в живой материи М. Уилкинсу, Д. Уотсону и Ф. Крику в 1962 г. была присуждена Нобелевская премия.

У нуклеиновых кислот различают первичную, вторичную и третичную структуры.

Первичная структура определяется последовательностью нуклеотидов в полинуклеотидной цепи. Изучена у многих ДНК. Методы определения первичной структуры ДНК разработаны Ф. Сенгером и У. Гильбертом, которые за вклад в определение последовательности оснований в нуклеиновых кислотах в 1980 г. были удостоены Нобелевской премии.

Двухцепочная спираль ДНК определяет *вторичную структуру*. *Третичная структура* ДНК характеризуется тем, что ее двухцепочная спираль на отдельных участках может подвергаться дальнейшей пространственной укладке в суперспираль, приобретая шаровидную форму, т.е. формирует клубок.

При нагревании, при экстремальных значениях рН, при обработке амидами, мочевиной, при уменьшении диэлектрической постоянной водной среды в результате добавления спиртов и кетонов происходит раскручивание двухцепочной спирали ДНК. Этот про-

процесс называется *денатурацией* с образованием неупорядоченных одноцепочных молекул. При денатурации наблюдается разрыв водородных связей между цепями; все ковалентные связи в молекуле сохраняются. Если процесс раскручивания не произошел полностью и цепи остались соединенными даже на одном небольшом участке, то денатурация ДНК обратима. Если же цепи разделились полностью, то их соединение (*ренатурация*, или *обратимая рекомбинация*) происходит, как правило, значительно медленнее.

Процесс раскручивания двухцепочной спирали ДНК и обратной рекомбинации отдельных полинуклеотидных цепей постоянно происходит в живой клетке при физиологических условиях под действием специальных биологических катализаторов. Эта способность ДНК имеет важное значение в жизни клетки (деление клетки, синтез белков и др.).

Большая часть ДНК клеток находится в соединении с белками, образуя нуклеопротеины.

3.4. Строение и биологическая роль РНК

Рибонуклеиновые кислоты представляют собой одноцепочные молекулы разной длины. РНК имеет первичную, вторичную и третичную структуры. *Первичная структура* РНК определяется последовательностью нуклеотидов в ДНК-матрице.

В зависимости от функций в процессе биосинтеза белка и местонахождения в клетке РНК делят на три основных типа: *рибосомные* (рРНК), *информационные*, или *матричные* (иРНК, или мРНК), и *транспортные* (тРНК). Каждый из перечисленных типов РНК выполняет специфическую роль в сложном процессе биосинтеза белка.

Рибосомные РНК (рРНК) составляют 80–90 % от общего количества РНК клетки. Они содержатся в рибосомах – внутриклеточных органеллах, осуществляющих биосинтез белка. С рибосомами связан механизм, при помощи которого аминокислоты вступают в реакцию поликонденсации, образуя полипептидные цепи. В цитоплазматических рибосомах высших организмов содержится четыре типа рРНК: 5S-рРНК (молекулярная масса 40 тыс.), 5,8S-рРНК (молекулярная масса 50 тыс.), 18S-рРНК (молекулярная масса 650 тыс.) и 28S-рРНК (молекулярная масса 1,7 млн) – и свыше 70 различных

белков. Рибосомные РНК образуют основу, на которой располагаются белки.

Матричные РНК (мРНК) составляют около 5 % общей массы рибонуклеиновых кислот клетки. Их молекулярная масса колеблется в пределах 300 тыс. – 2 млн. Функция мРНК заключается в переносе генетической информации, записанной в ДНК, на рибосомы. Клетка способна синтезировать сотни и тысячи различных молекул мРНК.

Характерная структурная особенность любой мРНК состоит в уникальной последовательности нуклеотидов, содержащих одно из азотистых оснований – аденин (А), гуанин (Г), цитозин (Ц) или урацил (У). Каждый последовательно присоединенный набор из трех нуклеотидов (триплет), называемый *кодоном*, обеспечивает информацию для последовательного (упорядоченного) присоединения аминокислот при биосинтезе полипептидной цепи. Например, кодон УУА соответствует аминокислоте лейцину, ГЦА – аланину, ААА – лизину и т.д. Последовательность УУАГЦААААА (читается по три нуклеотида: УУА-ГЦА-ААА) определяет фрагмент полипептида –лей–ала–лиз–. Некоторые молекулы мРНК могут кодировать только один полипептид, другие – два или три полипептида.

Нуклеотидный состав мРНК подобен нуклеотидному составу одного из участков цепи ДНК, т.е. тройка оснований в ДНК (*кодоген*, или *рождающий код*) определяет соответствующую тройку оснований (кодон) в молекуле мРНК. Матричные РНК находятся в ядре (где они синтезируются) и в цитоплазме.

Транспортные РНК (тРНК) составляют 10–15 % от общей массы РНК клетки, включают в себя 74–93 нуклеотида и имеют молекулярную массу 23–30 тыс. Они находятся в клетке в растворенном состоянии, поэтому их раньше называли растворимыми РНК.

Функции тРНК заключаются в доставке аминокислот к рибосомам, взаимодействии с мРНК и рибосомами в процессе биосинтеза белка. Для переноса каждой аминокислоты имеется своя тРНК, а для некоторых из них известно несколько тРНК и общее число видов тРНК доходит до 60.

Транспортные РНК содержат много (8–19 %) нуклеотидов с минорными основаниями, среди них различные метилированные аденины и гуанины, метилированные тимин, цитозин и др.

Форма молекулы транспортных РНК укладывается в структуру, получившую название *клеверного листа* (рис. 3.4).

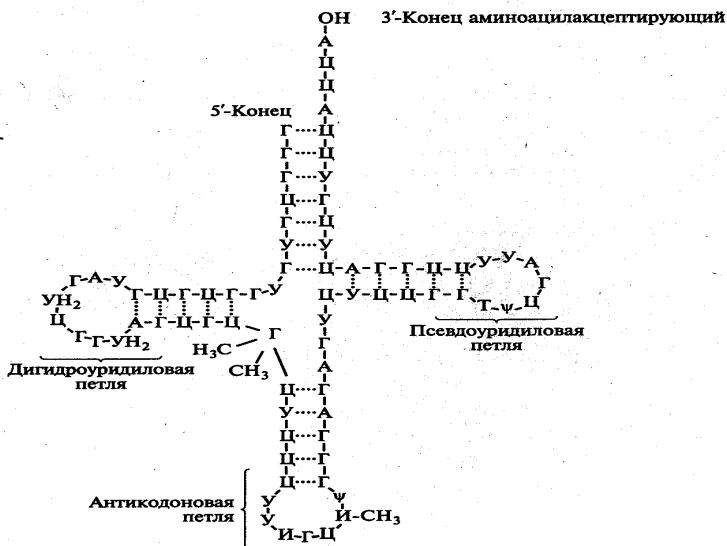


Рис. 3.4. Схема вторичной структуры аланиновой тРНК дрожжей

Эта структура состоит из спирализованных областей, в которых между соответствующими парами оснований (обычно между А и У, Г и Ц) образовались водородные связи, и трех основных петель, образованных неспаренными основаниями. Одна из таких петель несет *антикодон*, т.е. такой триплет в молекуле тРНК, который непосредственно взаимодействует с комплементарным кодоном мРНК. Антикодоны являются индивидуальными для каждого вида тРНК.

Также в молекуле тРНК имеется минорная петля неодинакового размера в разных транспортных РНК. Акцептирующий аминокислоту стебель всех тРНК заканчивается последовательностью ЦЦА.

3.5. Свободные нуклеотиды и их производные. Динуклеотиды

Нуклеотиды могут находиться в клетках в свободном состоянии. Они образуются либо путем синтеза, либо в результате частичного гидролиза нуклеиновых кислот. Нуклеотиды в своем составе могут содержать дополнительно один или два остатка фосфорной кислоты, т.е. встречаться в клетках в виде нуклеозид-5'-дифосфатов (НДФ) и нуклеозид-5'-трифосфатов (НТФ). В названии каждого из этих соединений учитываются входящие в его состав основание и пентоза. Например, рибонуклеозидфосфаты, содержащие аденин и один, два или три остатка фосфорной кислоты, называются соответственно аденозинмонофосфат (АМФ), аденозиндифосфат (АДФ) и аденозинтрифосфат (АТФ) (рис. 3.5); содержащие урацил – уридинмонофосфат (УМФ), уридиндифосфат (УДФ) и уридинтрифосфат (УТФ) и т.д.

Аналогичное строение имеют ГТФ, ЦТФ. При названии дезоксирибонуклеозидфосфатов добавляется приставка «дезокси-» (сокр. «д»). Например, дезоксиаденозинмонофосфат (дАМФ), дезоксиаденозиндифосфат (дАДФ), дезоксиаденозинтрифосфат (дАТФ) и т.д.

Знаком « — » в формулах нуклеозидтрифосфатов и нуклеозиддифосфатов обозначаются высокоэнергетические фосфатные связи (макроэргические связи). Фосфатные группы, содержащие высокоэнергетические связи, могут быть перенесены на другие соединения, в результате чего последние становятся более реакционно-способными и включаются в метаболические реакции.

НДФ и НТФ выполняют многие функции. Например, УДФ в форме уридиндифосфатглюкозы выступает как донор (переносчик) остатка глюкозы при биосинтезе гликогена, крахмала, сахарозы; цитидиндифосфат служит донором холина при биосинтезе холинсодержащих фосфолипидов. НТФ служат высокоэнергетическими предшественниками моонуклеотидов при биосинтезе РНК и ДНК.

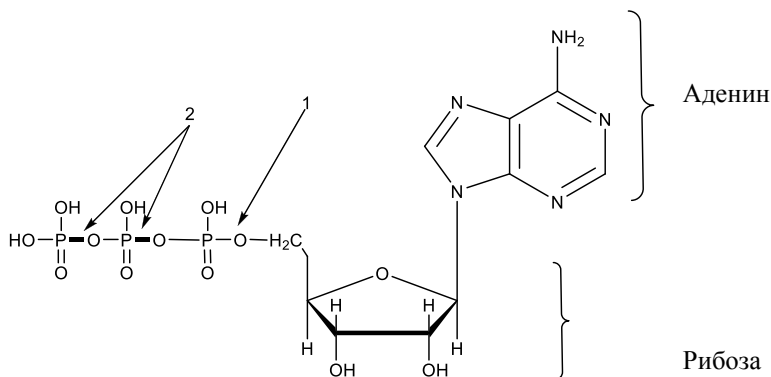


Рис. 3.5. Структура АТФ:

1 – обычная сложноэфирная связь;

2 – высокоэнергетические (макроэргические) связи

Для нормальной жизнедеятельности клетки важное значение имеют все НТФ, но среди них особое место занимает АТФ. Большая часть энергии, освобождающейся в процессе брожения, дыхания, фотосинтеза, запасается в виде АТФ. Аденозинтрифосфат во всех клетках выступает в качестве депо для хранения и переноса химической энергии (на молекулярном уровне). Она действует как связующее звено между процессами, производящими энергию, и процессами, требующими затраты энергии. Освобождение и передача энергии, кумулированной в макроэргических связях АТФ, происходит при разрыве сложноэфирных связей и отщеплении третьего и второго остатков фосфорной кислоты. Образовавшиеся

при этом АДФ или АМФ подвергаются ресинтезу, превращаясь в АТФ, присоединяя новые остатки фосфорной кислоты.

Для образования одной высокоэнергетической фосфатной связи АТФ требуется 30,6 кДж/моль энергии. Следовательно, АТФ образуется в реакциях, при которых выход энергии составляет не меньше 30,6 кДж/моль. Вся энергия, высвобождающаяся в данной реакции сверх 30,6 кДж/моль, равно как и вся энергия от реакций, дающих менее 30,6 кДж/моль, не может быть запасена в АТФ и рассеивается в виде тепла.

В клетках из НТФ образуются соответствующие циклические нуклеотиды. Например, из АТФ при участии фермента аденилатциклаза образуется аденозин-3',5'-циклический фосфат (3',5'-цикло-АМФ, или 3',5'-цАМФ) (рис. 3.6).

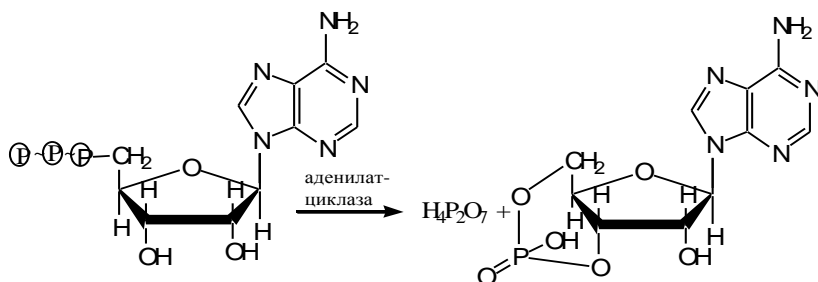


Рис. 3.6. Схема образования и строения 3',5'-цикло-АМФ

В живом организме это соединение участвует в регуляции обмена веществ. У растений его роль в обмене веществ пока неизвестна. Кроме того, в организмах обнаружены 3',5'-цГМФ и другие циклические нуклеотиды.

В клетках содержатся моонуклеотиды, которые не встречаются в нуклеиновых кислотах. К ним относятся никотинамидмоонуклеотид, флавиномоонуклеотид и кофермент А. Они имеют важное значение в обмене.

Среди динуклеотидов, имеющих важное значение в обмене веществ, в клетках содержатся никотинамидадениндинуклеотид (НАД⁺), никотинамидадениндинуклеотидфосфат (НАДФ⁺), флавинадениндинуклеотид (ФАД). Все они содержат в качестве нуклео-

тида АМФ. В НАД⁺ и НАДФ⁺ входит нуклеотид никотинамидмононуклеотид, в ФАД – флавинмононуклеотид. Во всех трех динуклеотидах мононуклеотидные единицы связаны между собой ангидридной связью; их фосфатные группы образуют 5',5'-пирофосфатный мостик (рис. 3.7).

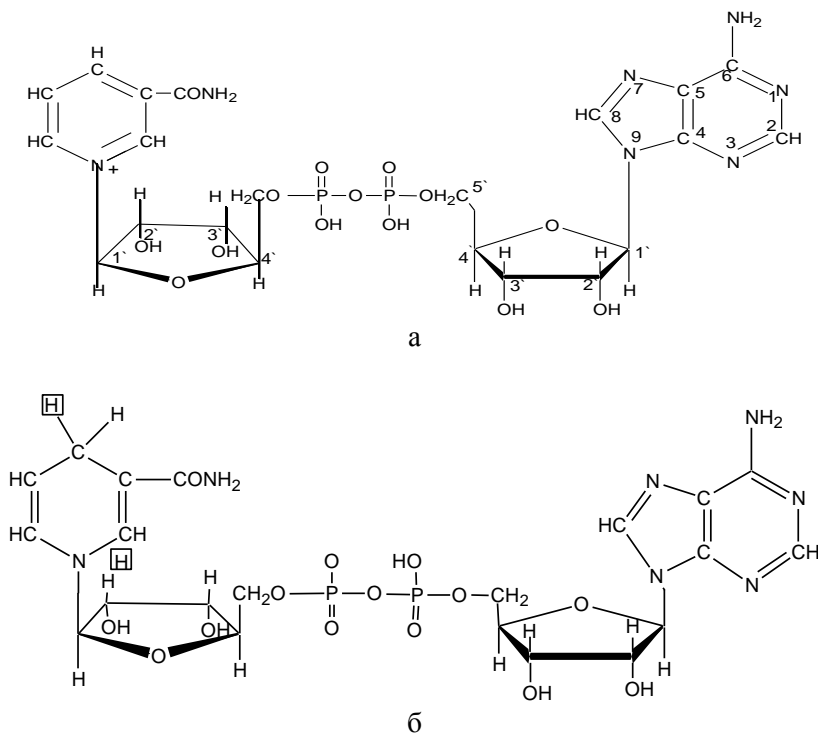


Рис. 3.7. Строение НАД⁺: а – окисленная форма НАД (НАД⁺); б – восстановленная форма НАД⁺ (НАДН + Н⁺)

Глава 4. ФЕРМЕНТЫ

4.1. Общее понятие о ферментах. Иммобилизованные ферменты

Ферменты, или *энзимы*, – биологические катализаторы, образующиеся и функционирующие во всех живых организмах. Из приведенных названий в литературе на русском языке принят термин «ферменты», а процессы, происходящие с участием катализаторов, именуют ферментативными. Однако научное направление, занимающееся изучением ферментов и процессов с их участием, называется энзимологией. Вещество, превращение которого катализирует фермент, называют *субстратом*.

Ферменты являются важнейшими компонентами клеток, они тесным образом связаны с разнообразными процессами жизнедеятельности, их роль как биокатализаторов биохимических превращений подобна роли катализаторов в других химических реакциях. По определению И.П. Павлова, «ферменты есть <...> первый акт жизнедеятельности <...> они <...> возбудители всех химических превращений <...> основной пункт, центр тяжести физиолого-химического знания».

Человек с давних пор использовал в своей практической деятельности различные ферментативные процессы. Изготовление вина, уксуса и сыра, сквашивание молока, выделка меха и кожи, применение заквасок при изготовлении хлеба, осахаривание крахмалистых продуктов солодом – все это процессы, основанные на действии ферментов. Однако экспериментальное изучение ферментативных процессов началось во второй половине XVIII века после того, как француз Р.А. Реомюр и итальянец Л. Спаланцени описали свои опыты по перевариванию мяса в желудке птицы.

Первое научное представление о ферментах было дано в 1814 г. действительным членом Петербургской академии наук К.С. Кирхгофом, который показал, что водная вытяжка из проросшего ячменя способна превращать крахмал в сахар. В 1833 г. французские химики А. Пайен и Ж.Ф. Персо доказали, что описанное К.С. Кирхгофом активное начало может быть выделено из водной солодовой вытяжки путем осаждения спиртом. Это

активное начало было названо ими *диастаза*. Вскоре были описаны действия синигриназы – фермента из семян горчицы, пепсина и трипсина – из пищеварительных соков, инвертазы – из дрожжей. В результате к середине XIX века накопился значительный материал о распространении и свойствах ферментов.

Важная роль в развитии представлений о природе ферментов принадлежит немецкому химику Ю. Либиху. Обобщая накопленный в то время материал о природе ферментов и сущности брожения, он предположил, что все процессы брожения являются чисто химическими, вызываемыми растворимыми ферментами, подобными диастазу солода или пепсину желудочного сока.

В противоположность Ю. Либиху основатель современной микробиологии, великий французский естествоиспытатель Л. Пастер на основании своих опытов, посвященных природе спиртового брожения, пришел к выводу, что брожение может быть вызвано только живыми микроорганизмами и является неотъемлемой частью их жизни. Следует отметить, что Л. Пастер неоднократно предпринимал попытки получить бесклеточный дрожжевой сок, который мог бы вызвать спиртовое брожение, но его опыты, как и опыты других исследователей в этом направлении, в то время не увенчались успехом.

Работы Л. Пастера привели к разграничению биологических катализаторов на растворимые ферменты, получаемые в виде экстрактов или ферментных препаратов, и микроорганизмы, вызывающие различные виды брожения. Первые были названы «неорганизованными» ферментами, а вторые – «организованными» ферментами. Было определено, что «организованные» ферменты проявляют свое действие на субстрат только при наличии живых клеток (например, ферменты дрожжей вызывают спиртовое брожение); «неорганизованные» ферменты проявляют свое действие вне клеток, их образовавших (например, пепсин в полости желудка). В 1878 г. В. Кюне предложил назвать «неорганизованные» ферменты *энзимами*.

Спор Ю. Либиха и Л. Пастера о природе брожений был решен в 1897 г. Э. Бухнером, который путем растирания дрожжей с кварцевым песком и последующим прессованием и фильтрацией под высоким давлением получил бесклеточный дрожжевой сок, вызывающий спиртовое брожение. Таким образом, процесс спир-

тового брожения был осуществлен с помощью содержащихся в дрожжевом соке растворимых ферментов. Впоследствии ферментативная система спиртового брожения получила название *зимазы* (от *zyme* – дрожжи). В лаборатории профессора Московского университета А.Н. Лебедева зимаза была получена более простым путем: настаивание в теплой воде высушенных дрожжевых клеток.

Спустя несколько лет О.Ф. Мейергоф показал, что бесклеточные экстракты скелетных мышц катализируют все реакции превращения глюкозы в молочную кислоту.

Спор о природе брожений и открытие Э. Бухнера положили начало детальному изучению ферментативных процессов и ферментов, вызывающих их.

Ферменты, являясь катализаторами биологической природы, имеют ряд свойств, общих с небиологическими катализаторами. Они, как и небиологические катализаторы, ускоряют только существующие реакции и не могут возбуждать реакции, противоречащие законам термодинамики; не расходуются в процессе катализа, не смещают равновесие реакции, а лишь ускоряют его достижение.

В то же время ферменты существенно отличаются от катализаторов небиологической природы. Это отличие состоит в том, что ферменты функционируют только в водной среде, при атмосферном давлении, при температуре 30–40 °С (за некоторым исключением), при рН среды от 2 до 10 (зависит от конкретного фермента) и очень интенсивно. При оптимальных условиях большинство ферментативных реакций протекает в 10^8 – 10^{11} раз быстрее, чем те же реакции в отсутствие ферментов. Например, ионы железа катализируют разложение пероксида водорода на воду и кислород. Однако атомы того же железа в составе фермента каталазы действуют намного эффективнее и 1 мг железа в ферменте способен заменить в этой реакции 10 т неорганического железа. Активность фермента в клетке строго регулируется. В реакциях, катализируемых ферментами, выход продукта практически составляет 100 %. Для ферментов характерна кооперативность и жесткая запрограммированность этапов действия, т.е. благодаря особой структуре каждого фермента процесс ферментативного катализа представляет собой серию элементарных превращений вещества, строжайшим образом организованных в пространстве и во времени.

Ферменты идеально приспособлены для работы в живой клетке, но после выделения из клетки они не теряют свои каталитические свойства. На этом основано практическое применение ферментов в химической, пищевой, легкой и фармацевтической промышленности.

В перечисленных отраслях промышленности наиболее широко применяют препараты свободных ферментов, срок их использования составляет всего один производственный цикл. Однако в живой природе большая часть ферментов фиксирована на поверхности клеточных структур – наиболее часто те или иные ферменты «вмонтированы» в белково-липидные мембраны клетки. Например, ферментный комплекс, синтезирующий АТФ в процессе дыхания, «вмонтирован» во внутренние мембраны митохондрий кристы.

Принцип связывания ферментов с различными структурами клетки в настоящее время используют в биотехнологии. При этом ферменты прикрепляют (иммобилизуют) к поверхности какого-либо твердого носителя (целлюлоза и ее производные, полиакриламид, пористое стекло, нейлон, алюмосиликаты и др.), что позволяет не только сохранить их каталитические свойства, но и повысить стабильность. Такие ферменты получили название *иммобилизованных*.

Иммобилизованные ферменты обладают рядом преимуществ по сравнению с природными предшественниками: во-первых, их можно легко отделить от реакционной среды и использовать повторно; во-вторых, процесс можно вести непрерывно (в проточных колонках) и, изменяя скорость потока, регулировать скорость каталитической реакции и выход продукта. Иммобилизованные ферменты успешно используются для получения глюкозы из крахмала, получения глюкозо-фруктозного сиропа и в других крупнотоннажных производствах.

4.2. Химическая природа и строение ферментов. Активный центр ферментов

Ферменты по химической природе – белки, каталитическая активность которых зависит от степени сохранности нативной структуры и упаковки в пространстве их полипептидных цепей.

Предположения о белковой природе ферментов были высказаны к началу XX в. профессором Московского университета Н.Е. Ляковским, академиком И.П. Павловым, немецким химиком Э. Фишером и др. Например, в лаборатории И.П. Павлова было установлено, что ферментативная активность желудочного сока всегда прямо пропорциональна содержанию в соке белка. Отсюда было сделано заключение, что пепсин желудочного сока является белком.

Выдающийся немецкий химик и биохимик Р. Вильштетгер, начавший после Первой мировой войны работы по получению ферментов в высокоочищенном состоянии и по установлению их химической природы, пришел к выводу, что ферменты не являются белками, а лишь адсорбированы на белках; причем при отсутствии белкового носителя они не могут проявлять свою каталитическую активность. В 1926 г. ученый констатировал, что ферменты не могут быть отнесены ни к белкам, ни к какому-либо другому классу известных органических соединений, а представляют собой особые вещества.

В том же 1926 г. американскому биохимику Д. Самнеру удалось из семян канавалии получить фермент уреазу в виде белковых кристаллов. Вследствие огромного авторитета, которым пользовался Р. Вильштетгер, сообщение Д. Самнера о том, что кристаллизован фермент, было встречено с недоверием. Несколько позже в 1930 г. Д. Нортроп выделил в виде белковых кристаллов пепсин, а в 1931 г. Д. Нортроп и М. Куниц получили кристаллический трипсин. Этими работами окончательно была доказана белковая природа ферментов и разработан путь получения высокоочищенных кристаллических препаратов ферментов.

Таким образом, *ферменты – это специфические белки, обладающие каталитическими свойствами.*

За открытие свойства кристаллизации ферментов и за получение ферментов в чистом виде Д. Самнеру и Д. Нортропу в 1946 г. была присуждена Нобелевская премия. К настоящему вре-

мени несколько сотен ферментов выделено в кристаллических формах и изучена структура многих из них.

Молекулярная масса ферментов колеблется от десятков тысяч до нескольких миллионов. Например, молекулярная масса рибонуклеазы составляет 13 700, пепсина – 35 000, β -амилазы – около 150 000, синтазы жирных кислот из дрожжей – 2,3 млн. По форме молекул ферменты относятся к глобулярным белкам.

Ферменты подразделяются на две группы: однокомпонентные и двухкомпонентные. К первой группе относятся ферменты, состоящие только из белка, а ко второй – состоящие из белка и связанной с ним небелковой части (*активная группа* или *кофактор*). Белковая часть двухкомпонентного фермента называется *апоферментом*, небелковая часть – *простетической группой* или *коферментом*, а молекула в целом *холоферментом*.

Прочность связи между белковой и небелковой частями у отдельных ферментов различна. В связи с этим небелковую часть, сравнительно прочно связанную с апоферментом, называют *простетической группой*, а небелковую часть, сравнительно легко удаляющуюся через полупроницаемую мембрану при диализе, – *коферментом*. Однако такое подразделение нельзя абсолютизировать, так как одна и та же небелковая группа в одном ферменте может быть связана очень слабо, а в другом – достаточно прочно.

Соединение апофермента и кофактора осуществляется гидрофобными взаимодействиями, ионными и водородными связями, реже ковалентными связями.

Молекула двухкомпонентного фермента становится каталитически активной только после соединения апофермента с кофактором. В отдельности апофермент каталитически неактивен, а кофактор (включая кофермент) обладает незначительной активностью.

Функции составных частей двухкомпонентного фермента в ферментативной реакции различны. Кофактор стабилизирует белковую часть фермента, осуществляет контакт между ферментом и субстратом, принимает участие в самом акте катализа. Апофермент, в свою очередь, усиливает каталитическую активность небелковой части и определяет специфичность действия фермента, т.е. ту реакцию, в которой примет участие присоединенный к нему кофактор.

Один и тот же по химическому строению кофактор может функционировать в составе различных ферментов. Например, ферменты каталаза и пероксидаза в качестве простетической группы содержат гематин, который у обоих ферментов имеет одинаковое строение, однако каталаза катализирует реакцию расщепления пероксида водорода на воду и кислород, а пероксидаза – окисление пероксидом водорода различных органических соединений (фенолов, аминов и др.). Различия в каталитической функции каталазы и пероксидазы обусловлены различием в строении белков, связанных в этих ферментах с одной и той же простетической группой.

В качестве кофакторов двухкомпонентных ферментов могут функционировать различные органические и неорганические вещества. Из органических соединений функцию кофакторов выполняют многие витамины, нуклеотиды (ФМН и др.), динуклеотиды (НАД⁺, НАДФ⁺, ФАД), железопорфирины (гем и гематин), глутатион, липоевая кислота, убихинон и другие соединения. Из неорганических веществ функцию кофактора выполняют ионы различных металлов: цинка, меди, железа, молибдена, никеля, марганца, магния, кальция и др. В одних ферментах металлы прочно связаны с белком и не отделяются от него в процессе очистки. В других ферментах металл непрочно связан с белком и легко отделяется от него.

Активный центр. Размеры молекул ферментов намного превышают размеры субстратов или функциональных групп, на которые они действуют. Следовательно, субстрат соединяется не со всей молекулой фермента, а с отдельным его участком, называемым активным центром, т.е. та часть фермента, в которой происходит связывание и превращение субстрата. Этот термин применяется учеными примерно с 1920 г. для обозначения особо активных участков на поверхности неорганических катализаторов; применительно к ферментам его стали использовать несколькими годами позже.

Активный центр образуется из радикалов аминокислотных остатков полипептидной цепи при формировании ее третичной структуры. У двухкомпонентных ферментов в состав активного центра входят и некоторые группировки небелковой части. Доработка активного центра двухкомпонентных ферментов происхо-

дит после взаимодействия апофермента с небелковой частью. Нарушение третичной структуры фермента под влиянием различных факторов приводит к деформации активного центра и изменению ферментативной активности.

Наиболее часто в состав активных центров ферментов входят радикалы серина, гистидина, цистеина, аргинина, аспарагиновой и глутаминовой кислот. В настоящее время для многих ферментов известны аминокислоты, образующие их активный центр. Например, в активный центр фермента химотрипсина входит остаток гистидина, находящийся в положении 57; остаток серина, находящийся в положении 195, и остаток аспарагиновой кислоты, находящийся в положении 102 (всего в химотрипсине 245 аминокислотных остатков). В активный центр фермента папаина входят радикалы цистеина и гистидина.

Активный центр функционально неоднороден. В нем условно выделяют *каталитически активный* участок, где происходит превращение субстрата (расщепление или синтез связи), и так называемый контактный, или *«якорный»*, участок, который обеспечивает присоединение субстрата к ферменту.

Методом рентгеноструктурного анализа установлено, что активный центр фермента часто представляет собой щель, углубление или карман, трехмерное ограниченное пространство на поверхности молекулы фермента (рис. 4.1). По строению активный центр характеризуется тонохимическим соответствием молекуле субстрата. На его внутренней поверхности расположены определенным образом формирующие его специфические группы в соответствии с расположением функциональных групп присоединяемого субстрата в процессе образования фермент-субстратного комплекса.

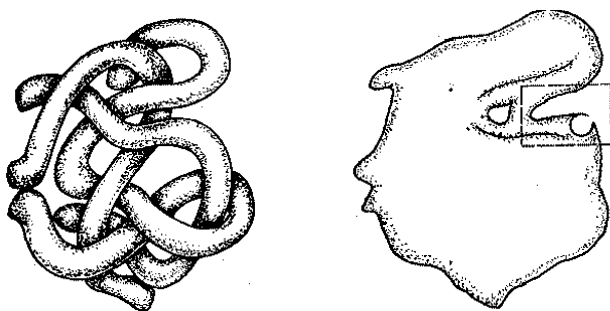


Рис. 4.1. Силуэт молекулы фермента с активным центром

Кроме активного центра, в молекуле фермента может присутствовать *аллостерический* центр, который представляет участок молекулы, присоединение к которому определенных веществ приводит к изменению третичной структуры молекулы фермента. В результате этого происходит изменение конфигурации активного центра, сопровождающееся либо увеличением, либо снижением каталитической активности фермента. Это явление лежит в основе так называемой аллостерической регуляции активности ферментов (аллостерическое эффектирование). Ферменты, активность которых регулируется веществами, присоединяющимися к аллостерическому центру, называются аллостерическими ферментами.

4.3. Механизм ферментативного катализа

Молекулы любого вещества при постоянной температуре сильно различаются по количеству содержащейся в них внутренней энергии. Наряду с этим любая химическая реакция имеет определенный «энергетический барьер» и может произойти только в том случае, если реагенты (реагирующие молекулы) обладают запасом энергии, достаточным для достижения ими вершины этого барьера и перехода в промежуточное состояние, называемое *активированным комплексом* или *переходным состоянием*. В переходном состоянии возможно одновременное образование новых и разрыв старых химических связей. Скорость любой химической реакции пропорциональна концентрации молекул, находящихся в

переходном состоянии; она будет высокой, если на вершине энергетического барьера находится значительная доля молекул, и очень низкой, если доля таких молекул невелика.

Активация молекул может происходить при повышении температуры, в результате поглощения лучистой энергии, при столкновении с другими возбужденными молекулами или атомами, передающими им часть своей энергии. Количество энергии, необходимое для достижения при данной температуре всеми молекулами одного моля вещества переходного состояния, соответствующего вершине энергетического барьера, называется энергией активации. Иначе говоря, энергия активации представляет собой «энергетический барьер», который нужно преодолеть для того, чтобы произошла реакция.

Таким образом, один из путей повышения скорости химической реакции состоит в увеличении доли молекул, обладающих достаточной внутренней энергией для достижения переходного состояния.

Второй путь ускорения химической реакции – добавление катализатора. Влияние катализатора на скорость реакции называется катализом. Различают *гомогенный* и *гетерогенный* катализ. При гомогенном катализе катализатор и реагенты находятся в одной и той же фазе, при гетерогенном катализе – в разных фазах. Ферментативные реакции обычно относятся к микрогетерогенным каталитическим реакциям. Это означает, что фермент образует дисперсную фазу, на поверхности которой идут реакции между веществами, растворенными в дисперсионной среде.

Хотя механизмы химических реакций могут сильно различаться, все они имеют общий признак, который состоит в том, что в присутствии катализатора понижается энергия активации (рис. 4.2). Причем ферменты снижают энергию активации значительно сильнее, чем неорганические катализаторы.

На заключительной стадии биокаталитического процесса фермент, как и катализатор, освобождается и вступает во взаимодействие с новыми молекулами субстрата, совершая множество «оборотов» данной химической реакции.

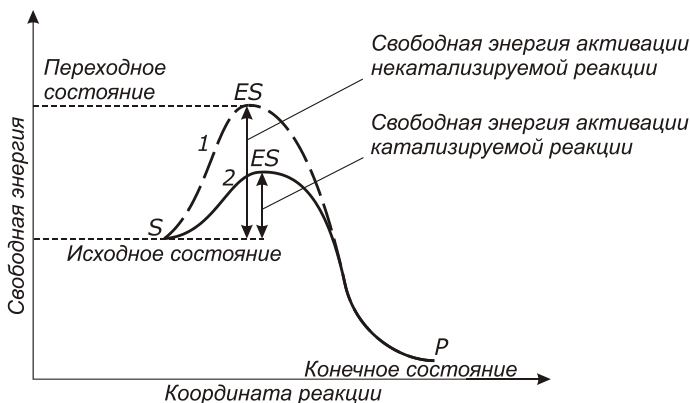


Рис. 4.2. Изменение свободной энергии реакционной системы, участвующей в неферментативной (1) и ферментативной (2) реакциях: S – исходный субстрат; ES – фермент-субстратный комплекс; P – продукт реакции

Ведущую роль в механизме ферментативного катализа играют фермент-субстратные комплексы, в которых обратимо меняется третичная структура (конформация) фермента, что способствует оптимальному пространственному соответствию активного центра фермента и молекул субстрата (рис. 4.3).

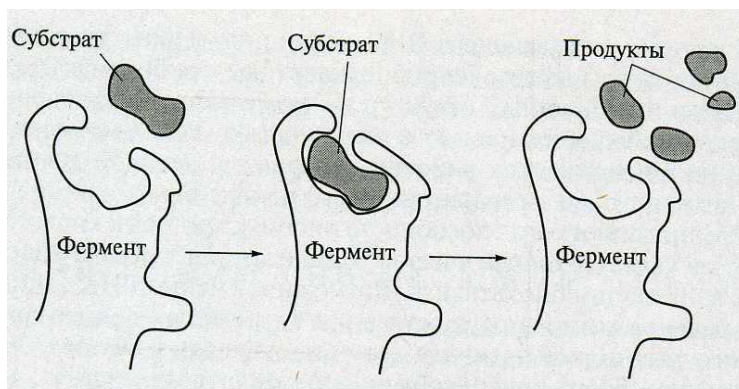


Рис. 4.3. Модель ферментативного расщепления молекулы субстрата при кратковременном изменении конформации фермента через образование фермент-субстратного комплекса

На первой стадии ферментативной реакции возникает соединение, в котором фермент и субстрат связаны ковалентной или ионной связью. На второй стадии субстрат под действием связанного с ним фермента активируется, т.е. претерпевает изменение, делающее его более доступным для соответствующей химической реакции. На третьей стадии происходит химическая реакция (на поверхности фермента). На заключительной стадии образовавшийся продукт реакции освобождается из комплекса фермент – продукт.

Если фермент обозначить E, субстрат – S, активированный субстрат – S', продукт реакции – P, то указанную последовательность процессов можно описать следующим образом:



Предположение о том, что фермент образует промежуточный комплекс со своим субстратом, впервые высказали независимо друг от друга А. Браун и В. Анри в 1902 г. В 1913 г. Л. Михаэлис и М. Ментен подтвердили и развили это предположение, создав основу всех современных концепций о механизме действия ферментов.

4.4. Обратимость действия ферментов

Многие реакции, катализируемые ферментами, обратимы, т.е. один и тот же фермент в зависимости от определенных условий может катализировать реакцию в обоих направлениях. В 1884 г. А.Я. Данилевский синтезировал с помощью ферментов из продуктов расщепления белков белковоподобные вещества – *пластеины*, показав при этом важный факт обратимости действия ферментов. В 1898 г. А.К. Хилл при действии на концентрированный раствор глюкозы фермента мальтазы, катализирующей гидролиз мальтозы, получил изомальтозу. В начале XX века Э. Буркло с сотрудниками при действии β-гликозидазы из миндаля и α-гликозидазы из дрожжей (оба фермента катализируют гидролиз гликозидов) на концентрированные растворы глюкозы в 80–95 % метиловом и этиловом спиртах получили метил- и этилгликозиды. В этих опытах выход гликозидов достигал сотен граммов и даже килограм-

мов. Таким образом, в концентрированных растворах реагентов создаются условия для сдвига равновесия в сторону синтеза.

Сдвиг равновесия в сторону синтеза может быть достигнут и при условии, когда продукт реакции, имея очень незначительную растворимость, сразу же после образования выпадает в осадок, т.е. удаляется из сферы реакции. Исходя из этого принципа с помощью растительных пептидгидролаз – папаина и фецина – был синтезирован ряд пептидов и полипептидов. Весьма существенно, что синтез происходит в тех же условиях рН, температуры и концентрации, при которых эти ферменты проявляют гидролитическое действие.

За последние годы вне организма были осуществлены ферментативные синтезы различных полисахаридов и даже нуклеиновых кислот. Все приведенные примеры не только доказывают обратимость действия ферментов, но и открывают новые пути органического синтеза.

Обратимость действия ферментов бесспорно доказана вне организма. Однако в живой клетке большинство ферментативных синтезов происходит под действием других ферментов, а не тех, которые катализируют расщепление того или иного соединения, и, следовательно, не благодаря обратимости действия ферментов. Это, по-видимому, связано с тем, что в живой клетке в большинстве случаев происходит удаление продуктов реакции и, кроме того, реакции синтеза и соответствующие им реакции распада часто локализованы в разных участках, или отсеках (компартаментах), клетки. Компартаментализация гарантирует независимое протекание процессов синтеза и распада и обеспечивает благоприятные энергетические условия для них.

В то же время, по-видимому, нельзя полностью отрицать, что в ряде случаев синтез тех или иных соединений в клетке может осуществляться благодаря обратимости действия ферментов. Теоретические предпосылки к этому имеются.

Для осуществления любой как обратимой, так и необратимой ферментативной реакции необходимо, чтобы фермент и субстрат образовали промежуточный фермент-субстратный комплекс. Этот комплекс может образоваться только в случае соответствия между структурами активного центра фермента и субстрата (или продукта). Молекулы субстрата и продукта несколько различаются

по форме, и активный центр фермента не может одновременно точно соответствовать и субстрату, и продукту. Чтобы произошло взаимодействие между субстратом (или продуктом) и активным центром фермента, должно произойти некоторое изменение конформации как фермента, так и субстрата. Масштаб этих изменений зависит от жесткости химических структур молекул фермента и субстрата.

4.5. Специфичность ферментов

Под специфичностью ферментов понимают способность каждого из них катализировать одну или несколько близких по природе химических реакций. Это одно из важнейших биологических явлений, без которого невозможен упорядоченный обмен веществ в живом организме, а следовательно, и сама жизнь.

Исследуя природу ферментативного катализа, Э. Фишер в 1890-х годах пришел к выводу, что специфичность ферментов можно уподобить соответствию между «ключом и замком». При этом подразумевается, что активный центр фермента имеет жесткую структуру подобно замку. Молекула субстрата должна иметь комплементарную структуру, чтобы входить в активный центр подобно ключу. Представление Э. Фишера об активном центре фермента как жесткой структуре не подвергалось сомнению в течение полувека.

По мере изучения механизма действия ферментов был выявлен ряд данных, которые нельзя согласовать с теорией «ключа и замка». Например, фермент не может атаковать (подвергнуть превращению) молекулы веществ, обладающие меньшим или большим размером по сравнению с субстратом, но имеющие такие же группы для взаимодействия с ферментом, что и субстрат. Следует отметить, что в ряде случаев такие молекулы связываются с контактным участком активного центра, но при этом превращение субстрата не происходит.

Приняв во внимание эти факты, Д. Кошланд в 1959 году предложил теорию индуцированного соответствия, предполагающую гибкую структуру молекул фермента и его активного центра. Согласно этой теории при образовании фермент-субстратного комплекса активный центр фермента претерпевает простран-

ственную модификацию, приводящую к его химическому соответствию с субстратом. Это облегчает их взаимодействие и ускоряет реакцию.

При исследовании специфичности ферментов установлено, что ферментативная реакция при прочих равных условиях может произойти только в том случае, если: во-первых, молекула субстрата имеет химическую связь, которую может атаковать фермент; во-вторых, содержит группы, способные связаться с ферментом и ориентировать молекулу субстрата в активном центре таким образом, чтобы атакуемая связь субстрата была правильно расположена по отношению к каталитически активному участку.

Таким образом, специфичность ферментативного катализа определяется комплементарностью строения фермента и субстрата, т.е. структурной и химической взаимодополняемостью молекул субстрата и фермента.

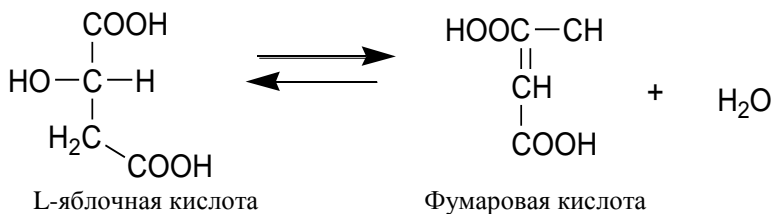
Специфичность у разных ферментов выражена в неодинаковой степени. Различают следующие типы специфичности.

Абсолютная (индивидуальная) специфичность. При этом типе специфичности фермент катализирует превращение только одного субстрата. Примером практически абсолютной специфичности служит фермент уреазы, катализирующая гидролиз мочевины ($\text{NH}_2\text{-CO-NH}_2$) с образованием аммиака и диоксида углерода. Благодаря чрезвычайно высокой специфичности уреазы используют как реактив для количественного определения мочевины. Фермент каталаза катализирует расщепление пероксида водорода на воду и кислород; ее действие ограничивается только этим субстратом.

Групповая (относительная) специфичность. Основным признаком для ферментов этого типа специфичности служит характер разрушаемой или создаваемой связи в близких по строению веществах. К ферментам с групповой специфичностью относятся липазы, катализирующие гидролиз сложных эфиров глицерина и карбоновых кислот; фосфатазы, действующие на эфиры фосфорной кислоты; пептидгидролазы, катализирующие гидролиз пептидных связей в белках и пептидах и др.

Стереохимическая специфичность. Ферменты этого типа специфичности действуют на определенный изомер одного и того же оптически активного вещества: D- или L-, α - или β -, транс- или цис-

изомеры. Пептидгидролазы действуют только на пептиды, образованные аминокислотами L-ряда; на α -гликозиды действует α -гликозидаза, на β -гликозиды – β -гликозидаза. Фумаратгидратаза катализирует взаимопревращение только L-яблочной и фумаровой кислот (транс-изомер – карбоксильные группы в молекуле расположены по разные стороны от двойной связи):



Малеиновая кислота (цис-изомер – карбоксильные группы в молекуле расположены по одну сторону от двойной связи) и D-яблочная кислота не являются субстратами фумарат-гидратазы.

Малеиновая кислота в природе не встречается. Некоторые ее производные, например, гидразид малеиновой кислоты, даже в малых количествах подавляют прорастание овощей и корней сахарной свеклы при хранении.

4.6. Кинетика ферментативных реакций

Химическая кинетика – учение о скоростях и механизмах химических реакций. Ферментативная кинетика изучает закономерности влияния химической природы реагирующих веществ (фермента, субстратов) и условий их взаимодействия (концентрация фермента, концентрация субстратов или ингибиторов и др.) на скорость ферментативных реакций.

Изучение кинетики действия ферментов имеет практическое и теоретическое значение. При выборе количества фермента (числа единиц активности) необходимо знать оптимальные условия его действия, а также то, как влияют на его активность (скорость ферментативной реакции) различные факторы. Кроме того, исследование влияния различных факторов на скорость определенной ре-

акции дает возможность делать выводы о механизме действия фермента.

4.6.1. Измерение скорости ферментативных реакций

Мерой скорости ферментативной реакции служит количество субстрата, подвергшегося превращению в единицу времени, или количество образовавшегося продукта. В связи с тем что скорость ферментативной реакции под влиянием различных причин (уменьшение количества субстрата по мере осуществления реакции, ингибирование фермента продуктами реакции и т.п.) со временем снижается, измеряют только *начальную скорость*, т.е. скорость реакции в начальный период, когда различные факторы, замедляющие ее, еще не проявляют своего действия. Для определения начальной скорости достаточно построить только начальный участок кривой ферментативной реакции. Если этот участок представляет собой прямую линию, тангенс угла наклона этой прямой будет показателем скорости реакции. Если линейный участок кривой очень мал, то начальную скорость реакции определяют по тангенсу угла наклона касательной к кинетической кривой в начальной (нулевой) точке (рис. 4.4).

При оптимальном подборе разведений фермента и субстрата графики обычно представляют собой практически прямые линии до тех пор, пока степень превращения субстрата не превысит 20 % от максимально возможной. Поэтому при изучении влияния какого-либо фактора на скорость ферментативной реакции все измерения необходимо производить только на начальной ее стадии.

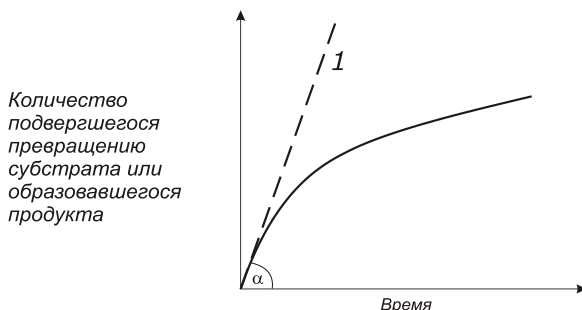


Рис. 4.4. Кинетическая кривая ферментативной реакции:
 1 – касательная, наклон которой соответствует начальной скорости реакции;
 α – угол наклона касательной к кинетической кривой

4.6.2. Единицы активности ферментов

Любой фермент или ферментативный препарат характеризуется по каталитической активности, которую определяют, как и влияние различных факторов на скорость реакции, на основе измерений начальной скорости ферментативной реакции при заданных условиях (оптимальное значение pH, определенная температура – обычно в интервале от 25 до 38 °С и при концентрации субстрата, близкой к насыщающей все молекулы фермента).

Для выражения каталитической активности Комиссией по ферментам Международного биохимического союза (1961 г.) была рекомендована стандартная единица, обозначаемая на русском языке – Е, а на английском – U.

Стандартная единица – это такое количество фермента, которое при заданных условиях катализирует превращение одного микромоля субстрата за одну минуту. При определении числа стандартных единиц фермента в исследуемом объекте рекомендуется, где это возможно, придерживаться температуры 25 °С; pH и концентрация субстрата должны быть по возможности оптимальными. Температура 25 °С рекомендуется в связи с тем, что она является стандартной в физической химии. В 1964 г. Международный биохимический союз во втором издании своих рекомендаций предложил проводить исследование при температуре 30 °С.

Это было сделано в связи с тем, что климатические условия ряда стран затрудняют термостатирование при 25 °С.

В 1972 г. Комиссия по ферментам Международного биохимического союза предложила выражать активность ферментов в *каталах*. Катал (обозначение – кат) – это такое количество фермента, которое способно превращать один моль субстрата за одну секунду (при оптимальных условиях). Эта единица каталитической активности фермента находится в соответствии с единицами измерения системы СИ. В настоящее время катал является *официальной единицей* каталитической активности.

С учетом того, что каталитическая активность в один катал, соответствующая скорости реакции $1 \text{ моль} \cdot \text{с}^{-1}$, принимает высокие значения для практического использования (превращения идут с гораздо меньшей скоростью), каталитические активности часто выражают в микрокаталах (мккат = $1 \cdot 10^{-6}$ кат), нанокаталах (нкат = $1 \cdot 10^{-9}$ кат) или пикокаталах (пкат = $1 \cdot 10^{-12}$ кат), чему отвечают скорости реакций, выражающиеся соответственно в микромолях, наномолях или пикомолях в секунду.

К производным величинам, характеризующим активность ферментов, относят удельную каталитическую активность ферментов, концентрацию фермента в растворе и другие. Удельную каталитическую активность фермента или ферментативного препарата выражают в каталах на 1 кг белка (кат·кг⁻¹) или чаще в мккат на 1 мг белка. Концентрацию фермента в растворе выражают в каталах на 1 литр (кат·л⁻¹) или в других кратных этому значению величинах.

Перечисленные выше единицы являются абсолютными, что дает возможность сравнивать активность как различных ферментов, так и одинаковых ферментов, но выделенных из различных биологических объектов.

4.6.3. Влияние концентрации субстрата на скорость ферментативной реакции

Скорость ферментативной реакции при постоянном количестве фермента находится в характерной зависимости от концентрации субстрата в среде. При низких концентрациях скорость реакции мала и возрастает пропорционально росту концентрации

субстрата. Однако с какого-то момента эта пропорциональность нарушается, скорость постепенно достигает постоянного уровня и не зависит от концентрации субстрата, т.е. устанавливается состояние, при котором фермент полностью насыщен субстратом и реакция протекает с максимальной скоростью (рис. 4.5).

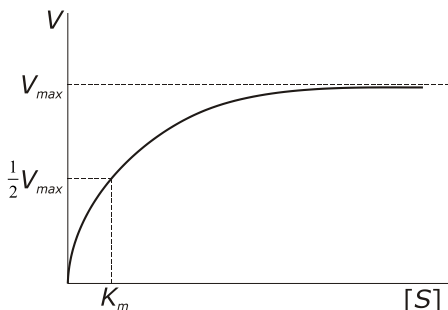


Рис. 4.5. Зависимость скорости реакции (V) от концентрации субстрата [S]

Для описания количественной связи между концентрацией субстрата и скоростью ферментативной реакции Л. Михаэлис и М. Ментен в 1913 г. вывели уравнение*:

$$V_o = \frac{V_{max} \cdot [S]}{K_m + [S]},$$

где V_o — начальная скорость реакции при концентрации субстрата [S]; V_{max} — максимальная скорость реакции при высоких концентрациях субстрата; K_m — константа Михаэлиса, определяющая сродство субстрата с ферментом; [S] — концентрация субстрата.

Дальнейшие преобразования и упрощения уравнения показали, что если $V_o = 0,5V_{max}$, то концентрация субстрата численно равна константе Михаэлиса.

* Вывод уравнения Михаэлиса – Ментен дан в прил. 1.

4.6.4. Влияние концентрации фермента на скорость ферментативной реакции

При высокой концентрации субстрата и при постоянстве других факторов скорость ферментативной реакции зависит от концентрации фермента и подчиняется уравнению

$$V = K \cdot [E] ,$$

где $[E]$ – концентрация фермента. При построении графика эта зависимость является линейной (рис. 4.6).

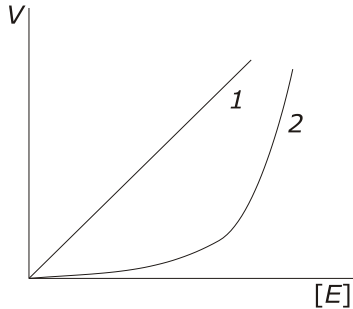


Рис. 4.6. График зависимости начальной скорости реакции (V) от концентрации фермента $[E]$:
1 – норма; 2 – в системе присутствует небольшое количество токсических для фермента примесей

В клетках организма и в производственных условиях катализ всегда осуществляется в условиях, когда концентрация фермента гораздо ниже концентрации субстрата.

4.6.5. Влияние температуры на скорость ферментативной реакции

Скорость ферментативной реакции зависит от температуры. Оптимальным считается значение, при котором реакция протекает с максимальной скоростью (рис. 4.7).

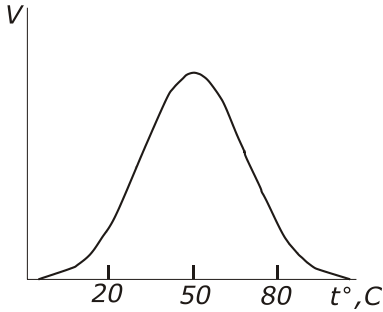


Рис. 4.7. Зависимость скорости ферментативной реакции от температуры

Для большинства ферментов, выделенных из организма теплокровных животных и микроорганизмов, оптимальная температура составляет 37–40 °C, для ферментов растительного происхождения – 40–50 °C. Повышение температуры выше оптимальной приводит к уменьшению, а затем прекращению действия фермента, что связано с термической денатурацией. При переходе от оптимальной к низким температурам скорость ферментативной реакции падает в 2–2,5 раза на каждые 10 °C, достигая минимальной величины при 0 °C, и приостанавливается при отрицательных ее значениях (–18 °C). Причиной является снижение скорости теплового движения молекул субстратов и ферментов, что замедляет образование фермент-субстратного комплекса и протекания реакции. При повышении температуры действие ферментов восстанавливается, скорость катализируемых реакций возрастает в 2–2,5 раза на каждые 10 °C до оптимальной температуры. Снижение активности ферментов при понижении температуры используется при консервировании сырья и готовой продукции низкими температурами. Инактивация ферментов высокой температурой необратима, ис-

пользуется в пищевой промышленности для консервирования многих продуктов растительного и животного происхождения.

4.6.6. Влияние рН на скорость ферментативной реакции

Ферменты при постоянной температуре работают наиболее эффективно в пределах рН от 2 до 10. Оптимальным считается то значение рН, при котором реакция протекает с максимальной скоростью. Отклонение в любую сторону от этого значения сопровождается снижением скорости ферментативной реакции (рис. 4.8). Это объясняется тем, что ферменты имеют большое число полярных, положительно и отрицательно заряженных групп, участвующих в поддержании нативной конформации, образовании фермент-субстратного комплекса и протекании реакции.

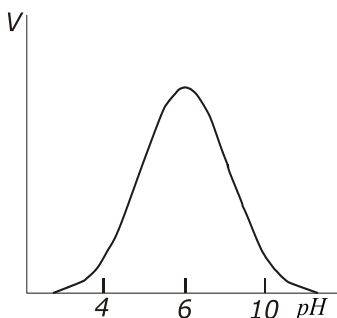


Рис. 4.8. Влияние активной реакции среды на скорость ферментативной реакции

Многие субстраты являются электролитами, и реакция осуществляется лишь с определенными (ионизированными или неионизированными) их формами, возникающими при оптимуме рН. Большинство ферментов являются двухкомпонентными (сложными белками), небелковый компонент которых слабо связан с белком ионными, водородными связями в условиях оптимума рН. Сдвиги рН за пределы оптимума вызывают диссоциацию кофактора и разрушение структуры активного центра. Например, пероксидаза диссоциирует в кислой среде на

два компонента, однако при рН 7,0 ее структура и активность восстанавливаются. При очень низких и очень высоких значениях рН ферменты денатурируют.

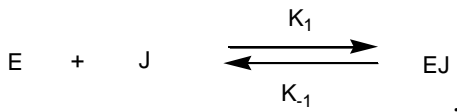
4.6.7. Влияние ингибиторов и активаторов на каталитическую активность ферментов

Скорость ферментативной реакции (активность ферментов) регулируется присутствием в среде ингибиторов и активаторов, в качестве которых в организме работают ионы металлов и низкомолекулярные промежуточные метаболиты.

Ингибиторами называют вещества, вызывающие частичное или полное торможение химических реакций, включая и ферментативные. Подавление активности какого-либо фермента, участвующего в важном процессе обмена, приостанавливает весь процесс, что приводит к серьезным нарушениям обмена веществ и даже гибели организма. Например, подавление активности цитохромоксидазы цианидами вызывает остановку аэробных (при участии кислорода) окислительных процессов, в результате чего через несколько минут наступает смерть организма.

Ферменты теряют каталитическую активность при воздействии различных факторов, вызывающих денатурацию (нагревание, кислоты, щелочи, соли тяжелых металлов и др.). Подобное разрушение фермента не рассматривается как ингибирование, так как оно не связано с механизмом действия фермента. Ингибиторы действуют на скорость реакции определенным химическим путем.

Механизм действия ингибиторов может быть разнообразным, но в общей форме ингибитор вступает с ферментом в соединение, образуя комплекс фермент – ингибитор в соответствии с уравнением



где J – ингибитор.

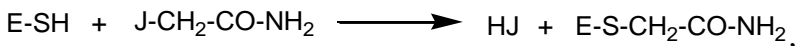
Константа диссоциации комплекса фермент – ингибитор (ингибиторная константа K_i) определяется уравнением

$$K_i = \frac{K_{-1}}{K_1} = \frac{|E| |J|}{|EJ|} .$$

Из уравнения следует, что чем меньше K_i , тем сильнее ингибитор.

Ингибиторы используют для изучения и идентификации функциональных групп ферментов и для выяснения химических связей, возникающих при образовании комплекса фермент – субстрат. При помощи ингибиторов можно определить сходство и различие фермента одного и того же наименования, но полученного из разных источников, а также выяснить механизм действия различных физиологически активных соединений (антибиотиков, гербицидов, стимуляторов роста, ядов и т.п.).

Различают *обратимое* и *необратимое* ингибирование фермента. При обратимом ингибировании активность фермента восстанавливается по мере удаления свободного ингибитора диализом или иным способом, т.е. при обратимом ингибировании существует равновесие между свободным ингибитором и ферментом. При необратимом ингибировании равновесие между свободным ингибитором и ферментом не устанавливается и активность фермента не удается восстановить диализом. Напротив, если ингибитор по сравнению с ферментом присутствует в избытке, то со временем наступает полное прекращение действия фермента. Примером необратимого ингибирования может служить йодацетамид (JCH_2CONH_2), который взаимодействует с SH-группами радикалов цистеина или с имидазольными группами радикалов гистидина, содержащимися в активных центрах ряда ферментов, и тем самым блокирует их активность:

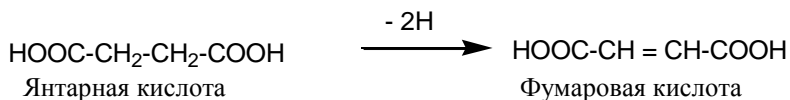


где E-SH – фермент, содержащий в активном центре SH-группу.

Обратимое ингибирование ферментативных реакций может протекать по *конкурентному* и *неконкурентному* механизмам.

Конкурентное ингибирование вызывается веществами, схожими по своему строению с субстратом, за счет чего они, конкурируя с субстратом, соединяются с активным центром

фермента, но не подвергаются ферментативному превращению и новые продукты из них не образуются. В связи с тем, что часть фермента при конкурентном ингибировании расходуется на образование комплекса фермент – ингибитор, скорость ферментативной реакции снижается. Конкурентное ингибирование протекает при условии, когда концентрация ингибитора в 4–6 раз превышает концентрацию субстрата. Конкурентное ингибирование обратимо, так как при увеличении концентрации субстрата скорость реакции возрастает. Классическим примером конкурентного ингибитора является малоновая кислота (COOH-CH₂-COOH), которая блокирует фермент сукцинатдегидрогеназу, катализирующую реакцию взаимопревращения янтарной и фумаровой кислот по схеме:



Конкурентными ингибиторами сукцинатдегидрогеназы могут быть и другие соединения, содержащие две карбоксильные группы, расположенные на соответствующем расстоянии друг от друга. Например, щавелевоуксусная кислота (HOOC-CO-CH₂-COOH).

Принцип конкурентного ингибирования нашел широкое применение в химиотерапии, цель которой – уничтожить посредством химических препаратов возбудителя болезни, не повреждая при этом ткани организма-хозяина.

Неконкурентное ингибирование вызывают вещества, не имеющие структурного сходства с субстратом. Причем эти вещества обратимо присоединяются к ферменту не в активном центре, где обычно связывается субстрат, а совсем в другом месте и, следовательно, конкуренция между субстратом и ингибитором отсутствует. Связываясь с ферментом, неконкурентные ингибиторы вызывают изменение пространственной структуры активного центра, и, хотя присоединение субстрата к такому активному центру происходит, тем не менее катализ становится невозможным. Неконкурентные ингибиторы связываются обратимо как со свободным ферментом, так и с фермент-субстратным комплексом, образуя

неактивные фермент-ингибитор (EJ) и (или) фермент-субстрат-ингибитор (ESJ-структура).

В тканях животных, семенах, клубнях и других органах растений найдены ингибиторы ферментов, представляющие собой белки с молекулярной массой от 6000 до 80 000, специфически ингибирующие те или иные ферменты. Среди них имеются белки, ингибирующие пептидгидролазы (катализируют гидролиз белков и пептидов), в том числе трипсин и химотрипсин. Ингибиторы трипсина и химотрипсина вызывают у животных организмов задержку роста. Возможно, в растениях ингибиторы протеиназ играют важную роль в защите от различных вредителей – насекомых, грибов, бактерий. Ингибитор из семян сои, представляющий собой белок из группы глобулинов, разрушается при нагревании.

Активаторами называют вещества, увеличивающие каталитическую активность ферментов. Среди активаторов встречаются разнообразные вещества. Часто роль активаторов ферментов выполняют ионы металлов: калия, кальция, магния, цинка, меди, железа, марганца, кобальта, а из анионов – хлора. Для проявления максимальной активности ферментов требуется определенная концентрация ионов-активаторов в среде.

Усиление активности ферментов под действием ионов металлов объясняется тем, что в одних случаях ионы металлов выполняют роль кофактора, в других – облегчают образование фермент-субстратного комплекса, в третьих – способствуют присоединению кофермента к апоферменту, в четвертых – обеспечивают становление четвертичной структуры фермента или же действуют иными путями.

Имеются ферменты, активаторами которых могут быть и другие вещества. Так, соляная кислота активирует действие пепсина, желчные кислоты – липазы поджелудочной железы; ряд ферментов (кateпсины, аргиназа, папаин и др.) активируется в присутствии соединений, содержащих свободную SH-группу (цистеин, восстановленный глутатион). Активирующее действие цистеина и восстановленного глутатиона заключается в том, что они восстанавливают дисульфидные связи фермента с образованием SH-групп, необходимых для проявления его каталитической активности.

Мощное действие на ферменты оказывают вещества, присоединяющиеся к ним в особых участках, удаленных от активного центра, называемых *аллостерическим центром*. Эти вещества влияют на активность фермента, вызывая обратимое изменение в структуре его активного центра. Называют такие вещества *аллостерическими эффекторами*. Если эти эффекторы увеличивают сродство фермента к субстрату, то их называют *аллостерическими активаторами*, а если уменьшают – *аллостерическими ингибиторами*.

Аллостерические ферменты имеют важное значение в регуляции ферментативных процессов в клетке. Это связано с тем, что эффекторами могут быть различные промежуточные продукты обмена веществ, называемые *метаболитами*. В частности, установлено, что конечный, а иногда и промежуточный продукт многостадийного процесса распада или биосинтеза может служить аллостерическим ингибитором одной из первых его реакций.

4.7. Номенклатура и классификация ферментов

В настоящее время известно более 2400 ферментов. Каждый фермент имеет два названия: одно в соответствии с рабочей номенклатурой (тривиальное), второе – систематическое.

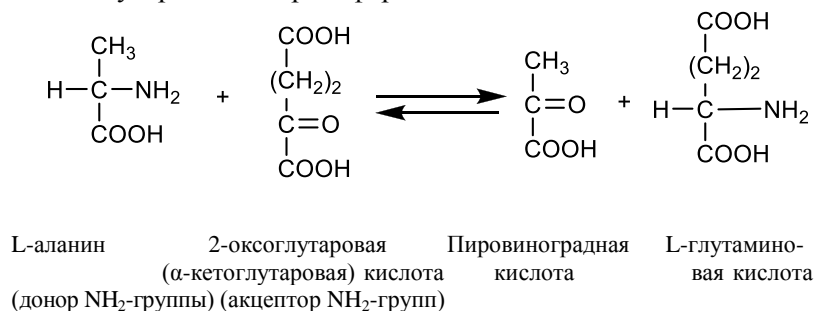
Рабочее название фермента образуется путем прибавления к корню слова латинского, греческого или химического названия субстрата, на который действует фермент, или к названию процесса, катализируемого данным ферментом, суффикса «-аза». Например, фермент, ускоряющий реакцию гидролиза крахмала, называется амилаза (от греч. *amylum* – крахмал), белков (протеинов) – протеазы, мочевины – уреазы (от греч. *ureum* – мочевина); катализирующие процессы гидролиза – гидролазы, окисления – оксидазы, перенос групп – трансферазы и т.д. Для некоторых ферментов присущи названия, не подчиняющиеся этому правилу (эмпирические, тривиальные): пепсин, трипсин, химотрипсин, папаин и др.

В названии ряда ферментов указывают как характер субстрата, так и тип катализируемой реакции. Фермент, катализирующий отнятие водорода от спирта, называют алкогольдегидрогеназа; катализирующий отнятие водорода от янтарной кислоты – сукцинатдегидрогеназа, а отнятие оксида углерода от пировиноград-

ной кислоты – пируватдекарбоксилаза. Органические кислоты участвуют в процессах обмена в виде анионов, поэтому при названии того или иного фермента, катализирующего превращение кислоты, корнем слова будет название аниона (аспартат, пируват, оксалоацетат и т.д.) (см. прил. 2).

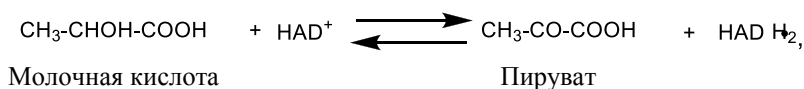
Когда реакция, катализируемая ферментом, включает два различных превращения субстрата, то название фермента базируется на том (или на первом) превращении, которое катализирует фермент; другая функция (функции) указывается добавлением в круглых скобках причастия, соответствующего действию фермента. Например, фермент малатдегидрогеназа (декарбоксилирующая) катализирует отнятие водорода от молекулы яблочной кислоты и одновременно ее декарбоксилирование. Рабочим названием ферментов пользуются в повседневной практике.

В 1961 г. Международная комиссия по ферментам разработала систематическую номенклатуру, основанную на типе реакции, катализируемой ферментом. Согласно этой номенклатуре название фермента составляют из химического названия субстрата и названия той реакции, которую катализирует фермент. Если химическая реакция, ускоряемая ферментом, сопровождается переносом группировки атомов от одного партнера (донора) к другому (акцептору), название фермента включает также химическое наименование акцептора. Например, пиридоксальфермент, катализирующий реакцию переаминирования между L-аланином и α-кетоглутаровой кислотой, следует назвать L-аланин : 2-оксоглутаратаминотрансфераза:



Это название показывает, что донором NH_2 -группы является L-аланин, что акцептором служит 2-оксоглутаровая кислота и что от донора к акцептору передается аминогруппа.

В 1972 г. Международной комиссией по номенклатуре ферментов составлен детальный список всех известных ферментов. Каждому ферменту был присвоен индивидуальный номер (шифр) со стоящими перед ним буквами КФ (англ. EC). Шифр каждого фермента содержит четыре числа, разделенных точками. Первое число указывает, к какому из шести классов принадлежит данный фермент. Второе число обозначает подкласс, третье – подподкласс, четвертое – порядковый номер фермента в данном подподклассе. Например, фермент лактатдегидрогеназа, катализирующий окисление молочной кислоты по схеме:



имеет шифр КФ 1.1.1.27, т.е. относится к классу оксидоредуктаз (1), действует на CH-OH -группу доноров (1.1), акцептором атомов водорода служит NAD^+ (1.1.1) и занимает 27-е место в перечне ферментов данного подподкласса. Таким образом, шифр указывает место фермента в общем списке.

В основу современной классификации ферментов положено объединение их в группы по типу катализируемой реакции. В соответствии с этим все ферменты делятся на шесть классов.

1. *Оксидоредуктазы* – ускоряют реакции окисления-восстановления.

2. *Трансферазы* – ускоряют реакции переноса атомных групп и молекулярных остатков от донора к акцептору.

3. *Гидролазы* – ускоряют реакции гидролитического распада.

4. *Лиазы* – ускоряют реакции негидролитического отщепления от субстратов определенных групп атомов с образованием двойной связи (или присоединением групп атомов по двойной связи).

5. *Изомеразы* – ускоряют реакции взаимопревращения изомеров.

6. *Лигазы* (или *синтетазы*) – ускоряют реакции синтеза, сопряженные с распадом молекул – доноров энергии (АТФ и др.).

4.8. Классы ферментов и их отдельные представители

В этом разделе дана краткая характеристика каждого класса ферментов и названы отдельные его представители. Выбор индивидуальных ферментов произведен с учетом возможности характеристики класса и по значимости их для пищевой технологии.

4.8.1. Оксидоредуктазы (1)

К классу оксидоредуктаз принадлежат все ферменты, катализирующие окислительно-восстановительные реакции. Систематическое название составляется по типу «донор : акцептор оксидоредуктаза». Термины «донор» и «акцептор» введены потому, что происходит реакция переноса двух восстановительных эквивалентов в той или иной форме (атомов водорода, электронов, гидрид-ионов и т.д.) от одного субстрата (окисляемого) к другому (восстанавливаемому).

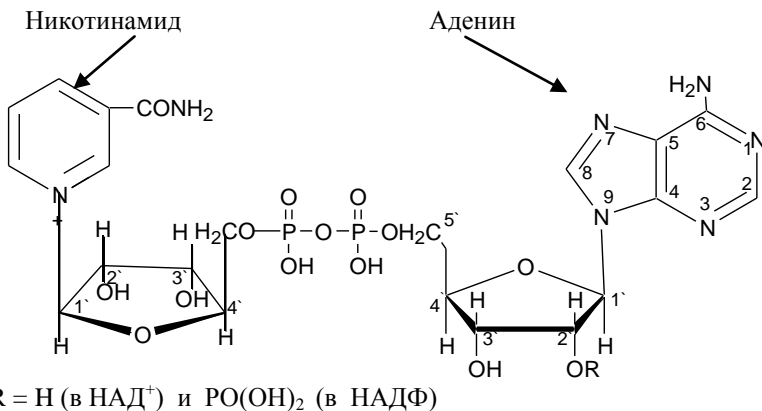
В зависимости от природы окисляемых групп в молекуле донора спиртовая, альдегидная или кетонная группы, СН-СН-группа, СН-NH₂-группа, СН-NH-группа и др. оксидоредуктазы делятся на 19 подклассов. В зависимости от природы акцепторов, которыми могут быть коферменты (НАД, НАДФ, ФМН, ФАД), цитохром, молекулярный кислород и т.д., подклассы ферментов делятся на подподклассы.

Оксидоредуктазы всех подподклассов, для которых акцептором водорода служит любое соединение, но не кислород, называют *дегидрогеназами*, а в случаях, когда донор водорода точно не установлен, используют термин *редуктаза*. Если акцептором служит кислород, то ферменты, катализирующие перенос водорода на него, называют оксидазами. Реакции прямого включения кислорода в молекулу органического субстрата катализируют *оксигеназы*, при этом происходит включение либо двух атомов кислорода (*диоксигеназы*), либо одного атома кислорода (*монооксигеназы*). Термин *пероксидаза* относится к ферментам, использующим в качестве окислителя пероксид водорода.

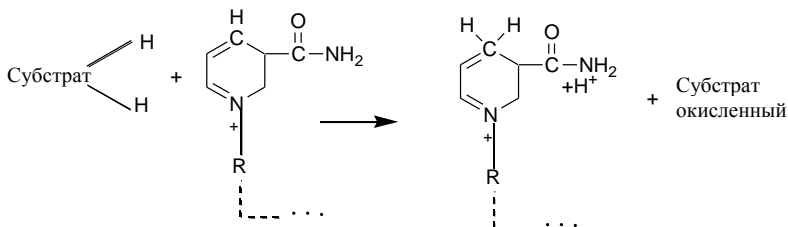
Многие дегидрогеназы в качестве акцептора водорода используют коферменты НАД (никотинамидадениндинуклеотид) и НАДФ

(никотинамидадениндинуклеотидфосфат), содержащие в своих молекулах производное пиридина – *никотинамид*, в связи с чем эти ферменты называются *пиридиновыми (пиридинзависимыми) дегидрогеназами*, или *пиридинпротеинами* (ПП).

Структурная формула окисленной формы НАД и НАДФ (обозначается НАД^+ и НАДФ^+):

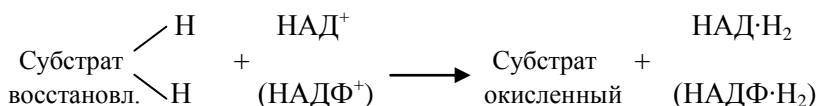


Пиридиновые дегидрогеназы отнимают от субстратов по два водородных атома. Один из них в виде гидрид-иона (H^-) присоединяется непосредственно к пиридиновому кольцу НАД^+ или НАДФ^+ , а второй в виде H^+ -иона переходит в среду:

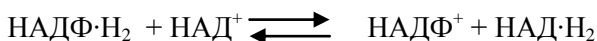


Восстановленная форма нуклеотидных коферментов обозначается $\text{НАД}\cdot\text{H}_2$ и $\text{НАДФ}\cdot\text{H}_2$ (или $\text{НАД}\cdot\text{H}\cdot\text{H}$ и $\text{НАДФ}\cdot\text{H}\cdot\text{H}$).

В общем виде реакции, катализируемые пиридиновыми дегидрогеназами, можно записать по схеме:



При каталитическом участии фермента трансгидрогеназы НАД \cdot Н₂ и НАДФ⁺, равно как НАДФ \cdot Н₂ и НАД⁺, могут обмениваться атомами водорода:



Установлено, что большая часть пиридиновых дегидрогеназ функционирует только с коферментом НАД, меньшая – с НАДФ и сравнительно небольшая группа – как с НАД, так и с НАДФ. Примером фермента из последней группы является глутаматдегидрогеназа (КФ 1.4.1.3).

Считается, что восстановительные эквиваленты от НАД \cdot Н₂ расходуются для запаса энергии в виде АТФ, а от НАДФ \cdot Н₂ – для восстановительных реакций процессов биосинтеза.

Пиридиновые дегидрогеназы называют *анаэробными*, так как они передают отнятый от субстрата водород любому соединению, но не кислороду.

Рассмотрим некоторые из дегидрогеназ, содержащие в качестве коферментов НАД⁺ и НАДФ⁺. При описании ферментов сначала указано рекомендуемое название; в скобках помещены шифр и систематическое название.

Алкогольдегидрогеназа (КФ 1.1.1.1; алкоголь : НАД⁺ оксидоредуктаза) функционирует с НАД⁺ в качестве акцепторов водорода и окисляет спирты до альдегидов кетонов, в частности этанол:



Эта реакция играет важную роль в процессе спиртового брожения. Она является источником образования этилового спирта из уксусного альдегида. В настоящее время этот фермент про-

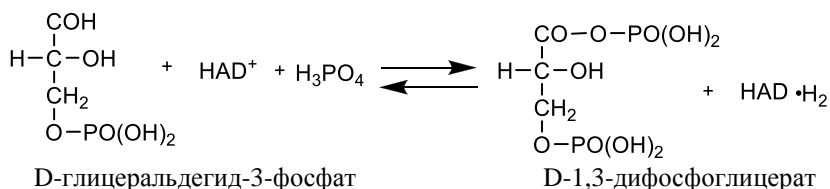
изводят в чистом кристаллическом виде и используют для определения очень малых количеств спирта.

Лактатдегидрогеназа (КФ 1.1.1.27; лактат : НАД⁺ оксидоредуктаза) катализирует окисление молочной кислоты (лактата) до пировиноградной кислоты:



Реакция имеет большое значение при молочнокислом брожении. Образование лактата при участии лактатдегидрогеназы происходит в хранящихся клубнях картофеля, прорастающих семенах и мышцах животных при недостатке кислорода.

Глицеральдегидфосфатдегидрогеназа (КФ 1.2.1.12; D-глицеральдегид-3-фосфат : НАД⁺ оксидоредуктаза (фосфорилирующая)). В реакции, катализируемой этим ферментом, происходит окисление донора и его фосфорилирование:

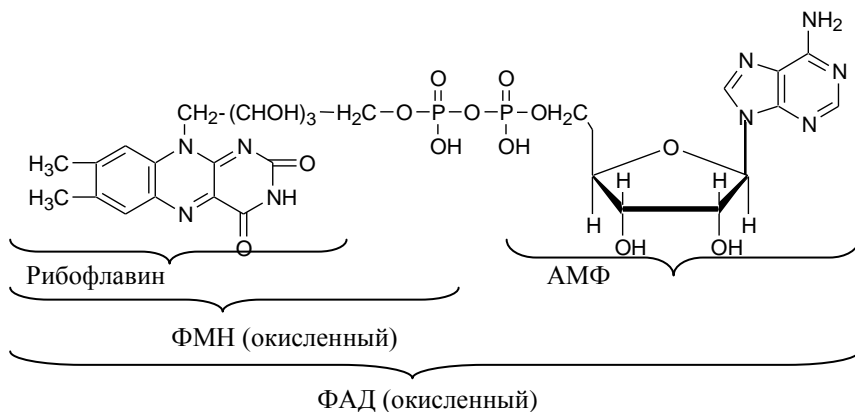


Данная реакция имеет важное значение в процессах дыхания и брожения. Например, образующийся в этой реакции НАД·H₂ служит поставщиком водорода для восстановления уксусного альдегида алкогольдегидрогеназой при спиртовом брожении или для восстановления пировиноградной кислоты лактатдегидрогеназой при молочнокислом брожении. Образовавшаяся после отдачи водорода окисленная форма НАД вновь участвует в реакции, катализируемой глицеральдегидфосфатдегидрогеназой.

Приведенные примеры указывают на то, что НАД⁺ восстанавливается на одном ферменте, а окисляется на другом, т.е. является межферментным окислительно-восстановительным переносчиком.

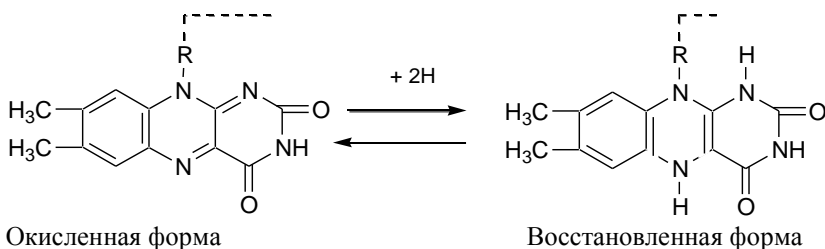
Наряду с пиридиновыми дегидрогеназами в окислительно-восстановительных реакциях участвуют *флавиновые* (*флавинзависимые*) дегидрогеназы, или *флавопротеины* (ФП). Название эти

ферменты получили в связи с тем, что в качестве простетической группы содержат флавиномононуклеотид (ФМН) или флавинадениндинуклеотид (ФАД):



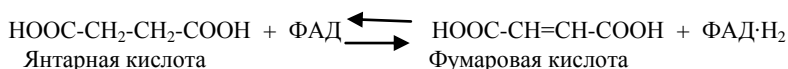
Большинство флавиновых дегидрогеназ содержит в своем составе ФАД.

Катализ окислительно-восстановительных реакций флавиновыми дегидрогеназами обусловлен последовательным окислением и восстановлением диазимовой группы изоаллоксазинового кольца рибофлавина:



ФАД в отличие от НАД завершает свой окислительно-восстановительный цикл, будучи связанным с одним и тем же ферментным белком, т.е. ФАД является внутриферментным окислительно-восстановительным переносчиком.

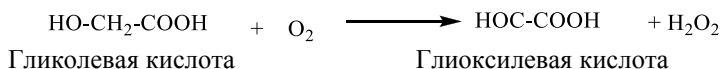
Важную роль среди флавиновых дегидрогеназ играет, например, *сукцинатдегидрогеназа* (КФ 1.3.99.1; сукцинат : (акцептор) оксидоредуктаза). Этот фермент, содержащий наряду с ФАД железо, катализирует окисление янтарной кислоты (сукцината) до фумаровой кислоты по схеме:



Восстановленный фермент может отдавать водород различным неприродным акцепторам, например, восстанавливающимся красителям (метиленовый синий, 2,6-дихлорфенолин-дофенол и др.).

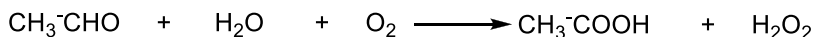
Многие флавиновые дегидрогеназы являются *оксидазами*, так как отнятый от донора водород передают непосредственно кислороду. Рассмотрим в качестве примера ферменты гликолатоксидазу и альдегидоксидазу.

Гликолатоксидаза, или *оксидаза L-2-гидроксикислот* (КФ 1.1.3.1; гликолат : кислород оксидоредуктаза), содержит в качестве кофермента флаavinмоноклеотид, катализирует превращение гликолевой кислоты в глиокселевую кислоту по схеме:

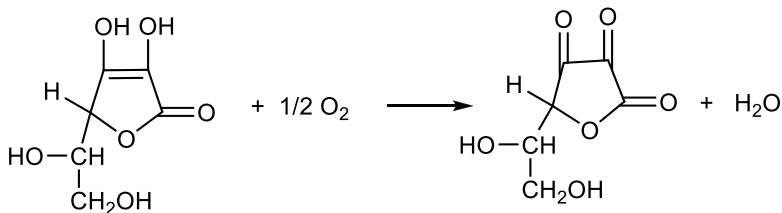


Фермент играет важную роль в фотодыхании растений.

Альдегидоксидаза (КФ 1.2.3.1; альдегид : кислород оксидоредуктаза) содержит наряду с ФАД молибден. Фермент катализирует окисление альдегидов до соответствующих кислот. Если окислению подвергается уксусный альдегид, то при участии альдегидоксидазы он превращается в уксусную кислоту:



К классу оксидоредуктаз относится *аскорбатоксидаза* (КФ 1.10.3.4; аскорбат : кислород оксидоредуктаза). Очищенные препараты аскорбатоксидазы содержат 0,24 % меди. Аскорбатоксидаза катализирует окисление аскорбиновой кислоты (витамина С) в дегидроаскорбиновую кислоту:



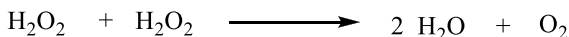
Аскорбиновая кислота

Дегидроаскорбиновая кислота

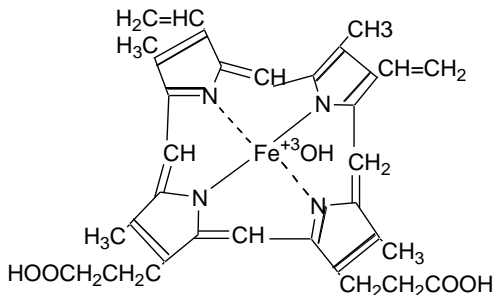
Действие аскорбатоксидазы особенно нежелательно при сушке картофеля, яблок, различных овощей, так как образующаяся дегидроаскорбиновая кислота очень лабильна и легко разрушается, что приводит к снижению содержания витамина С в сухом продукте. Для подавления активности этого фермента применяют обработку сернистым газом или бланшировку паром.

Среди оксидоредуктаз, катализирующих *перенос водорода на пероксид водорода*, важное значение в обмене веществ и пищевой технологии имеют каталаза и пероксидаза.

Каталаза (КФ 1.11.1.6; пероксид водорода : пероксид водорода оксидоредуктаза) катализирует окислительный распад пероксида водорода по схеме:



Каталаза – двухкомпонентный фермент, простетической группой которого является гематин, представляющий протопорфирин, состоящий из четырех пирольных колец, соединенных в циклическую систему метиловыми мостиками, содержащий атом трехвалентного железа:



Гематин

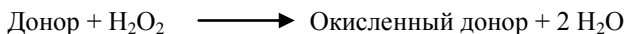
Фермент каталаза широко распространен в природе и найден у животных, растений, аэробных бактерий. Роль каталазы в организме связывают с расщеплением образующегося в процессе окисления ядовитого для клеток пероксида водорода.

Каталаза содержится и в молоке, куда она переходит из клеток молочной железы, а также вырабатывается содержащимися в молоке бактериями и лейкоцитами.

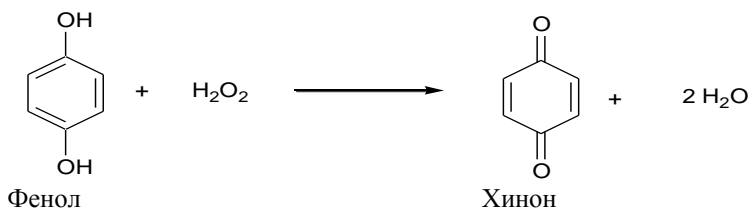
Содержание каталазы в молоке выражается *каталазным числом*, которое представляет собой объем кислорода в см³, выделившийся в течение 2 часов при 25 °С из добавленных к 15 см³ молока 5 см³ 1 % пероксида водорода.

Каталазное число молока здоровых коров составляет 0,7–2,5. Молоко коров с большим выменем и молозиво имеют каталазное число, достигающее 15 и выше.

Пероксидаза (КФ 1.11.1.7; донор : пероксид водорода оксидоредуктаза) содержится в тканях животных и растений, молоке, лейкоцитах, некоторых бактериях. Катализирует окисление фенолов, аминов, некоторых гетероциклических соединений (например, индола) по схеме:



Если в качестве донора взять дифенол, то реакция имеет следующий вид:



Пероксидаза – двухкомпонентный фермент, ее простетическая группа представлена гематином. Гематин каталазы и пероксидазы имеет одинаковое строение. Следовательно, различия в каталитической функции этих ферментов определяются исключительно белковой частью.

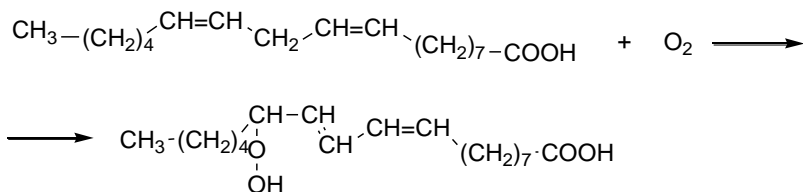
В кристаллическом состоянии пероксидаза получена из многих объектов: различных тканей животных, лейкоцитов, молока, хрена. Пероксидаза хрена обладает высокой активностью, наряду с гематином она содержит 20 % углеводов.

Пероксидаза играет важную роль в дыхании растений. В молочной промышленности по активности пероксидазы контролируют эффективность пастеризации молока (пероксидаза молока инактивируется при температуре около 80 °С), для оценки свежести мяса птицы (кроме водоплавающей). Свежее мясо дает положительную реакцию; мясо не свежее – отрицательную.

Из оксидоредуктаз, катализирующих включение атомов кислорода из его молекулы в молекулу окисляемого субстрата, рассмотрим *липоксигеназу* (КФ 1.13.11.12; линолеат : кислород оксидоредуктаза). Этот фермент широко распространен в растениях. Особенно он активен в семенах сои; семена и листья других бобовых культур и злаков содержат менее активный фермент. Липоксигеназа сои содержит в своем составе железо.

Фермент катализирует окисление ненасыщенных жирных кислот (в первую очередь линолевой кислоты) с образованием гидроперекисей.

Образование гидроперекисного продукта сопровождается смещением двойной связи и переходом ее из цис- в транс-изомер:



Гидроперекиси, образующиеся при участии липоксигеназы, имеют высокую окислительную способность и могут окислять ненасыщенные жирные кислоты, витамин А, каротиноиды, аминокислоты, хлорофилл, аскорбиновую кислоту.

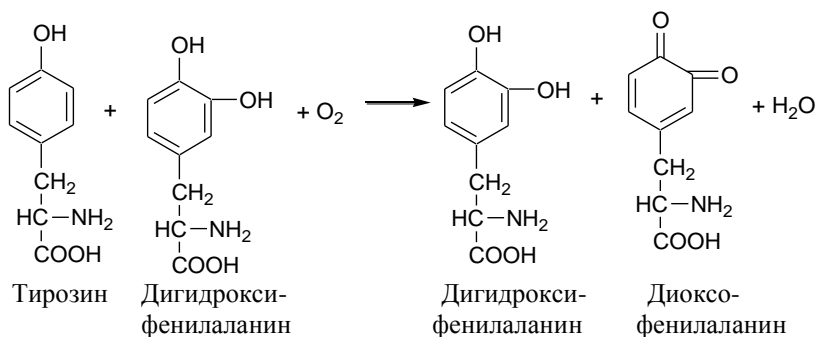
Окисление каротиноидов, окрашивающих в желтый цвет муку и многие другие продукты, приводит к осветлению этих продуктов.

Липоксигеназа играет существенную роль в процессе прогоркания муки и крупы при хранении. Эта роль заключается в том, что гидроперекиси при окислении ненасыщенных жирных кислот

окисляют различные вещества муки и крупы, в первую очередь жиры, с образованием альдегидов и кетонов, обладающих неприятным запахом и вкусом.

Роль липоксигеназы в обмене веществ растений пока не установлена.

В классе оксидоредуктаз имеется подкласс 1.14, ферменты которого действуют на два донора водорода и катализируют включение атомов кислорода из его молекулы в один или в оба донора. Например, *монофенол-монооксигеназа* (КФ 1.14.18.1; монофенол, дигидроксифенилаланин : кислород оксидоредуктаза). Фермент содержит медь (0,2–0,3 %), широко распространен в растениях, обнаружен у млекопитающих, насекомых и бактерий; катализирует включение одного атома кислорода в один из доноров. Типовая реакция имеет следующую схему:



В результате этой реакции тирозин, окисляемый монофенол-монооксигеназой, через окрашенные в красный цвет промежуточные продукты превращается в темноокрашенные вещества – *меланины*. Кроме тирозина, этот фермент окисляет о-дифенолы, полифенолы, дубильные вещества.

Действием монофенол-монооксигеназы объясняют потемнение поверхности разреза яблок и клубней картофеля, темный цвет ржаного хлеба, потемнение при сушке грибов, плодов и овощей. Интенсивность потемнения находится в прямой зависимости от содержания в биологическом объекте свободного тирозина и других полифенольных соединений.

Потемнение картофеля, плодов и овощей при сушке можно предотвратить. Это достигается двумя путями:

1) обработка продукта перед сушкой гидросульфитом натрия (NaHSO_3) или сернистым газом (SO_2). В результате обработки продукта этими соединениями образуется сернистая кислота (H_2SO_3), которая инактивирует фермент;

2) бланширование продукта перед сушкой. При бланшировании нарезанный для сушки продукт на несколько секунд погружают в кипяток или обрабатывают паром в особой камере. При этом фермент разрушается и в процессе сушки не действует. В результате готовый продукт получается светлым.

В отечественной литературе для фермента, окисляющего тирозин, часто употребляется название *тирозиназа*, а для фермента, окисляющего о-дифенолы, полифенолы и дубильные вещества, – *катехолоксидаза* (*о-дифенолоксидаза*, *полифенолоксидаза*).

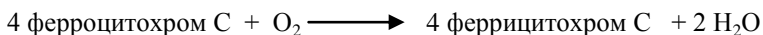
Цитохромная система состоит из цитохромов и фермента цитохромоксидазы. Цитохромы принадлежат к сложным белкам; их железопорфириновая простетическая группа, называемая гемом, по своему строению очень близка к простетической группе гемоглобина.

Все известные цитохромы в зависимости от природы гема разделены на четыре группы: а, в, с и d. Железопорфириновые структуры каждого из этих цитохромов различаются боковыми цепями. Кроме этого, цитохромы отличаются друг от друга белковыми компонентами и по способу присоединения простетической группы к белку. У цитохромов с хорошо установленной структурой при букве ставят числовой индекс, указывающий на принадлежность цитохрома к определенной подгруппе. Например, в митохондриях высших животных и растений идентифицировано пять различных цитохромов: а, а₃, в, с, с₁.

Цитохромы – переносчики электронов в процессах окисления и восстановления. Они обнаружены во всех аэробных клетках. В ходе переноса электронов железо простетической группы цитохромов попеременно переходит из ферриформы Fe^{3+} в ферроформу Fe^{2+} . Функция цитохромов была установлена в 1925 г. Д. Кейлином.

Цитохромоксидаза, классифицируемая и как фермент (КФ 1.9.3.1; ферроцитохром С : кислород оксидоредуктаза), и как цитохром (цитохром аа₃), содержит две железопорфириновые

группы (гем а и гем а₃) и два атома меди. Ее функция состоит в переносе электронов на молекулярный кислород; последний при этом приобретает способность реагировать с находящимися в водной среде клетки ионами водорода, образуя воду. Типовая реакция, катализируемая цитохромоксидазой, такова:

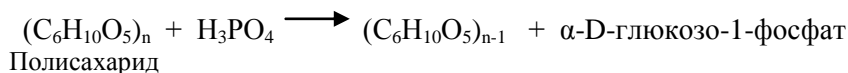


4.8.2. Трансферазы (2)

К классу трансфераз принадлежат ферменты, катализирующие перенос различных остатков или групп от одного соединения (донор) к другому соединению (акцептор). Систематическое название ферментов этого класса формируется по схеме «донор : акцептор (транспортируемая группа или остаток) трансфераза».

В зависимости от характера переносимых остатков (одноуглеродные, альдегидные и кетонные, ацильные, гликозильные и др.) или групп (содержащие азот, фосфор или серу) ферменты делят на восемь подклассов, которые выделены в зависимости от химической природы переносимых групп (например, одноуглеродный остаток может быть метилом, формилом или карбоксиллом; гликозильный остаток – гексозилом или пентозилом и т.п.). В реакциях, катализируемых трансферазами, во многих случаях донором является кофактор, содержащий переносимую группу (например, АТФ, нуклеозиддифосфатсахара и др.).

Фосфоорилаза (КФ 2.4.1.1; 1,4- α -D-глюкан : ортофосфат α -глюкозилтрансфераза) катализирует перенос глюкозильных групп от α -1,4-глюкана (крахмал, гликоген, декстрин) на ортофосфат в соответствии с уравнением:



Перенос глюкозильных остатков на ортофосфат, катализируемый фосфоорилазой, называют *фосфоорилизом*. В зависимости от субстрата рекомендуемое название фосфоорилазы в каждом отдельном случае уточняется, например, *крахмалфосфоорилаза*, *гликоген*

фосфорилаза, мальтодекстринфосфорилаза; фосфоролиз сахарозы катализирует фермент *сахарозофосфорилаза* (КФ 2.4.1.7), *мальтозы – мальтозофосфорилаза* (КФ 2.4.1.8).

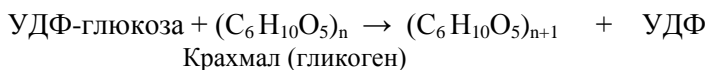
Фосфорилазы ускоряют процесс отщепления глюкозных остатков, начиная с невосстанавливающего конца α -1,4-глюкана. При приближении к α -1,6-связям их действие прекращается. Поэтому в случае фосфоролиза амилозы распад пойдет до конца; в случае фосфоролиза амилопектина распад прекращается в точках расположения α -1,6-связей и наряду с глюкозо-1-фосфатом получается так называемый остаточный декстрин.

Наиболее изучены фосфорилазы животных тканей. Установлено, что гликогенфосфорилаза в мышцах и печени присутствует в двух формах: в каталитически активной фосфорилированной форме, называемой *фосфорилазой «а»*, и в менее активной дефосфорилированной форме, называемой *фосфорилазой «в»*. Фосфорилаза «в» состоит из двух протомеров (т.е. представляет собой димер), а фосфорилаза «а» – из четырех протомеров (представляет собой тетрамер). Превращение фосфорилазы «в» в фосфорилазу «а» происходит под действием специфических ферментов при участии АТФ. Фосфоролиз гликогена катализирует фосфорилаза «а».

Гликогенфосфорилаза представляет собой регуляторный фермент. Скорость фосфоролиза гликогена в мышцах регулируется соотношением активной фосфорилазы «а» и менее активной фосфорилазы «в».

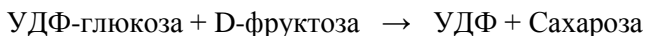
Среди трансфераз имеются ферменты, катализирующие реакции с элементами синтеза. Чтобы подчеркнуть элемент синтеза в катализируемой реакции, для названия таких ферментов (как и ферментов других классов, кроме синтаз) применяют термин «синтаза». Рассмотрим некоторые из таких ферментов.

Гликоген(крахмал)синтаза (КФ 2.4.1.11; УДФ-глюкоза : гликоген 4- α -глюкозилтрансфераза) катализирует реакцию:



В зависимости от синтезируемого продукта рекомендуемое название фермента уточняется. Биосинтез крахмала катализирует крахмалсинтаза, гликогена – гликогенсинтаза.

Сахарозосинтаза (КФ 2.4.1.13; УДФ-глюкоза : D-фруктоза 2- α -глюкозилтрансфераза) катализирует биосинтез сахарозы по следующей схеме:



Лактозосинтаза (КФ 2.4.1.22; УДФ-галактоза : D-глюкоза 4- β -галактозилтрансфераза) является комплексом белка А и белка В, катализирует биосинтез лактозы:

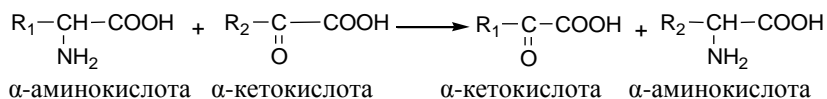


При отсутствии белка В (α -лактальбумин) лактозосинтаза катализирует перенос галактозы от УДФ-галактозы не на глюкозу, а на N-ацетилглюкозаамин и вместо лактозы синтезируется N-ацетиллактозамин.

В реакциях, катализируемых рядом «синтаз», донорами сахарной компоненты являются нуклеозиддифосфатсахара, например, уридиндифосфатглюкоза (УДФ-глюкоза).

Перенос гликозильного остатка от одного соединения (например, нуклеозиддифосфатсахара) на моносахарид или полисахарид называется реакцией *трансгликозилирования*.

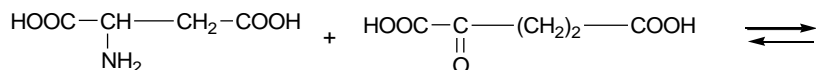
Среди трансфераз, переносящих азотсодержащие группы, важную роль играют *аминотрансферазы*, или *трансаминазы* (подкласс 2.6.1). С их участием осуществляется реакция переаминирования (трансаминирования), открытая в 1937 г. российскими биохимиками А.Е. Браунштейном и М.Г. Крицман. Реакция заключается в переносе аминогруппы с α -аминокислоты на α -кетокислоту (2-оксокислоту). Общая схема реакции переаминирования:



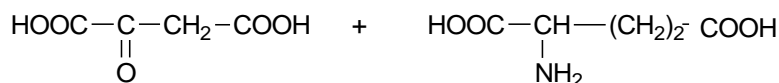
Аминотрансферазы – двухкомпонентные ферменты, их простетической группой служит *пиридоксальфосфат* – производное

витамина В₆. К ферментам этого подподкласса относятся аспаратаминотрансфераза и аланинаминотрансфераза.

Аспаратаминотрансфераза (КФ 2.6.1.1; L-аспартат : 2-оксоглутарат аминотрансфераза) катализирует перенос аминогруппы от аспарагиновой кислоты к α-кетоглутаровой кислоте:



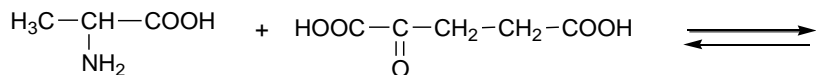
Аспарагиновая кислота α-Кетоглутаровая кислота



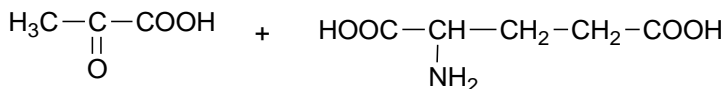
Щавелевоуксусная кислота Глутаминовая кислота

В результате реакции образуются щавелевоуксусная и глутаминовая кислоты.

Аланинаминотрансфераза (КФ 2.6.1.2; L-аланин : 2-оксоглутарат аминотрансфераза) катализирует перенос аминогруппы от аланина на α-кетоглутаровую кислоту с образованием пировиноградной и глутаминовой кислот:



Аланин α-Кетоглутаровая кислота



Пировиноградная кислота Глутаминовая кислота

Часто в реакциях трансаминирования акцептором аминогруппы служит α-кетоглутаровая кислота, т.е. аминогруппы от многих аминокислот собираются в одной форме – в виде глутаминовой кислоты.

Большая группа трансфераз, называемая *фосфотрансферазы*, или *киназы* (подкласс 2.7), включает ферменты, катализирующие перенос фосфата, дифосфата, нуклеотидильных остатков и других групп. Подподклассы среди трансфераз выделены исходя из химической природы групп (спиртовые, карбоксильные, азотосодержащие, фосфоросодержащие и др.), на которые происходит перенос фосфатного остатка. Донором фосфатных остатков является АДФ, но возможны и другие их источники.

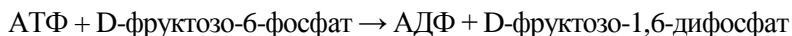
Фосфотрансферазы катализируют превращение ряда органических веществ в их фосфорные эфиры – соединения, обладающие повышенной химической активностью и легко вступающие в последующие реакции (активированные формы соединений).

Гексокиназа (КФ 2.7.1.1; АТФ : D-гексозо-6-фосфотрансфераза) катализирует реакцию фосфорилирования глюкозы, маннозы и фруктозы у 6-го углеродного атома:



Гексокиназа обнаружена как в животных, так и в растительных организмах.

Фосфофруктокиназа (КФ 2.7.1.11; АТФ : D-фруктозо-6-фосфат 1-фосфотрансфераза) катализирует фосфорилирование фруктозо-6-фосфата:



Фермент характерен для организмов с распадом глюкозы по пути гликолиза.

Глицеролкиназа (КФ 2.7.1.30; АТФ : глицерол-3-фосфотрансфераза) катализирует фосфорилирование глицерола:



Фосфорилированный глицерол подвергается различным превращениям.

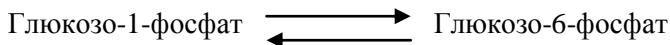
Протеинкиназа (КФ 2.7.1.37; АТФ : протеин фосфотрансфераза) катализирует реакцию фосфорилирования гидроксильных

групп некоторых сериновых, треониновых и тирозиновых остатков в ряде белков по схеме:

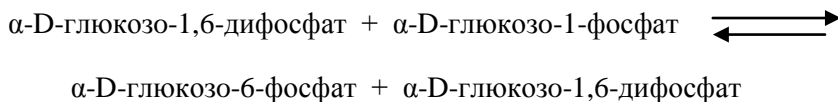


Фосфорилирование гидроксильных групп определенных остатков серина приводит к активированию ряда ферментов, например гликогенфосфорилазы. Функция фосфосериновых остатков в белке молока казеине состоит в связывании ионов кальция. Таким образом, казеин, являясь пищевым белком, поставляет новорожденным не только аминокислоты, но и кальций и фосфор.

Отдельный подподкласс (2.7.5) составляют фосфотрансферазы, катализирующие реакции «кажущегося» внутримолекулярного переноса. Примером таких ферментов является *фосфоглюкомутаза* (КФ 2.7.5.1; α -D-глюкозо-1,6-дифосфат : α -D-глюкозо-1-фосфат фосфотрансфераза), катализирующая обратимое превращение глюкозо-1-фосфата и глюкозо-6-фосфата:

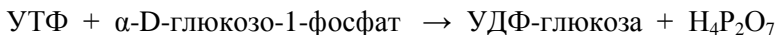


Приведенное превращение воспринимается как внутримолекулярный перенос фосфата. В действительности это кажущийся внутримолекулярный перенос, так как реакция происходит более сложным путем:



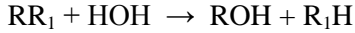
В образовании нуклеозиддифосфатсахаров, динуклеотидов и ряда других соединений участвуют фосфотрансферазы, называемые *нуклеотидилтрансферазами* (подподкласс 2.7.7).

Например, уридиндифосфатглюкоза (УДФ-глюкоза) образуется в результате реакции, катализируемой *глюкозо-1-фосфатуридилтрансферазой* (КФ 2.7.7.9; УТФ : α -D-глюкозо-1-фосфатуридилтрансфераза):



4.8.3. Гидролазы (3)

Ферменты этого класса катализируют реакции гидролиза, т.е. расщепление сложных соединений на более простые с присоединением ионов воды:

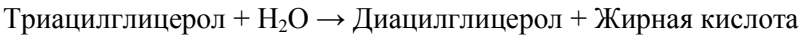


В зависимости от типа гидролизуемой связи (сложноэфирная, гликозидная, пептидная и т.д.) гидролазы разделены на 11 подклассов. Подподклассы выделены с учетом природы субстрата. Например, среди *эстераз* (подкласс 3.1) – ферментов, катализирующих гидролиз сложноэфирных связей, различают эстеразы сложных эфиров карбоновых кислот (подподкласс 3.1.1), эстеразы тиоловых эфиров (3.1.2), фосфомоноэстеразы (3.1.3) и др.

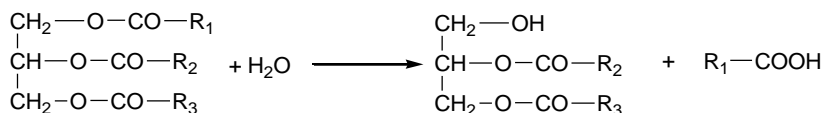
Систематическое название ферментов класса гидролаз образуется из названия гидролизуемого субстрата и названия отщепляемой группы в сочетании с термином «гидролаза». Из-за сложного и до конца не выявленного характера специфичности ряда гидролаз не все ферменты этого класса имеют систематическое название.

Гидролазы имеют огромное значение не только для живых организмов, но и для биосферы в целом. Без этих ферментов невозможен круговорот биогенных элементов. Многие из гидролаз имеют промышленное значение. Рассмотрим некоторые ферменты этого класса.

Триацилглицерол-липаза, или липаза (КФ 3.1.13; триацилглицерол-ацилгидролаза), катализирует реакцию следующего типа:



Обычно липазы животного и растительного происхождения действуют таким образом, что сначала отщепляют от ацилглицерола один внешний кислотный остаток:



Затем второй внешний кислотный остаток и в последнюю очередь третий (средний) кислотный остаток.

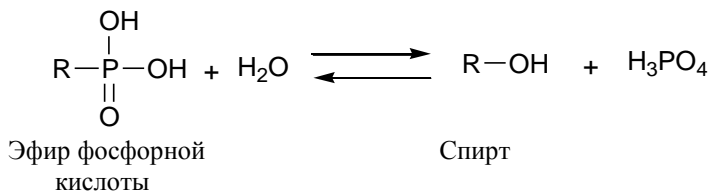
Липазы из различных биологических объектов существенно отличаются друг от друга. Например, липаза семян клещевины нерастворима в воде, оптимум ее действия находится при pH 4,7–5,6. Липаза, содержащаяся в микроорганизмах, семенах злаковых и многих масличных культур, относится к растворимым в воде ферментам; оптимум ее действия находится при pH 8,0. Липаза сока поджелудочной железы растворима в воде, обладает высокой активностью и имеет оптимум действия в слабощелочной среде.

В процессе переработки и хранения пищевого сырья могут создаваться условия, способствующие увеличению активности липазы. Например, перекачивание, гомогенизация, встряхивание, пастеризация и другие в ряде случаев активируют липазу молока. При гидролизе триацилглицеролов молочного жира липазой освобождающиеся низкомолекулярные жирные кислоты (масляная, капроновая, каприловая) придают такому молоку и продуктам из него прогорклый неприятный вкус и запах. Горьковатый вкус стародойного молока (молока, полученного от коров в конце беременности) также обусловлен повышением каталитической активности липазы.

Хранение некоторых видов муки и крупы, особенно содержащих много жира (пшено, овсяная мука и крупа), при повышенных температуре и влажности стимулирует гидролиз липазой триацилглицеролов, что приводит к повышению кислотности продукта и его быстрому прогорканию.

Преобразования веществ, происходящие при прогоркании, состоят в том, что освобождающиеся при действии липазы жирные кислоты окисляются липоксигеназой до гидроперекисей, которые, имея высокую окислительную способность, окисляют различные вещества, в первую очередь ацилглицеролы, с образованием различных альдегидов и кетонов, обладающих неприятным вкусом и запахом. В цельном зерне при влажности ниже критической липаза и липоксигеназа не действуют.

Фосфатаза. Исходя из оптимума pH различают *щелочную* фосфатазу [КФ 3.1.3.1; фосфогидролаза моноэфиров ортофосфорной кислоты (щелочной оптимум)] и *кислую* фосфатазу [КФ 3.1.3.2; фосфогидролаза моноэфиров ортофосфорной кислоты (кислый оптимум)]. Оба фермента катализируют одну и ту же реакцию, но при различном оптимуме pH:



В пищевой технологии реакция на фосфатазу положена в основу метода контроля эффективности термических режимов при пастеризации молока и сливок, при производстве вареных колбас и кулинарных изделий. Если тепловой режим не выдержан, то активность фосфатазы сохраняется. При правильной тепловой обработке фосфатаза инактивируется.

Амилазы – группа ферментов подкласса *гликозидаз* (3.2), катализирующих гидролиз крахмала, гликогена и родственных им полисахаридов и олигосахаридов путем разрыва гликозидных связей. При действии на крахмал они гидролизуют как неизменные крахмальные зерна, так и оклейстеризованный (вареный) крахмал. Однако действие амилаз на неизменные или механически поврежденные крахмальные зерна значительно слабее, чем их действие на оклейстеризованный (вареный) крахмал. В связи с этим в ряде отраслей пищевой промышленности, например в спиртовой, перед осахариванием крахмала солодом (источник активной амилазы) производят заваривание муки или картофеля. Податливость крахмала к действию амилаз получила название *атакуемости крахмала*.

Среди амилаз по ряду свойств различают: α -амилазу, β -амилазу и экзо-1,4- α -D-глюкозидазу, или глюкоамилазу.

α -Амилаза (КФ 3.2.1.1; 1,4- α -D-глюкан-глюканогидролаза) содержится в слюне, соке поджелудочной железы, плесневых грибах, проросшем зерне пшеницы, ржи, ячменя. Она катализирует гидролиз без определенного порядка неконцевых (внутренних) α -1,4-гликозидных связей в молекулах амилозы, амилопектина и

гликогена с образованием низкомолекулярных декстринов и небольшого количества мальтозы; на 1,4- α -гликозидные связи, прилегающие к точкам ветвления или к концевому глюкозному остатку, α -амилаза практически не действует. Образующиеся при гидролизе соединения имеют редуцирующую группу (гликозидный гидроксил) в α -конфигурации, отсюда название фермента – α -амилаза.

α -Амилаза содержит кальций (по меньшей мере один моль прочно связанного кальция на один моль белка). Кальций стабилизирует вторичную и третичную структуры фермента, обеспечивая тем самым его каталитическую активность.

При использовании для хлебопечения муки из проросшего зерна, имеющей, как правило, высокую активность α -амилазы, при брожении теста происходит избыточное накопление низкомолекулярных декстринов, что ухудшает качество хлеба: его пористость, физические свойства, вкус.

β -Амилаза (КФ 3.2.1.2; 1,4- α -D-глюканмальтогидролаза) содержится в семенах пшеницы, ржи, ячменя и соевых бобах; катализирует гидролиз α -1,4-гликозидных связей в полисахаридах (крахмал, гликоген, декстрины), последовательно отщепляя остатки мальтозы от нередуцирующих концов, переводя ее из α -формы в β -форму; отсюда название фермента – β -амилаза.

β -Амилаза расщепляет амилозу полностью до мальтозы; расщепление амилопектина происходит не до конца. Она может последовательно отщеплять от амилопектина остатки мальтозы только до тех пор, пока не приблизится до места ветвления на расстоянии двух или трех остатков глюкозы. Здесь ее действие прекращается и остается высокомолекулярный декстрин, называемый конечным декстрином (по существу, это амилопектин без наружных ветвей). Образовавшиеся при действии на амилопектин β -амилазы высокомолекулярные декстрины гидролизуются α -амилазой до декстринов небольшой молекулярной массы.

α -Амилаза и β -амилаза отличаются также по отношению к pH и температуре. α -Амилаза имеет оптимум pH 5,6–6,3, а оптимум температуры 65 °С, β -амилаза имеет оптимум pH 4,8, а оптимум температуры 51 °С. α -Амилаза и β -амилаза в отдельности не могут полностью гидролизовать крахмал с образованием мальтозы; при одновременном действии обеих амилаз крахмал гидролизуеться на 95 %.

Гидролиз α -1,6-гликозидных связей в амилопектине, гликогене и конечном декстрине катализирует *амилопектин-6-глюканогидролаза* (КФ 3.2.1.41), а в декстринах и изомальтозе, образующихся при гидролизе крахмала и гликогена α -амилазой, – *декстрин-6- α -глюканогидролаза* (КФ 3.2.1.10).

Экзо-1,4- α -гликозидаза, называемая также глюкоамилаза, или γ -амилаза (КФ 3.2.1.3; 1,4- α -глюкан-глюкогидролаза), содержится в растениях, тканях животных и плесневых грибах; катализирует гидролиз α -1,4-гликозидных связей в молекуле крахмала, гликогена, олигосахаридов и даже дисахаридов (например, мальтозы), последовательно отщепляя остатки глюкозы от нередуцирующего конца. Большинство форм фермента способны также быстро гидролизовать 1,6- α -гликозидные связи, когда следующей связью в цепи является 1,4- α -связь. С помощью глюкоамилазы получают из крахмала глюкозную патоку и кристаллическую глюкозу. Препарат глюкоамилазы получают из плесневых грибов.

Схема действия амилаз на амилопектин представлена на рис. 4.9.

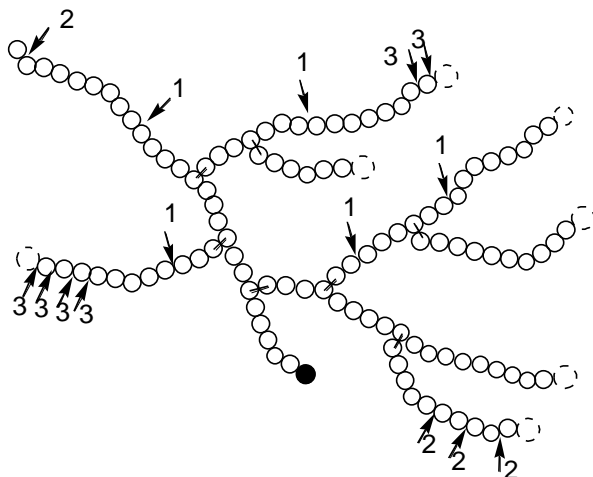
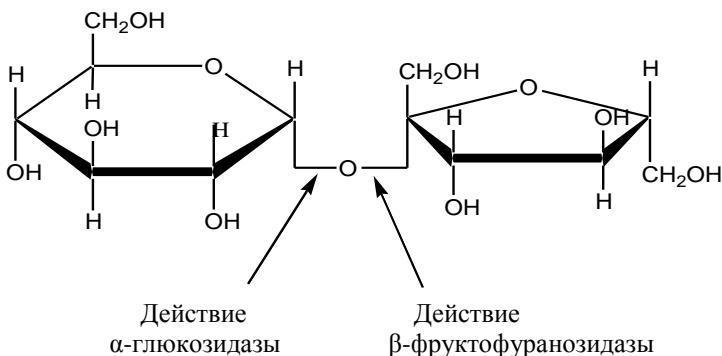


Рис. 4.9. Схема действия амилаз на молекулу амилопектина:
 ○○ – α -1,4-гликозидная связь; ○—○ – α -1,6-гликозидная связь;
 ● – редуцирующий конец; ○ – нередуцирующий конец;
 порядок действия: 1 – α -амилазы; 2 – β -амилазы; 3 – глюкоамилазы

β-Фруктофуранозидаза (КФ 3.2.1.26; *β-D-фруктофуранозид-фруктогидролаза*) катализирует гидролиз гликозидной связи в сахарозе и раффинозе, действуя со стороны *β*-глюкозидного углеродного атома остатка фруктозы. Этот фермент называют *сахарозой*, или *инвертазой*. Он содержится в высших растениях и микроорганизмах. В большом количестве *β*-фруктофуранозидаза содержится в дрожжах, из которых ее получают в виде очищенных ферментных препаратов.

В кишечном соке животных организмов содержится фермент сахарозо-*α*-глюкогидролаза (КФ 3.2.1.48; *сахарозо-α-глюкогидролаза*), называемая *сахарозой*. Однако в отличие от сахарозы из дрожжей этот фермент гидролизует сахарозу у *α*-глюкозидного углеродного атома остатка глюкозы, т.е. гидролизует сахарозу по типу *α*-глюкозидазы:



α-Глюкозидаза, или *мальтаза* (КФ 3.2.1.20; *α-D-глюкозид-глюкогидролаза*), содержится в тканях растений, микроорганизмах, кишечном соке животных. Особенно в большом количестве этот фермент содержится в проросшем просянном зерне, *α*-глюкозидаза катализирует гидролиз мальтозы с образованием двух молекул глюкозы; сахароза, как *α*-глюкозид, также расщепляется этим ферментом.

β-Галактозидаза, или *лактаза* (КФ 3.2.1.23; *β-D-галактозид-галактогидролаза*), содержится в плодах миндаля, молочнокислых бактериях, лактозных дрожжах, плесневых грибах, кишечном соке; катализирует гидролитическое расщепление лактозы на глюкозу и галактозу.

У некоторых людей и даже групп населения (в основном представители африканских и азиатских рас) во взрослом состоянии возникает непереносимость лактозы, обусловленная резким снижением или даже исчезновением в тонком кишечнике лактазной активности. После употребления молока у таких людей возникает расстройство пищеварения.

Тиогликозидаза, или *мирозиназа* (КФ 3.2.3.1; тиогликозидгликогидролаза), катализирует гидролиз тиогликозидов (S-гликозидов). Один из таких тиогликозидов – синигрин – содержится в семенах горчицы и хрене. Под действием тиогликозидазы синигрин расщепляется на β -глюкозу, аллилгорчичное масло (аллилизотиоцианат) и гидросульфат калия.

В муке из семян горчицы этот процесс происходит наиболее интенсивно после ее увлажнения. Аллилгорчичное масло придает горчице и хрену характерный для них вкус и запах.

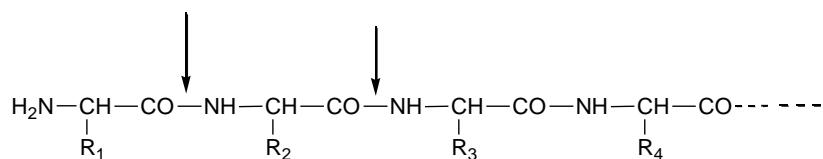
Гидролиз синигрина тиогликозидазой очень сильно ускоряется аскорбиновой кислотой.

Пептидгидролазы (подкласс 3.4), называемые также *протеолитическими ферментами*, или *протеазами*, катализируют гидролиз пептидных связей в белках и пептидах.

Подразделяются на два подподкласса: *пептидазы* (экзопептидазы, 3.4.11–17) и *протеиназы* (эндопептидазы, 3.4.21–24). Пептидазы катализируют гидролиз пептидов до свободных аминокислот; протеиназы – гидролиз белков и высокомолекулярных пептидов до пептидов меньшей молекулярной массы.

Пептидазы в соответствии с их специфичностью разделены на аминопептидазы, карбоксипептидазы и дипептидазы.

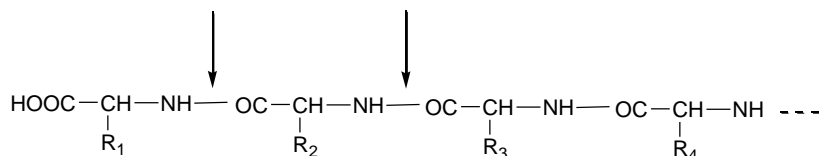
Аминопептидазы (подподкласс 3.4.11; α -аминоацилпептидгидролазы) катализируют отщепление аминокислот с N-конца пептидной цепи:



Особенно широко распространен в природе фермент *аминопептидаза* (КФ 3.4.11.1; α -аминоацилпептид-гидролаза). Этот

фермент отщепляет N-концевые аминокислоты от большинства пептидов. Он обнаружен во всех исследованных тканях животных, в растениях и микроорганизмах.

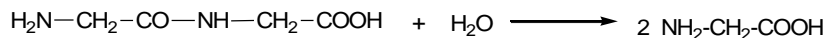
Карбоксипептидазы (пептидил-аминокислотные гидролазы) катализируют отщепление аминокислоты с C-конца пептидной цепи:



Среди этой группы ферментов различают *сериновые карбоксипептидазы* (КФ 3.4.16) и *металлокарбоксипептидазы* (КФ 3.4.17).

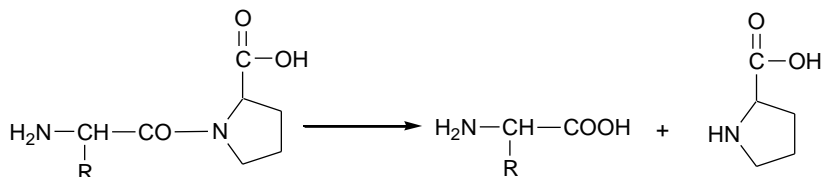
Карбоксипептидаза А (КФ 3.4.17.1; пептидил-L-аминокислота гидролаза) отщепляет от пептидной цепи C-концевые аминокислоты, за исключением C-концевых аргинина, лизина и проламина; вырабатывается клетками поджелудочной железы в виде неактивного предшественника – прокарбоксипептидазы А, превращающейся в активный фермент под действием трипсина. Карбоксипептидаза А содержит один прочно связанный атом цинка на молекулу. Она широко используется в белковой химии для определения C-концевых аминокислот.

Дипептидазы (КФ 3.4.13; дипептид-гидролаза) катализируют гидролиз дипептидов, имеющих свободные α-амино- и α-карбоксильные группы, на свободные аминокислоты. Типичным примером является *глицил-глицин-дипептидаза* (КФ 3.4.13.1; глицил-глицин-гидролаза), катализирующая гидролиз глицил-глицина по уравнению



Имеются дипептидазы, специфичные к пролину и оксипролину, находящимся в N-концевом положении – *пролил-дипептидаза* (КФ 3.4.13.8; L-пролил-аминокислота-гидролаза) либо в C-концевом положении – *пролин-дипептидаза* (КФ 3.4.13.9; аминоксил-L-пролин-гидролаза). Последний фермент

отличается тем, что он гидролизует не обычную пептидную связь (–CO–NH–), а амидную связь (–CO–N=) между α-карбоксильной группой и циклической аминокислотой согласно схеме:



Наряду с перечисленными выше подподклассами в составе пептидаз имеются еще два подподкласса: *дипептидилпептид-гидролазы* (КФ 3.4.14), отщепляющие дипептид с N-конца пептидной цепи, *пептидилдипептид-гидролазы* (КФ 3.4.15), отщепляющие дипептид с C-конца пептидной цепи.

Протеиназы (эндопептидазы) разделены на подподклассы в зависимости от каталитического механизма; особенности специфичности используются только для идентификации индивидуальных ферментов в пределах подподкласса. Протеиназы не имеют систематических названий.

Сериновые протеиназы (КФ 3.4.21) – в их активном центре функционируют радикалы серина и гистидина. Сюда относятся *химотрипсин* (КФ 3.4.21.1) и *трипсин* (КФ 3.4.21.4), вырабатываемые клетками поджелудочной железы, *субтилизин* (КФ 3.4.21.14), продуцируемый бактериями и др.

Тиоловые протеиназы (КФ 3.4.22) содержат в активном центре радикал цистеина. К числу этих ферментов принадлежат *катепсин В* (КФ 3.4.22.1), *папаин* (КФ 3.4.22.2), *протеиназа дрожжей* (КФ 3.4.22.9) и др.

Катепсины – это группа ферментов животных клеток, действующих главным образом как протеиназы (эндопептидазы); оптимум pH большинства из них находится в слабокислой среде. Они обнаружены в тканях млекопитающих, других позвоночных и даже беспозвоночных. Катепсины находятся в специальных органеллах клеток – *лизосомах*. Активность катепсинов проявляется полностью только в том случае, если лизосомная мембрана разрушена.

В лизосомах наряду с протеиназами содержатся пептидазы и другие гидролитические ферменты.

Папаин предпочтительно катализирует гидролиз пептидных связей у карбонильного конца остатков аргинина, лизина, фенилаланина-Х (т.е. по второй пептидной связи, следующей за карбоксильной группой фенилаланина). Фермент получают в виде сухого порошка из млечного сока тропического дынного дерева. Молекула папаина состоит из одной полипептидной цепи, включающей 212 аминокислотных остатков, содержит три дисульфидных мостика. В активный центр фермента входит радикал гистидина и сульфгидрильная группа цистеина.

Протеиназы типа папаина (тиоловые протеиназы) широко распространены в семенах растений и называются папаиназами. Под действием синильной кислоты, сероводорода, цистеина и восстановленного глутатиона папаин и папаиназы переходят в активное состояние, что объясняют восстановлением –S–S-групп в SH-группы. Под действием окислителей (перекиси, йод и т.п.) папаиназы инактивируются, так как их SH-группы превращаются в –S–S-группы.

Если в муке присутствуют активные протеиназы или в значительном количестве содержатся соединения, активирующие их, то в процессе приготовления теста происходит значительное ослабление клейковинного комплекса муки. В результате этого тесто разжижается и расплывается, что снижает качество хлеба.

Следует отметить, что атакуемость (податливость к действию фермента) разных белков одними и теми же протеиназами существенно различается. Например, белки различных сортов пшеницы, резко различающихся по физическим свойствам клейковины, расщепляются папаином с различной скоростью. Также различна скорость расщепления папаином и глобулинов семян различных видов бобовых растений. Это явление связано со специфичностью молекулярной структуры субстрата.

Кислые протеиназы (КФ 3.4.23) в активном центре содержат радикалы дикарбоновых аминокислот и имеют оптимум pH ниже 5,0. К ним относятся *пепсин А*, или *пепсин* (КФ 3.4.23.4), *катепсин Д* (КФ 3.4.23.5), ряд кислых протеиназ, продуцируемых различными микроорганизмами и др.

Пепсин А, или пепсин, вырабатывается слизистой оболочкой желудка в виде профермента – *пепсиногена*, превращающегося в пепсин под влиянием соляной кислоты и свободного пепсина

(аутокаталитически). Выделен в 1930 г. в виде белковых кристаллов. В белках и полипептидах катализирует гидролиз пептидных связей преимущественно у карбонильного конца остатков фенилаланина и лейцина. Препараты пепсина применяются в качестве лечебного средства при нарушении секреции желудочного сока.

Химозин, или *ренин*, выделяется слизистой оболочкой сычуга (четвертый отдел желудка) молодых жвачных животных, створаживает молоко. Этот фермент выделяется вместе с пепсином. Смесь химозина и пепсина называется *сычужным ферментом*. Он применяется в молочной промышленности для свертывания молока при производстве сыра и творога. Сычуги телят в возрасте 1–2 месяцев вырабатывают преимущественно химозин (70 %). С возрастом состав ферментов меняется, у взрослых преобладает пепсин. Технический препарат сычужного фермента содержит примесь 30–40 % пепсина и имеет молокосвертывающую активность 100 000 условных единиц. Под активностью сычужного фермента понимают количество частей молока, свертываемого одной частью фермента при 35 °С в течение 40 минут.

Металлопротеиназы (КФ 3.4.24) содержат связанный металл, важный для каталитической активности. В этот подподкласс входят *коллагеназа* (КФ 3.4.24.3) и ряд протеиназ микробного происхождения.

Протеиназы с неизвестным механизмом катализа отнесены к подподклассу КФ 3.4.99.

Важной особенностью ряда протеиназ является вторичный характер их действия на пептидные связи в молекуле полипептидов. Так, пепсин избирательно ускоряет гидролиз пептидных связей у карбонильного конца остатков фенилаланина и лейцина, трипсин – аргинина и лизина, химотрипсин – ароматических аминокислот и т.д. Субтилизин, протеиназа В дрожжей и некоторые другие протеиназы четкой специфичности не имеют. Таким образом, индивидуальный белок под действием конкретной протеиназы всегда расщепляется на ограниченное число пептидов. Это используется в белковой химии при определении первичной структуры белков.

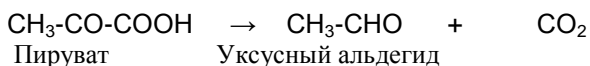
Многие пептид-гидролазы (пепсин, трипсин и др.) образуются в клетке в виде *проферментов* (неактивных предшественников), называемых *зимогенами*. Превращение предшественников

(зимогенов) в активные ферменты происходит под влиянием специфических веществ. Это явление было впервые установлено в лаборатории И.П. Павлова. Являясь по природе полипептидами, неактивные формы этих ферментов содержат пептид-ингибитор, и процесс активирования заключается в отщеплении пептид-ингибитора.

4.8.4. Лиазы (4)

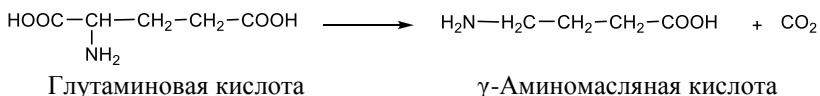
Ферменты этого класса катализируют удаление из субстратов определенных групп (CO_2 , H_2O , NH_4 , альдегид) не путем гидролиза или окисления, а путем простого отщепления с образованием двойной связи или присоединения группы к двойной связи. Систематическое название фермента складывается из названия субстрата, названия удаляемой группы и через дефис слова «лиаза». В рекомендуемых названиях используются термины «декарбоксилаза», «альдолаза», «дегидратаза». В зависимости от типа разрываемых связей (C–C, C–O, C–N, C–S и др.) выделено семь подклассов. Деление на подподклассы произведено в зависимости от отщепляемой группы.

Пируватдекарбоксилаза (КФ 4.1.1.1; карбоксилиаза 2-оксокислот-лиаза) катализирует реакцию отщепления от пируват карбоксильной группы, выделяемой в виде углекислого газа с образованием уксусного альдегида:



В клетке эта реакция необратима. Фермент двухкомпонентный, в состав его активной группы входит производное витамина B_1 – тиаминпирофосфат (ТПФ). Пируватдекарбоксилаза содержится в растениях, клетках дрожжей и других микроорганизмов, осуществляющих спиртовое брожение. В животных тканях этот фермент не обнаружен.

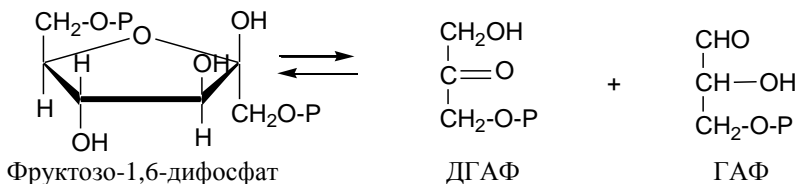
Глутаматдекарбоксилаза (КФ 4.1.1.15; L-глутамат-1-карбокси-лиаза) катализирует декарбоксилирование глутаминовой кислоты с образованием γ -аминомасляной кислоты и углекислого газа:



Фермент двухкомпонентный, его активной группой является пиридоксальфосфат (фосфорилированное производное витамина В₆). Глутаматдекарбоксилаза содержится в тканях животных, растениях и микроорганизмах. Особенно активен фермент в кабачках, тыкве, зародышах злаковых и мозговой ткани.

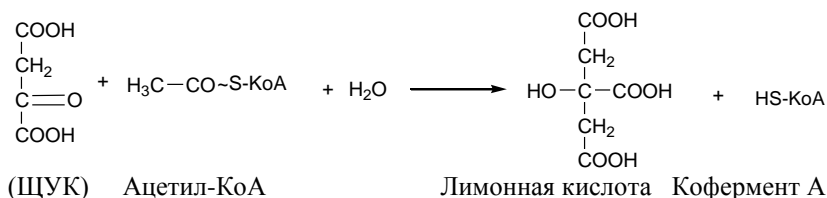
В животном организме γ -аминомасляная кислота, образующаяся при декарбоксилировании глутаминовой кислоты, служит передатчиком нервного возбуждения (нейромедиатором), вызывая торможение в центральной нервной системе (в основном головной мозг).

Фруктозодифосфат-альдолаза, или *альдолаза* (КФ 4.1.2.13; D-фруктозо-1,6-дифосфат-D-глицеральдегид-3-фосфат-лиаза), катализирует обратимую реакцию расщепления фруктозо-1,6-дифосфата на дигидроксиацетонфосфат (ДГАФ) и глицеральдегид-3-фосфат (ГАФ):



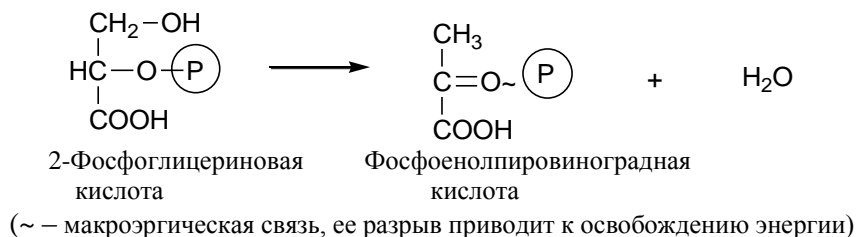
Фермент альдолаза характерен для организмов с распадом глюкозы по пути гликолиза и фотосинтезирующих организмов и играет важную роль в углеводном обмене. В процессе брожения и дыхания под действием фруктозодифосфат-альдолазы фруктозо-1,6-дифосфат легко разрывается посередине, образуя две молекулы фосфотриоз, которые подвергаются дальнейшим превращениям. В процессе фотосинтеза под действием фруктозодифосфат-альдолазы происходит синтез фруктозо-1,6-дифосфата из дигидроксиацетонфосфата (ДГАФ) и глицеральдегид-3-фосфата (ГАФ), образующихся из первичного продукта фотосинтеза – фосfogлицириновой кислоты.

Цитрат-синтаза (КФ 4.1.3.7; цитрат-оксалоацетат-лиаза) катализирует реакцию конденсации ацетил-КоА с щавелевоуксусной кислотой (ЩУК) с образованием лимонной кислоты и кофермента А (HS-КоА):



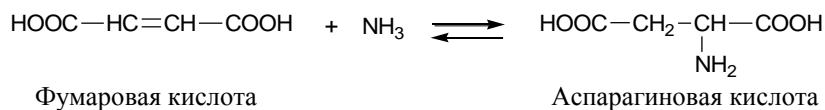
Эта реакция является начальной в цикле трикарбоновых кислот.

Енолаза (КФ 4.2.1.11; 2-фосфо-*D*-глицерат гидро-лиаза) отщепляет воду от 2-фосфоглицериновой кислоты с образованием фосфоенолпировиноградной кислоты – макроэргического соединения:



В результате отщепления воды происходит перераспределение внутренней энергии молекулы.

Аспарат-аммиак-лиаза (КФ 4.3.1.1; *L*-аспарат аммиак-лиаза) катализирует обратимую реакцию синтеза аспарагиновой кислоты из фумаровой кислоты и аммиака:



Фермент обнаружен в растениях и микроорганизмах.

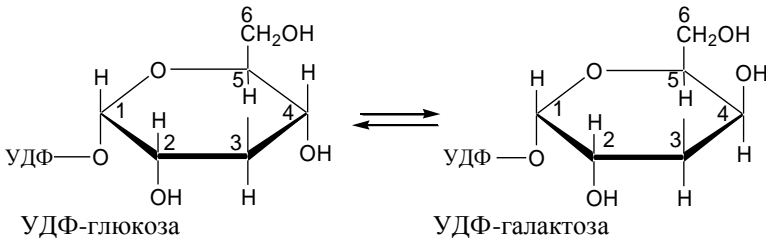
4.8.5. Изомеразы (5)

Ферменты этого класса катализируют изомеризацию, т.е. геометрические или структурные изменения, происходящие в пределах одной молекулы. Эти изменения происходят вследствие внутримолекулярного перемещения атомов водорода, фосфатных и ацильных групп, различных радикалов, двойных связей и т.п.

Изомеризации в живых организмах наиболее часто подвергаются углеводы и их производные, карбоновые кислоты, аминокислоты. В зависимости от типа катализируемой реакции изомеразы разделены на пять подклассов; подподклассы выделены в зависимости от характера превращения субстрата.

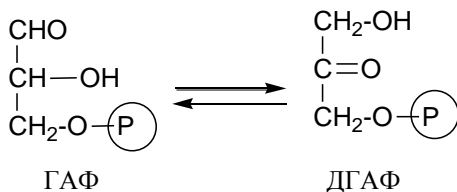
Большинство рекомендуемых названий ферментов этого класса подобны (с некоторыми упрощениями) систематическим названиям. Фермент, катализирующий внутримолекулярный перенос групп, называют *мутазой*. Изомеразы, катализирующие реакции инверсии при центрах асимметрии, называют *рацемазами* и *эпимеразами*. Рацемазы катализируют взаимные превращения D- и L-изомеров, эпимеразы – реакции изменения взаимного расположения атома водорода и гидроксильной группы у одного из углеродных атомов моносахаридов или их производных (манноза, глюкоза, галактоза).

УДФ-глюкоза-4-эпимераза (КФ 5.1.3.2; систематическое название соответствует рекомендуемому) катализирует обратимую реакцию превращения глюкозы в УДФ-галактозу:



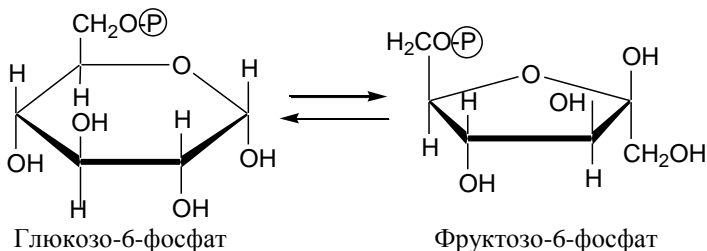
Эта реакция имеет важное значение во взаимном превращении глюкозы и галактозы у животных, растений и ряда микроорганизмов.

Триозофосфатизомераза (КФ 5.3.1.1; D-глицеральдегид-3-фосфат кетол-изомераза) катализирует реакцию взаимного превращения D-глицеральдегид-3-фосфата (ГАФ) и дигидроксиацетонфосфата (ДГАФ):



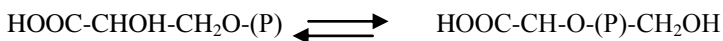
Фермент играет важную роль в углеводном обмене у организмов с распадом глюкозы по пути гликолиза и у фотосинтезирующих организмов.

Глюкозофосфатизомераза (КФ 5.3.1.9; D-глюкозо-6-фосфат кетол-изомераза) катализирует реакцию обратимого превращения глюкозо-6-фосфата и фруктозо-6-фосфата:



В организме животных и высших растений эти взаимные превращения фосфорных эфиров глюкозы и фруктозы происходят с большой скоростью.

Фосфоглицерат-фосфомутаза (КФ 5.4.2.1) катализирует обратимое превращение 3-фосфоглицериновой кислоты в 2-фосфоглицериновую кислоту:

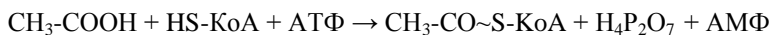


Эта реакция происходит при распаде глюкозы по пути гликолиза.

4.8.6. Лигазы, или синтетазы (6)

Ферменты катализируют реакции присоединения друг к другу двух молекул, сопряженные с гидролизом пиродифосфатной связи в АТФ или другом нуклеозидтрифосфате. Образуемые в этих реакциях связи часто являются высокоэнергетическими. В зависимости от типа вновь образуемой связи (–C–O–, –C–S–, –C–N– и др.) лигазы делятся на пять подклассов. Подподклассы выделены в зависимости от природы образующегося соединения. Систематическое название образуется по схеме: А : В лигаза (образующая Z), где А и В – соединяющиеся молекулы; в скобках указывается продукт расщепления нуклеозидтрифосфата, который использовался в данной реакции в качестве источника энергии. В рекомендуемых названиях применяется термин «синтетаза».

Ацетил-КоА-синтетаза [КФ 6.2.1.1; ацетат : КоА лигаза (образующая АМФ)] катализирует реакцию образования ацетилкофермента А:

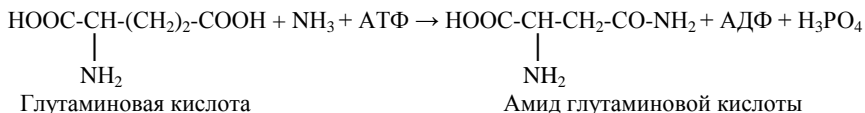


Уксусная кислота

Ацетил-КоА

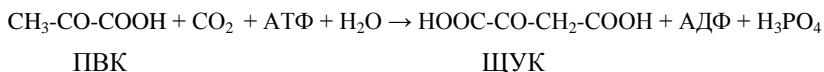
Аналогичным образом катализируют присоединение к коферменту А соответствующих органических кислот и другие ферменты, синтезирующие ацилпроизводные кофермента А.

Глутаминсинтетаза [КФ 6.3.1.2; L-глутамат : аммиак лигаза (образующая АДФ)] катализирует биосинтез глутамина из глутаминовой кислоты и аммиака:

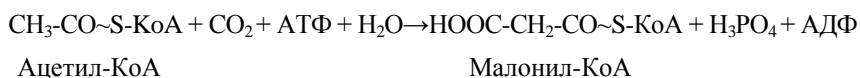


Аналогичным образом под действием *аспарагинсинтетазы* (КФ 6.3.1.1) происходит биосинтез аспарагина.

Пируваткарбоксилаза [КФ 6.4.1.1; пируват : двуокись углерода лигаза (образующая АДФ)] относится к подклассу карбоксилаз (6.4) и катализирует синтез щавелевоуксусной кислоты из пирувиноградной кислоты и углекислого газа:

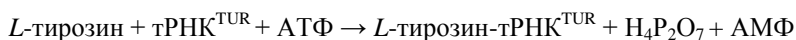


Карбоксилазы катализируют присоединение углекислого газа не только к органическим кислотам, но и к ацилпроизводным кофермента А. Примером может служить *ацетил-КоА-карбоксилаза* [КФ 6.4.1.2; ацетил-КоА : двуокись углерода лигаза (образующая АДФ)], катализирующая образование малонил-КоА из активированной уксусной кислоты (ацетил-КоА):

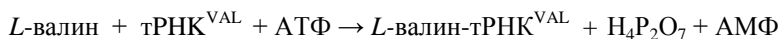


Все карбоксилазы содержат в качестве простетической группы биотин (витамин Н).

Ферменты подподкласса (6.1.1) катализируют ацилирование транспортных РНК соответствующими аминокислотами. Эти лигазы играют важную роль в процессе биосинтеза белка и обладают абсолютной специфичностью. Например, *тирозил-тРНК-синтетаза* [КФ 6.1.1.1; L-тирозин : тРНК^{TUR} лигаза (образующая АМФ)] катализирует образование комплекса тирозин – транспортная РНК:



Валил-тРНК-синтетаза [КФ 6.1.1.9; L-валин : тРНК^{VAL} лигаза (образующая АМФ)] катализирует образование комплекса валин – транспортная РНК:



Каждой аминокислоте соответствует специфический фермент, катализирующий ее присоединение к транспортной РНК.

4.9. Изоферменты. Мультиферментные системы

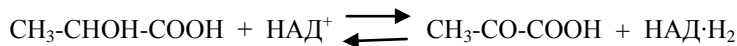
В основу классификации и номенклатуры ферментов положена катализируемая реакция. Это означает, что название фермента характеризует не индивидуальный белок-фермент, а тип катализируемой реакции. Ферменты, катализирующие одну и ту же реакцию у разных видов живых существ, как белки, различаются между собой. Установлено, что последовательность аминокислотных остатков фермента, катализирующего одну и ту же реакцию у разных видов организмов, очень редко бывает одинаковой даже у двух близких видов. Однако эти различия обычно приходится на участки полипептидной цепи, отдаленные от активного центра, последовательность аминокислотных остатков зон полипептидной цепи, участвующих в формировании активного центра, остается неизменной. Например, у глицеральдегидфосфатдегидрогеназы последовательность 17 аминокислотных остатков в области, содержащей активную SH-группу, оказалась одинаковой у 10 исследованных видов организмов из разных групп (млекопитающие, птицы, рыбы, дрожжи, насекомые).

Последовательность аминокислотных остатков для одного и того же фермента может различаться не только у разных видов, но даже в пределах одного биологического вида. В связи с этим у одного и того же вида можно обнаружить несколько молекулярных форм одного и того же фермента. Все белки, катализирующие одну и ту же реакцию и встречающиеся в природе в организмах одного вида, носят общее название – *множественные формы ферментов*. *Изоферментами (изозимами, или изоэнзимами)* называют те множественные формы ферментов, которые возникают вследствие генетически обусловленных различий в первичной структуре белка. К изоферментам не относят формы ферментов, образующиеся вследствие модификации одной и той же первичной последовательности. Эти модификации могут осуществляться, например, в результате гликозилирования, фосфорилирования, амидирования и т.п. радикалов аминокислотных остатков полипептидной цепи, а также путем частичного протеолиза последней.

Изоферментные формы характерны для ферментов, молекулы которых построены из двух и более протомеров. Такие ферменты называют *олигомерами, или мультимерами*. Построенный из

протомеров фермент проявляет максимальную каталитическую активность только в виде олигомера, диссоциация на протомеры лишает его каталитической активности.

Одним из первых ферментов, у которого были обнаружены изоферментные формы, является лактатдегидрогеназа, катализирующая реакцию взаимопревращения молочной и пировиноградной кислот:



Молочная кислота

Пировиноградная кислота

Лактатдегидрогеназа в тканях человека и животных присутствует в виде пяти различных изоферментов, легко разделяемых методом электрофореза. Каждый ее изофермент состоит из четырех протомеров, среди которых различают два типа: М и Н (от англ. *muscle* – мышца и *heart* – сердце), кодируемых разными генами и отличающихся по аминокислотному составу и аминокислотной последовательности. Каждый протомер имеет относительную молекулярную массу 33 500.

Лактатдегидрогеназа обладает каталитической активностью только в виде тетрамера. Из четырех протомеров двух типов (Н и М) можно составить пять следующих изоферментов: НННН (или Н₄), НННМ (или Н₃М), ННММ (или Н₂М₂), НМММ (или НМ₃), ММММ (или М₄). Эти изоферменты катализируют одну и ту же реакцию, но значительно отличаются друг от друга по максимальной скорости и константе Михаэлиса для соответствующих субстратов. Изофермент Н₄ предпочитительно катализирует быстрое окисление молочной кислоты в пировиноградную кислоту в мышце сердца, а изофермент М₄ – в скелетных мышцах.

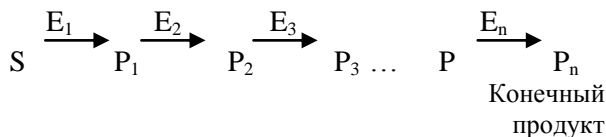
В настоящее время показано, что многие ферменты, функционирующие в животных и растительных организмах, существуют в форме изоферментов (малатдегидрогеназа, изоцитратдегидрогеназа, глутаматдегидрогеназа, каталаза, пероксидаза, аспаратаминотрансфераза, фумарат-гидратаза и др.).

Основная роль изоферментов – это регуляция интенсивности обмена веществ в клетке в зависимости от меняющихся условий (возраст, концентрация субстрата, наличие активаторов и ингиби-

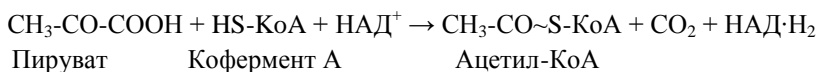
торов, изменения рН, температуры и т.п.). Изоферменты способствуют согласованности процессов обмена веществ в клетке и быстрой адаптации организма к изменениям условий существования.

Изучение изоферментного состава животных и растений имеет практическое значение. Например, по картине изоферментов сыворотки крови можно судить как о топографии патологического процесса, так и о степени поражения органа или ткани. Метод изоферментного анализа растений успешно применяется при систематике картофеля, кукурузы, бананов, ананасов, сахарного тростника, ряда плодовых и цитрусовых культур.

Мультиферментные системы – это комплексы ферментов, катализирующих последовательные стадии превращения какого-либо субстрата, в которых продукт, образовавшийся под воздействием предыдущего фермента, является субстратом для последующего фермента:



Например, *пируватдегидрогеназная система* катализирует сложный многостадийный процесс – окислительное декарбоксилирование пирувиновой кислоты, протекающее по следующей схеме:



Пируватдегидрогеназная система является структурной единицей с молекулярной массой $1 \cdot 10^6 - 9 \cdot 10^6$ в зависимости от биологического источника и состоит из множества копий (молекул) трех разных ферментов: пируватдегидрогеназы (КФ 1.2.4.1), липоат-ацетилтрансферазы (КФ 2.3.1.12), липоамид-дегидрогеназы (КФ 1.6.4.3) и пяти кофакторов: тиаминпирофосфата (ТПФ), флавинадениндинуклеотида (ФАД), кофермента А (HS-KoA), ни-

котионамидадениндинуклеотида (НАД⁺) и липоевой кислоты. Каждый из ферментов пируватдегидрогеназной системы катализирует разные стадии многостадийного процесса. Примерами мультиферментных процессов являются гликолиз, ЦТК, β -окисление и синтез жирных кислот.

4.10. Применение ферментов в биотехнологии

В организме ферменты реализуют участие генов в обмене веществ. Это исходит из того, что синтез каждого фермента определяется соответствующим геном. Ферменты теснейшим образом связаны с жизнью. Из всех многочисленных химических реакций, обеспечивающих жизнедеятельность организма, едва ли можно назвать хотя бы одну, которая не была бы связана с ферментативным катализом; без ферментов не может быть жизни. Ферменты способны осуществлять каталитическую функцию и вне организма. На этом основано применение ферментов и ферментных препаратов в биотехнологии.

В спиртовой промышленности для осахаривания крахмало-содержащего сырья – картофеля, зерно – широкое применение нашли амилолитические ферменты (амилазы). В качестве источника амилаз наиболее широко применяют муку из солода (обычно из пророщенного ячменя). Ячменный солод может быть заменен культурой некоторых видов плесневых грибов из рода *Aspergillus*, являющегося источником амилаз. Грибные амилазы применяют также для получения глюкозы из крахмала и в хлебопекарной промышленности; добавленные в количестве 20–30 г на 1 т муки, они ускоряют созревание теста, улучшают вкус и аромат хлеба, увеличивают пористость мякиша хлеба, сокращают расход сахара на производство высших сортов булочных изделий.

В сыроделии для свертывания молока используется сычужный фермент, получаемый из слизистой оболочки сычуга телят и ягнят в возрасте 1–2 мес. Перспективны для молочной промышленности ферментные препараты микробного происхождения.

В пивоварении для борьбы с помутнением пива широко используют протеиназы – папаин и пепсин. Папаин, а также другие протеиназы бактериального, грибного и растительного происхождения используют для смягчения парного мяса. Это связано с тем,

что мясо, не прошедшее процесс послеубойного созревания, сохраняет жесткость даже при длительной кулинарной обработке. Специфические протеиназы применяют в кожевенной промышленности для ускорения снятия волоса со шкур и размягчения кожевенного сырья.

Протеиназы, сохраняющие стабильность и активность при pH 9–10 и температуре до 90 °С, являются компонентами стиральных порошков и моющих средств.

Глюкооксидаза, катализирующая окисление глюкозы при участии кислорода воздуха, позволяет удалять из реакционной среды как кислород, так и глюкозу. В связи с этим она используется для удаления кислорода из пищевых продуктов, окраска или аромат которых ухудшаются в результате окислительных процессов (пиво, напитки, фруктовые соки и др.). Удаление глюкозы желательно и в том случае, когда пищевые продукты подвергаются высушиванию, например, при получении яичного порошка или сухого молока. В процессе сушки глюкоза легко взаимодействует со свободными аминокруппами белков и аминокислот, что приводит к появлению темного окрашивания (реакция меланоидинообразования) и образованию ряда продуктов, обладающих неприятным вкусом и запахом.

Многие ферменты и ферментные препараты используют для лечения различных заболеваний, в аналитической химии и при проведении научно-исследовательских работ.

Широкое применение ферментов и ферментных препаратов в биотехнологии и для других целей привело к созданию промышленности по их производству. Источником для их получения чаще всего служат различные микроорганизмы.

Для повышения стабильности ферментов и облегчения их отделения от реакционной среды в настоящее время разрабатываются методы иммобилизации ферментов на твердых носителях.

Глава 5. ВИТАМИНЫ

5.1. История открытия витаминов

Ко второй половине XIX века считалось общепринятым, что если в пищу человека в определенных количествах входят белки, жиры, углеводы, минеральные соли и вода, то она полностью отвечает биологическим потребностям организма. Однако практика не всегда подтверждала правильность укоренившихся представлений о биологической полноценности пищи.

Николай Иванович Лунин, изучавший роль различных веществ в питании, установил, что белые мыши, получавшие цельное коровье молоко, быстро росли и были здоровы. Такие же мыши, но получавшие пищу, состоящую из смеси очищенных компонентов молока (казеин, молочный жир, молочный сахар, минеральные соли) и воды, отставали в росте, заболели и погибали. На основании этих опытов в 1880 г. ученый пришел к выводу, что в молоке, помимо белка, жира, молочного сахара и солей, содержатся еще другие вещества, необходимые для питания. Однако в то время эта публикация Н.И. Лунина не привлекла особого внимания.

Голландский врач Х. Эйкман, работавший на острове Ява в 1897 г., опубликовал результаты исследований, в которых показал, что при кормлении цыплят белым полированным рисом, потребляемым местным населением, у них развивается заболевание нервной системы (полиневрит), напоминающее неврологическое заболевание «бери-бери» («я не могу») у людей. После регулярного добавления в корм цыплят рисовых отрубей или экстракта из них болезнь быстро проходит. На основании своих исследований Х. Эйкман пришел к заключению, что рисовые отруби содержат какие-то неизвестные вещества, необходимые для питания и обмена.

Несколько лет спустя наблюдения Н.И. Лунина и Х. Эйкмана были подтверждены и развиты Ф. Гопкинсом, который кормил молодых лабораторных крыс и мышей искусственной смесью из различных пищевых веществ, наблюдая за их ростом, развитием и состоянием здоровья. При появлении малейших отклонений от нормы Ф. Гопкинс проводил химические анализы пищи. В дальнейшем, после появления отклонений от нормы в состоянии здо-

ровья лабораторных животных, он добавлял в пищу немного свежего молока – эффект был поразительный, состояние здоровья животных резко улучшалось. Собрав достаточно данных, Ф. Гопкинс в марте 1911 г. на одном из собраний членов Английского биохимического общества выступил с теорией о «дополнительных» питательных веществах. Сообщение получило признание.

В декабре 1911 г. польский биохимик К. Функ, работавший в Лондоне, сообщил, что им из экстракта рисовых отрубей выделено кристаллическое вещество, предохраняющее от заболевания «бери-бери». Это вещество представляло собой органическое соединение, содержащее аминокруппу. К. Функ назвал это вещество витамином (от лат. *vita* – жизнь), т.е. амином жизни. Этот термин затем стал применяться для обозначения всех жизненно важных независимо от химической природы веществ, присутствующих в организме в следовых количествах и необходимых для выполнения нормальных клеточных функций.

За открытия витаминов Х. Эйкману и Ф. Гопкинсу в 1929 г. была присуждена Нобелевская премия. В области витаминов работали многие ученые, и некоторые из них в последующем были также удостоены Нобелевской премии.

Таким образом, *витамины* – это низкомолекулярные органические соединения различной химической природы, объединенные в одну группу по признаку необходимости для осуществления жизненно важных биохимических и физиологических процессов в живых организмах. Витамины необходимы для нормальной жизнедеятельности всех животных и растительных организмов. Многие из витаминов функционируют в качестве кофакторов коферментов и простетических групп в составе ферментов.

Организм человека и животных должен получать витамины из внешних источников, так как одни витамины он не синтезирует вообще, другие синтезирует в недостаточном количестве. Основным источником витаминов для человека и животных служат растения, в которых синтезируются или сами витамины, или их предшественники – провитамины. Человек получает витамины также из пищевых продуктов животного происхождения, в которых они накапливаются из растительной пищи в период жизни животного. Важную роль в питании человека играют пищевые продукты, обогащенные витаминами в процессе производства.

Суточная потребность человека в витаминах колеблется в пределах 100–200 мг. В отличие от них суточная потребность человека в основных питательных веществах (белки, жиры, углеводы) составляет около 600 г в пересчете на сухое вещество.

При отсутствии или недостаточном количестве витаминов в пище человека и животных возникают нарушения обмена веществ, приводящие к тяжелым заболеваниям, а иногда и гибели организма. Болезни, связанные с отсутствием какого-либо витамина в пище, называют *авитаминозами*; болезни, обусловленные недостаточным поступлением витаминов с пищей, – *гиповитаминозами*. Чрезмерное введение в организм некоторых витаминов может вызывать заболевание, называемое *гипервитаминозом*.

Ряду витаминов свойственна *витамерия* – явление, при котором физиологическим действием, характерным для того или иного витамина, обладает не одно, а несколько сходных по химическому строению соединений. Такие соединения называют *витамерами*.

5.2. Номенклатура и классификация витаминов

Название отдельного витамина в настоящее время производят по прописной букве латинского алфавита, по химической природе и по названию заболевания, развивающегося при отсутствии витамина в пище, с добавлением приставки «анти-». Например, витамин, предохраняющий от заболевания цингой, называют витамин С (аскорбиновая кислота, антискорбутный).

По растворимости витамины делят на водорастворимые и жирорастворимые.

По химической классификации различают витамины алифатического, или ациклического, ароматического и гетероциклического рядов.

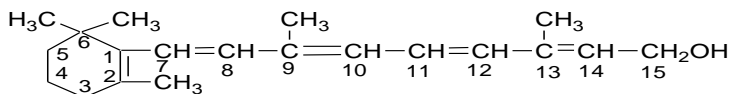
5.3. Жирорастворимые витамины

5.3.1. Витамины группы А

Витамины группы А – кристаллы лимонно-желтого цвета с температурой плавления 59–64 °С, растворимы в жирах и многих органических растворителях (ацетоне, хлороформе, бензоле и др.). Витамин А чувствителен к воздействию света, нагреванию и разлагается при взаимодействии с кислородом воздуха. В структуре содержит кольцо β-иона, связанное с цепью изопреноидного типа.

Для витамина А характерно несколько витаминеров, из которых наиболее распространенными считают *витамин А₁* (ретинол, аксерофтон, антиксерофтальмический), выделенный из жира печени морских рыб, и *витамин А₂* (3,4-дегидроретинол), выделенный из жира печени пресноводных рыб.

Витамин А₂ отличается от витамина А₁ добавочной двойной связью между 3 и 4 углеродными атомами кольца β-иона. Витамин А₁ – спирт (*ретинол*) следующего строения:



Соответствующего строения альдегид называется *ретина-лем*, карбоновая кислота – *ретиноевой кислотой*.

Соединения группы витамина А обладают различной биологической активностью. Ретинол необходим для роста и дифференциации клеток эмбриона и развивающегося организма, роста, дифференциации и сохранения функций быстро растущих тканей (хрящ, костная ткань, эпителий кожи и слизистых оболочек и др.). Ретиналь играет важную роль в механизме зрения. Ретиноевая кислота стимулирует рост костей и мягких тканей.

Предполагается, что влияние витамина А на деление и дифференциацию клеток обусловлено его участием в синтезе нуклеиновых кислот, а на рост костной ткани – участием в синтезе гетерополисахарида хондроитинсульфата.

Более подробно выяснена роль витамина А в механизме зрения. Ретиналь в виде *цис*-изомера образует с белком *опсином* хромопротеин *родопсин* (зрительный пурпур) – основное светочувстви-

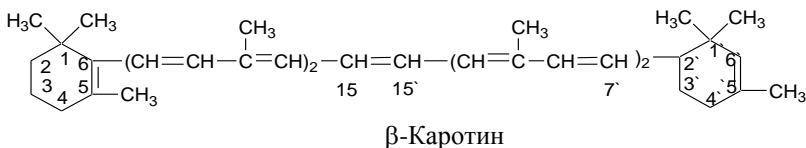
тельное вещество сетчатки (ретины) глаза. Соединение ретиналя с белком происходит в темноте. При действии света родопсин расщепляется на опсин и ретиналь, который одновременно переходит в транс-форму. С этими превращениями связана трансформация энергии световых лучей в зрительное возбуждение.

При недостатке витамина А у человека и животных происходит задержка роста (особенно в молодом возрасте), понижение стойкости к заболеваниям, специфические поражения кожи, слизистых оболочек и глаз. Наиболее ранним и специфическим признаком недостаточности этого витамина является куриная, или ночная, слепота. Она выражается в потере способности различать предметы в сумерках; днем такие больные видят хорошо.

Избыточное употребление витамина А приводит к гипервитаминозу.

Витамин А содержится только в животных продуктах. Наиболее богаты этим витамином печень крупного рогатого скота и свиней, желток яиц, молоко, сметана, сливки, сливочное масло. Особенно много витамина А в жире печени морского окуня, трески, палтуса. В животных тканях витамин А присутствует как в виде свободного спирта, так и в виде эфиров пальмитиновой и других жирных кислот. Это один из немногих витаминов, который может накапливаться в животном организме в количествах, достаточных на несколько месяцев. Его накопление происходит в основном в виде ретинолпальмитата в особых клетках печени.

Источником витамина А для человека являются также фрукты и овощи (плоды шиповника, абрикосы, апельсины, томаты, морковь, шпинат, тыква, салат и др.), в которых содержится не сам витамин А, а его провитамины, называемые *каротинами*. Каротины имеют желтовато-оранжевую окраску. Известны α -, β - и γ -каротины; из них в растениях преобладает β -каротин, имеющий два β -иононовых кольца:



α - и γ -Каротины имеют по одному β -иононовому кольцу.

В организме человека и животных при участии фермента β -каротин-15,15'-диоксигеназы (КФ 1.13.11.21) из β -каротина образуются две молекулы ретиналя. Меньшая часть ретиналя окисляется до ретиноевой кислоты, которая поступает в кровь, а большая часть восстанавливается до ретинола. Последний этерифицируется пальмитиновой или другими высшими жирными кислотами и депонируется в печени. По мере необходимости ретинол в свободном виде поступает из печени в кровь и расходуется на нужды организма.

Взрослому человеку требуется в сутки от 1 до 2,5 мг витамина А или от 2 до 5 мг β -каротина.

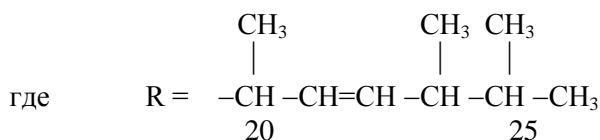
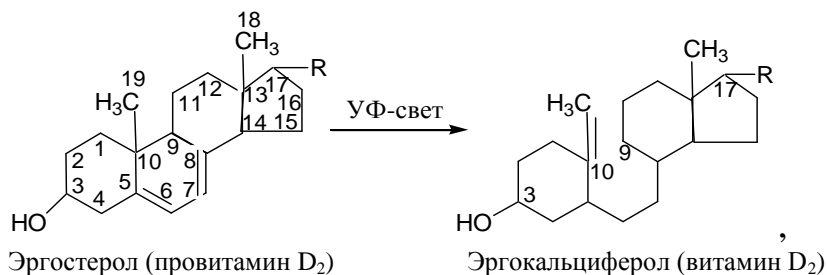
β -Каротин широко используется в качестве красителя пищевых продуктов (жиров, маргарина, сливочного масла и др.). Получают его путем химического синтеза, а также из естественных источников – муки люцерны, моркови, некоторых сортов тыквы и др. Можно получать β -каротин и ферментативным путем.

5.3.2. Витамины группы D (кальциферолы, антирахитичный)

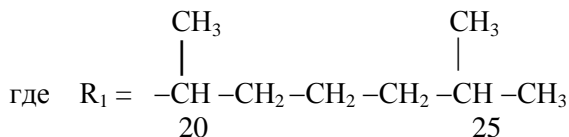
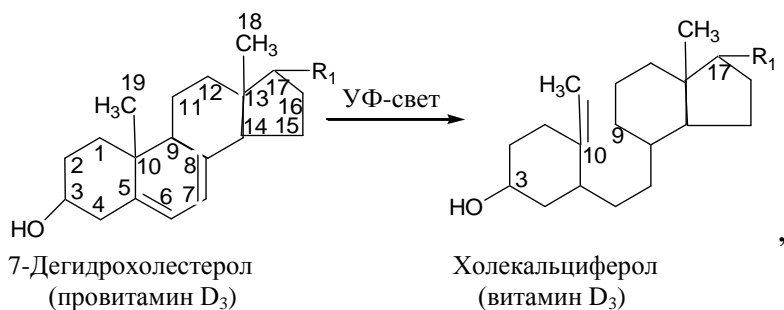
Витамины группы D – бесцветные кристаллы, плавящиеся при температуре 115–116 °С, хорошо растворяются в жирах и растворителях жиров (хлороформе, ацетоне, эфире и др.), быстро разрушаются при действии света, кислорода воздуха и кислот.

Важнейшие среди витаминов группы D – *витамин D₂* (эргокальциферол) и *витамин D₃* (холекальциферол).

В природе для этих витаминов имеются провитамины. Провитамином D₂ является *эргостерол*, содержащийся в больших количествах в дрожжах и плесневых грибах. Провитамином D₃ служит *7-дегидрохолестерол*, содержащийся в составе липидов кожи человека и животных. Каждое из этих соединений содержит кольцо циклопентанпергидрофенантрена, боковую разветвленную алифатическую цепь при C₁₇ и группу ОН при C₃. При облучении 7-дегидрохолестерола и эргостерола УФ-светом (ультрафиолетовым светом) происходит размыкание связи между 9-м и 10-м атомами углерода структуры циклопентанпергидрофенантрена и превращение в соответствующий витамин:



Наиболее богатым источником витамина D₃ для человека является жир печени рыб. В небольших количествах этот витамин содержат сливочное масло, желток яиц, печень животных и птиц. Богатым источником витамина D₂ для человека, животных и птиц являются размельченные и облученные ультрафиолетовым светом дрожжи.



Недостаток витамина D приводит к нарушению фосфорно-кальциевого обмена и процесса образования костей. В результате у

детей развивается *рахит*, у взрослых – *остеопороз* – заболевание, проявляющееся в размягчении и деформации костей из-за недостатка в них солей кальция.

Витамин D выполняет свои специфические функции в обмене кальция и фосфора не в виде кальциферолов, а в форме образующихся из них при участии ферментов активных соединений, важнейшим из которых является 1,25-дигидроксихолекальциферол (витамин D₃, гидроксилированный по C₁ и C₂₅). Гидроксилирование витамина D₃ происходит в два этапа: сначала в печени образуется 25-гидроксихолекальциферол, затем в почках из него образуется 1,25-дигидроксихолекальциферол. Последний переносится в другие органы и ткани, главным образом в тонкий кишечник и кости, где и регулирует обмен кальция и фосфора (всасывание в кишечнике и включение в матрикс костей).

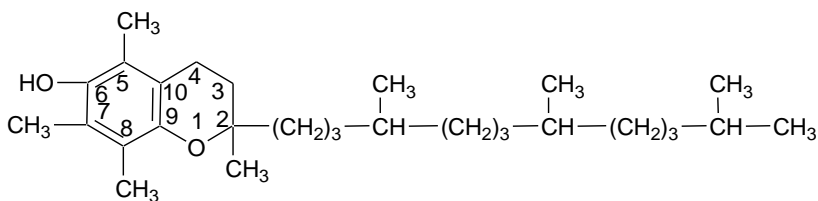
Суточная потребность человека в витамине D колеблется в пределах 10–25 мкг. При достаточном облучении кожи УФ-лучами организму человека и животных не требуются дополнительные источники витамина D. Например, если лицо ребенка ежедневно в течение 30 мин будет находиться под прямыми солнечными лучами, то этого достаточно, чтобы обеспечить минимальную суточную потребность в витамине D.

В дозах, существенно превышающих физиологическую потребность, витамин D вызывает гипервитаминоз, сопровождающийся отложением солей кальция в органах и тканях.

5.3.3. Витамины группы E (токоферолы, антистерильный)

Витамины группы E – слабо-желтого цвета маслянистая жидкость, растворимая в жирах и растворителях жиров. Устойчивы к нагреванию, но быстро разрушаются под воздействием УФ-лучей.

В настоящее время известно восемь соединений, обладающих физиологическими свойствами антистерильного витамина. Важнейшими из них являются α-, β- и γ-токоферолы. В химическом отношении токоферолы представляют собой производные токола. Физиологически наиболее активной формой витамина E является α-токоферол (5,7,8-триметилтокол):



Токоферолы отличаются друг от друга числом и расположением метильных групп в бензольном кольце. Например, у β -токоферола отсутствует метильная группа в положении 7, а у γ -токоферола – в положении 5 (в обоих случаях заменены водородом).

В природе токоферолы синтезируются только растениями. Важнейшими источниками витамина Е для человека являются растительные масла (подсолнечное, хлопковое, соевое, кукурузное и др.), зародыши семян злаков и других растений, салат, капуста, ягоды шиповника; из животных продуктов – жир печени рыб, мясо, сливочное масло, желток яиц, молоко. Этот витамин откладывается во многих органах и тканях человека и животных в таких количествах, что запасов его хватает на несколько месяцев.

Недостаток витамина Е у животных приводит к нарушению половой функции, при этом у самцов происходят изменения в половых железах, приводящие к полной или частичной стерильности, а у самок нарушается развитие плода, что завершается его рассасыванием или абортom. К проявлениям недостаточности витамина Е у животных относятся также специфические поражения мышц, печени и спинного мозга. Изменения в организме человека при Е-авитаминозе изучены недостаточно; человек с пищей постоянно получает нужное количество этого витамина.

Конкретный механизм действия витамина Е на молекулярном уровне пока не установлен. Считают, что, являясь одним из самых сильных природных антиоксидантов, он тормозит процессы перекисного окисления ненасыщенных жирных кислот в липидах мембран. Благодаря этому витамину обеспечивается стабильное функционирование клеточных мембран. Он защищает также чувствительный к действию кислорода витамин А, улучшая тем самым снабжение им организма.

Потребность человека в витамине Е точно не установлена; предполагают, что она должна составлять 20–30 мг в сутки.

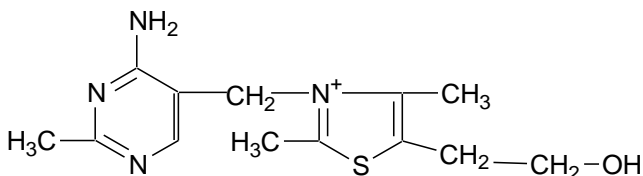
Суточная потребность в витамине К для человека не установлена, поскольку он синтезируется микроорганизмами кишечника. Однако известно, что в случае его дефицита скорость свертывания крови после ежедневного введения 1–5 мг витамина К через некоторое время возвращается к норме.

5.4. Водорастворимые витамины

5.4.1. Витамин В₁ (тиамин, аневрин)

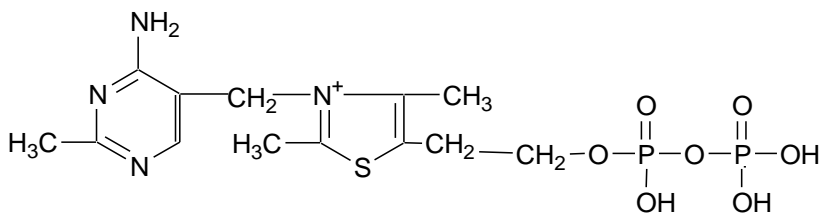
Витамин В₁ в чистом виде представляет собой мелкие, бесцветные, горькие на вкус, хорошо растворимые в воде кристаллы. В кислой среде он стоек к нагреванию и кипячению. При варке пищи полностью переходит в отвар. При нагревании в нейтральной и щелочной среде быстро разрушается. Этим объясняется почти полное отсутствие тиамин в кондитерских мучных изделиях, изготовленных с использованием щелочных разрыхлителей (гидрокарбонат натрия или карбонат аммония).

Молекула тиамин состоит из пиримидинового и тиазолового колец:



Витамин В₁ обнаружен в растительных и животных организмах, причем в растениях и микроорганизмах его значительно больше и находится он в свободной форме. В животных организмах свободный тиамин присутствует в небольших количествах.

Биологически активной формой витамина В₁ в организме является тиаминпирофосфат (ТПФ) (тиаминдифосфат – ТДФ):



ТПФ входит в состав пируватдекарбоксилазы, пируватдегидрогеназы, α -кетоглутаратдегидрогеназы – ферментов, катализирующих декарбоксилирование соответствующих α -кетокислот, образующихся при обмене веществ. В составе фермента транскетолазы он участвует в переносе гликоальдегидного радикала ($\text{CH}_2\text{OH}-\text{C}=\text{O}$) от кетосахаров на альдосахара. ТПФ принимает участие в превращениях и других соединений, например, образовании ацетона.

Источником витамина B_1 для человека являются пшеничные и рисовые отруби, зародыши злаков, хлеб из муки несортového помола, печень, почки, желтки яиц, молоко, сердце. Особенно богаты этим витамином дрожжи. При недостатке витамина B_1 наблюдается неврологическое заболевание «бери-бери», проявляющееся истощением, мышечной слабостью, апатией, полиневритом. В крови накапливается пируват, в эритроцитах падает активность транскетолазы.

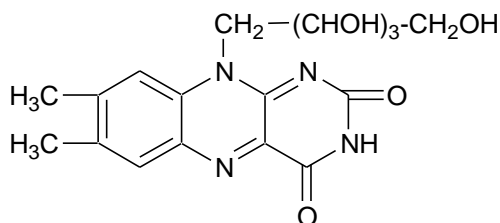
Суточная потребность в витамине B_1 для взрослого человека составляет от 1,3 до 1,9 мг (0,6 мг тиаминa на 1000 ккал суточного пищевого рациона).

5.4.2. Витамин B_2 (рибофлавин)

Витамин B_2 – желтовато-оранжевое кристаллическое вещество, плохо растворимое в воде и спирте, нерастворимое в ацетоне, эфире, хлороформе и бензоле. При действии прямого солнечного света и УФ-лучей он разрушается с образованием биологически неактивных соединений.

Молекула рибофлавина состоит из 6,7-диметилизоаллоксазина (обозначаемого термином «флавин») – желтое красящее

вещество) и присоединенного к нему в положении 9 пятиатомного спирта рибитола:



В свободном виде витамин B_2 обнаружен в молоке, сетчатке глаза, моче. В составе флавиномононуклеотида (ФМН), флавинадениндинуклеотида (ФАД) он обнаружен в большинстве животных и растительных тканей, а также в клетках микроорганизмов.

В составе ФМН или ФАД витамин B_2 выполняет функцию кофактора флавиновых дегидрогеназ, участвующих в окислительно-восстановительных реакциях организма. Многие флавопротеины наряду с витамином B_2 содержат прочно связанные ионы металлов (например, железа, молибдена, кобальта).

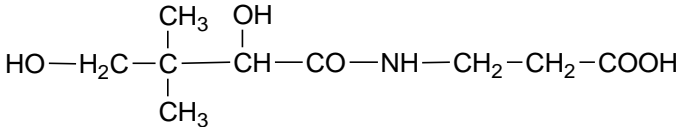
Растения и ряд микроорганизмов способны к синтезу рибофлавина; человек и животные получают его с пищей. Источниками этого витамина для человека являются молоко и молочные продукты, печень, почки, сердце, мясо, рыба, яйца, дрожжи и овощи. Очень мало содержится рибофлавина в пшеничной и ржаной муке высших сортов.

При недостатке витамина B_2 у человека наблюдается потеря веса, остановка роста, выпадение волос, воспаление слизистой оболочки языка, губ, эпителия кожи и другое, а также развивается общая мышечная и сердечная слабость, поражение роговицы. Суточная потребность взрослого человека в витамине B_2 составляет 2–4 мг.

5.4.3. Витамин В₃ (пантотеновая кислота, антидерматитный)

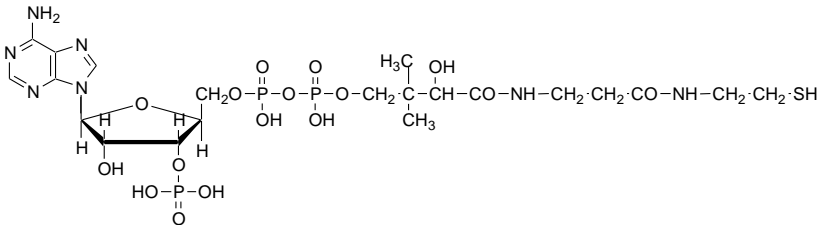
Витамин В₃ – светло-желтая вязкая жидкость, хорошо растворимая в воде, но нерастворимая в хлороформе и бензоле. В свободном виде – нестабильное соединение, поэтому непригоден для практического использования; применяется главным образом в виде солей кальция и натрия.

В состав пантотеновой кислоты входят α,γ-дигидрокси-β,β-диметилмасляная кислота и β-аланин, соединенные между собой пептидной связью:



Пантотеновая кислота широко распространена в природе. Она синтезируется зелеными растениями и многими микроорганизмами: дрожжами, грибами, бактериями, в том числе кишечной микрофлорой млекопитающих. В животных тканях пантотеновая кислота не синтезируется, в организм животных она поступает с пищей.

Биологически активными формами пантотеновой кислоты являются синтезируемые в клетках живых организмов кофермент А (кофермент ацилирования) и ацилпереносящий белок (АПБ-SH). Кофермент А (сокр. HS-CoA) включает в себя аденозин-3',5'-дифосфат, фосфат, пантотеновую кислоту и β-меркаптоэтиламин (цистамин, тиоэтиламин):



Кофермент А (HS-CoA)

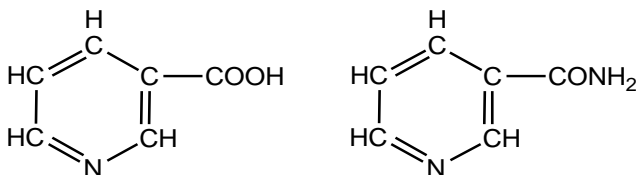
стемы. Суточная потребность человека в пантотеновой кислоте составляет 10 мг.

Витамин В₃ служит компонентом косметических средств.

5.4.4. Витамин В₅ (витамин РР, ниацин, никотиновая кислота, никотинамид, антипеллагрический)

Никотиновая кислота – белое кристаллическое вещество слабосолимого вкуса, умеренно растворимое в воде, а никотинамид – белое кристаллическое вещество, хорошо (1:1) растворимое в воде. Оба соединения в виде порошка и в водных растворах устойчивы к действию кислорода воздуха, света и повышенных температур.

По химическому строению никотиновая кислота является β-пиридинкарбоновой кислотой, а никотинамид – амидом β-пиридинкарбоновой кислоты:



Из этих соединений собственно витамином РР является никотинамид; никотиновую кислоту следует рассматривать как провитамин никотинамида. Превращение никотиновой кислоты в никотинамид происходит в организме в процессе обмена веществ.

Растения и большинство микроорганизмов синтезируют никотиновую кислоту. Интенсивный синтез ее в растениях начинается с прорастанием семян. В организме человека и животных некоторое количество никотиновой кислоты синтезируется из аминокислоты триптофана. Этот синтез протекает при участии витамина В₆.

Биохимическая роль никотиновой кислоты состоит в том, что в виде никотинамида она входит в состав коферментов – никотинамидадениндинуклеотида (НАД⁺) и никотинамидадениндинуклеотидфосфата (НАДФ⁺) – пиридиновых (пиридинзависимых) дегидрогеназ, которые участвуют в окислительно-восстановительных реакциях, протекающих в процессе брожения, дыхания и фотосинтеза.

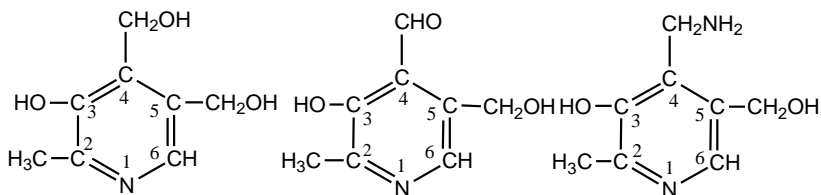
Никотиновая кислота и никотинамид широко распространены в растительных и животных объектах. Для человека источником витамина РР являются хлеб, крупы, картофель, морковь, мясо, рыба, печень, почки, сердце и другие продукты. Большое количество этого витамина содержится в рисовых и пшеничных отрубях и дрожжах. При недостатке витамина В₅ развивается болезненное состояние, называемое пеллагра (в переводе с итал. – жесткая, шершавая кожа). Наиболее характерными признаками этого заболевания являются поражения кожи (дерматиты), желудочно-кишечного тракта и психические расстройства (развивается слабоумие).

Суточная потребность взрослого человека в витамине В₅ составляет 15–25 мг.

5.4.5. Витамин В₆ (пиридоксин, адермин)

Витамин В₆ – белое кристаллическое вещество, хорошо растворимое в воде и нерастворимое в эфире и хлороформе. Растворы витамина В₆ устойчивы к нагреванию и кислороду воздуха, но чувствительны к влиянию света.

По своей химической природе витамин В₆ является производным 2-метилпиридина. Включает в себя три соединения, различающиеся лишь функциональной группой в 4-м положении: *пиридоксин*, *пиридоксаль* и *пиридоксамин*:

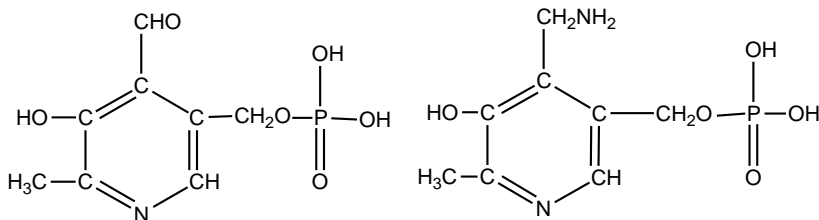


Часто под термином «пиридоксин» понимают смесь всех трех соединений.

Из этих соединений пиридоксин можно рассматривать как провитамин, так как он проявляет свои витаминные свойства не непосредственно, а превращаясь в организме в пиридоксаль или пиридоксамин.

Витамин В₆ широко распространен в природе. Он синтезируется растениями и многими видами микроорганизмов, в том числе и микрофлорой кишечника человека и животных. Однако этот синтез недостаточен для полного обеспечения витамином организма человека.

Физиологическая роль витамина В₆ в обмене веществ заключается в том, что в виде пиридоксальфосфата и его аминной формы – пиридоксаминфосфата этот витамин играет важную роль в обмене аминокислот:



Пиридоксальфосфат

Пиридоксаминфосфат

В частности, пиридоксальфосфат является составной частью ферментов, катализирующих декарбоксилирование ряда аминокислот, а также ферментов, катализирующих переаминирование α-аминокислот с α-кетокислотами. В процессе переаминирования аминокислота от α-аминокислоты сначала переносится на связанный с ферментом пиридоксальфосфат, который, превратившись в пиридоксаминфосфат, передает аминокислотную группу α-кетокислоте и снова возвращается в исходную пиридоксальфосфатную форму, т.е. происходит взаимопревращение пиридоксальфосфата и пиридоксаминфосфата.

Установлена также коферментная роль пиридоксальфосфата и в других ферментативных реакциях превращения аминокислот (обратимое превращение L- и D-форм отдельных аминокислот, замещение β-оксигруппы серина тиольной, тиометильной, индольной группами с образованием других аминокислот, расщепление треонина по C_α-C_β-связи с образованием глицина и ацетальдегида и др.). Предполагается участие пиридоксальфосфата в обмене липидов.

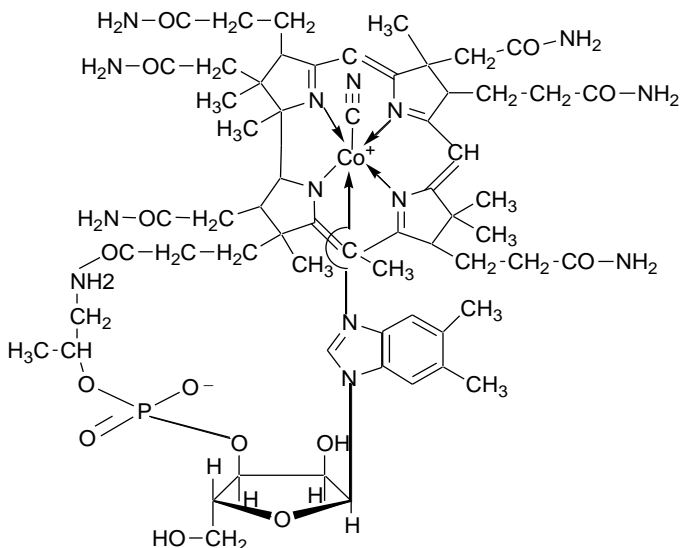
Источниками витамина В₆ для человека являются хлеб, горох, фасоль, картофель, мясо, печень, почки, рыба, дрожжи и др. Недостаточность витамина В₆ сопровождается нарушением кроветворения, возникновением дерматитов (воспаление кожи), не поддающихся лечению никотиновой кислотой, остановкой роста.

Суточная потребность в витамине В₆ для человека точно не установлена. Считают, что взрослый человек должен получать в сутки около 2 мг витамина В₆.

5.4.6. Витамин В₁₂ (кобаламин, антианемический)

Витамин В₁₂ – темно-красный кристаллический порошок, растворимый в воде, но нерастворимый в бензоле, эфире, хлороформе, ацетоне. На свету он теряет активность, но в темноте может храниться долго.

Молекула витамина В₁₂ состоит из двух главных частей: замещенного по многим положениям корринового ядра, состоящего из четырех восстановленных пиррольных колец, и нуклеотида – 5,6-диметилбензимидазолрибонуклеотида. В центре корринового ядра находится кобальт (III), соединенный с атомом азота каждого из пиррольных колец. Кобальтсодержащая часть молекулы витамина называется *циклической корриновой системой* и представляет собой планарную (плоскостную) группу; перпендикулярно по отношению к ней расположен нуклеотидный лиганд – 5,6-диметилбезимидазолрибонуклеотид. Этот лиганд присоединен через азот 5,6-диметилбензимидазола к атому кобальта, а через остаток фосфорной кислоты к одной из замещающих групп кольца D коррина. Многие из замещающих групп корринового ядра имеют на свободном конце СО–NH₂-группу:



Наличие кобальта и большого числа аминных групп позволило назвать этот витамин *кобаламином*. Витамин B_{12} часто называют цианкобаламином. Это связано с тем, что при выделении его из биологических объектов используют цианид-ион, который и функционирует в качестве лиганда кобальта.

Витамин B_{12} синтезируется исключительно микроорганизмами, которые широко распространены в природе: почве, прудовой воде и море, а также в пищеварительном тракте человека и животных. Синтез витамина B_{12} микроорганизмами может осуществляться только при достаточном количестве кобальта.

Механизм действия витамина B_{12} связан с участием его коферментных форм (B_{12} -коферменты или кобамидные коферменты) в ферментативных реакциях. Среди кобамидных коферментов выделены метилкобаламин (CN-группа замещена на CH_3 -группу) и 5^1 -дезоксиаденозилкобаламин (CN-группа замещена на 5^1 -дезоксиаденозильную группу). Превращение витамина B_{12} в кобамидные коферменты осуществляется в организме при участии специфических ферментов. Эти коферменты, соединяясь с различными апоферментами, образуют семейство кобамидных ферментов, катализирующих ряд реакций азотистого, углеводного, нуклеинового и липидного обмена. Например, метилкобаламин в каче-

стве кофермента участвует в реакциях трансметилирования. К числу этих реакций относятся синтез метионина, образование метана, синтез ацетата из CO_2 . 5'-Дезоксиаденозилкобаламин участвует в различных реакциях, в том числе в реакциях образования новой углерод-водородной связи. Сюда относятся ферментативные реакции взаимопревращения глутаминовой и β -метиласпарагиновой кислоты, обратимого превращения сукцинил-КоА и метилмалонил-КоА, восстановления рибонуклеотидов до дезоксирибонуклеотидов и др. Реакция превращения сукцинил-КоА в метилмалонил-КоА имеет важное значение в пропионовокислом брожении.

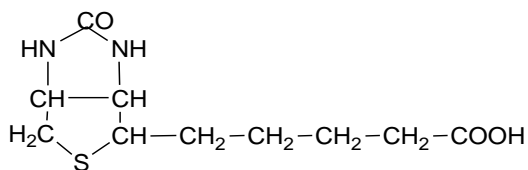
Основными источниками витамина B_{12} в питании человека являются мясо, говяжья печень, почки, рыба, молоко, яйца и сыры, изготовленные с участием пропионовокислых бактерий. Недостаток витамина B_{12} приводит к развитию злокачественной анемии (малокровие) – тяжелого заболевания, при котором наблюдается дефицит гемоглобина и эритроцитов, серьезное нарушение деятельности нервной системы и резкое снижение кислотности желудочного сока. Это заболевание может развиваться как от недостатка витамина B_{12} в пище, так и от нарушения всасывания его в кишечнике вследствие нарушения секреции определенного гликопротеина в желудке. Этот гликопротеин, называемый *внутренним фактором*, необходим для всасывания витамина B_{12} .

Суточная потребность в витамине B_{12} для взрослого человека составляет 2,5–5 мкг.

5.4.7. Витамин Н (биотин, антисеборейный)

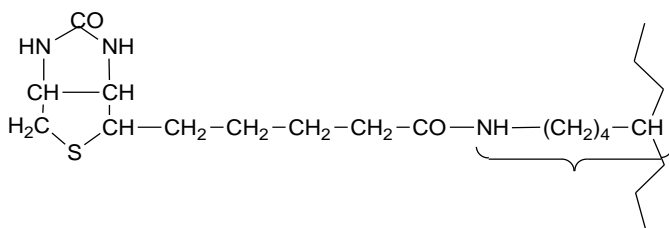
Витамин Н – белый кристаллический порошок. Труднорастворимый в воде (20 мг в 100 мл при 25 °С), легче растворимый в воде при нагревании и хорошо растворимый в слабых растворах щелочей. Биотин устойчив к нагреванию при 100 °С, действию воздуха и света. При действии УФ-света он постепенно разрушается.

В основе строения биотина лежит тиофеновое кольцо, к которому присоединены остатки мочевины и валериановой кислоты:



Биотин широко распространен в природе. Он обнаружен во всех животных и растительных тканях и у микроорганизмов. При этом в овощах, фруктах, плодах, молоке, рисовых отрубях он присутствует преимущественно в свободной форме, а в тканях животных, семенах растений и дрожжах – в связанной с белком форме. Биосинтез биотина осуществляют все зеленые растения, а также ряд микроорганизмов, в том числе населяющих пищеварительный тракт человека и животных.

Биохимическая функция биотина состоит в том, что он является кофактором ряда ферментов, катализирующих обратимые реакции карбоксилирования и транскарбоксилирования. В биотиновых ферментах (содержащих в качестве кофактора биотин) молекула биотина ковалентно присоединена к ϵ -NH₂-группе остатка лизина, находящегося в активном центре фермента.



Молекула биотина

Остаток лизина
Полипептидная цепь фермента

Этот биотиниллизинный остаток, называемый *биоцитином*, может быть выделен из биотиновых ферментов после их кислотного или ферментативного гидролиза. Биотин, связанный с молекулой белка-фермента, способен присоединять CO₂(HCO₃⁻) по N-1¹-биотина с образованием CO₂-биотин-ферментного комплекса («активированная угольная кислота») и переносить ее на подходящий субстрат с освобождением биотин-ферментного комплекса.

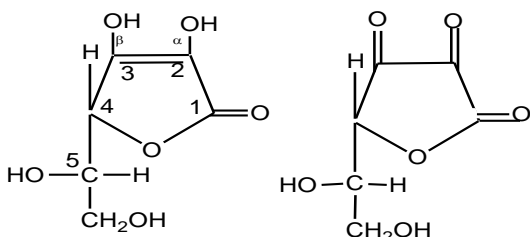
В качестве примера реакций карбоксилирования можно привести реакции, катализируемые пируваткарбоксилазой и ацетил-КоА-карбоксилазой; примером реакции транскарбоксилирования служит реакция, катализируемая ферментом метилмалонил-КоА-карбоксилтрансферазой. Эти реакции имеют важное значение в биосинтезе жирных кислот, аминокислот, углеводов, нуклеиновых кислот и др.

В питании человека важными источниками биотина являются печень, почки, мясо, дрожжи, желток яиц, молоко, шампиньоны и некоторые овощи. Для человека и животных имеет важное значение биотин, синтезируемый микрофлорой пищеварительного тракта. Недостаток биотина приводит к воспалению кожных покровов, выпадению волос, усиленному выделению жира сальными железами кожи (себорея). Недостаточность биотина может развиться при скормливание животным в больших количествах сырых яиц. Это объясняется тем, что в яичном белке содержится гликопротеин – *авидин*, который очень прочно связывает биотин, что препятствует всасыванию этого витамина в кишечнике. Суточная потребность взрослого человека в биотине составляет приблизительно 150–200 мкг.

5.4.8. Витамин С (аскорбиновая кислота, антискорбутный)

Витамин С – бесцветные кристаллы кислого вкуса, хорошо растворимые в воде. Кислый характер этого витамина обусловлен наличием двух енольных гидроксильных групп, способных к диссоциации с отщеплением ионов водорода (в основном за счет гидроксильной группы в 3-м положении). В сухом кристаллическом состоянии *L*-аскорбиновая кислота устойчива, но во влажном состоянии или в растворах, особенно в присутствии воздуха, света и следов меди или железа, легко разрушается.

Витамин С находится в животных и растительных тканях как в виде *L*-аскорбиновой кислоты (γ -лактон 2,3-дегидро-*L*-гулоновой кислоты), так и в виде ее окисленной формы – *L*-дегидроаскорбиновой кислоты (γ -лактон 2,3-дикето-*L*-гулоновой кислоты):



L-аскорбиновая кислота

L-дегидроаскорбиновая кислота

Оба соединения обладают физиологической активностью.

Аскорбиновая кислота – широко распространенный витамин, который синтезируется растениями и большей частью видов животных, кроме человека, обезьян и морских свинок. Семена высших растений лишены аскорбиновой кислоты, но она появляется в них с первых дней прорастания. Микроорганизмы не содержат аскорбиновой кислоты и не нуждаются в ней. Биосинтез аскорбиновой кислоты осуществляется из D-глюкозы через ряд промежуточных продуктов.

Одним из важных свойств аскорбиновой кислоты является способность окисляться с образованием дегидроаскорбиновой кислоты, которая при восстановлении снова превращается в аскорбиновую кислоту. Окисление аскорбиновой кислоты до дегидроаскорбиновой кислоты происходит в растениях при участии фермента аскорбатоксидазы, а в животных тканях при помощи цитохромной системы. Дегидроаскорбиновая кислота является нестойким соединением, и если не происходит ее быстрого восстановления, то она легко разрушается. Восстановление дегидроаскорбиновой кислоты в аскорбиновую кислоту происходит при участии фермента глутатиондегидрогеназы. Донором водорода для этой реакции служит восстановленный глутатион.

Участие ферментов в превращениях окисленной и восстановленной форм аскорбиновой кислоты позволяет предположить, что она может служить биологическим переносчиком водорода, однако значение ее в этом процессе еще не вполне ясно. Имеются предположения, что аскорбиновая кислота играет роль кофактора гидроксирования пролина и лизина при синтезе белка соединительной ткани коллагена, играющего важную роль в построении опорных тканей и стенок кровеносных сосудов, и, возможно, в

других реакциях гидроксирования. Получены данные об участии аскорбиновой кислоты в предохранении от окисления SH-групп белков и ферментов. Эти действия аскорбиновой кислоты нельзя считать специфическими; они связаны с ее окислительно-восстановительными свойствами.

Источником витамина С для человека служат овощи, фрукты и ягоды. Много его содержат плоды шиповника, черная смородина, облепиха, рябина, хрен, красный перец, укроп, салат, зеленый лук, томаты. К важным повседневным источникам витамина С относятся картофель и капуста. Из непищевых источников богаты витамином С листья черной смородины, хвоя ели и сосны, экстракты из которых могут полностью удовлетворить потребность организма человека в этом витамине.

В некоторых растениях (различные виды капусты, редька, рапс, редиска) наряду со свободной аскорбиновой кислотой содержится ее связанная форма – *аскорбиген* – вещество, обладающее менее чем 5%-ной активностью витамина С. По своей структуре аскорбиген – индольное производное аскорбиновой кислоты.

В процессе хранения плодов и овощей, при варке, сушке и консервировании витамин С частично разрушается в результате окисления, ускоряемого следами железа или меди, и особенно сильно – окислительными ферментами, которые интенсивно проявляют свое действие при очистке и измельчении овощей, при лежании их в нарезанном виде, а также при закладке для варки в холодную воду и при медленном повышении температуры до закипания. Для сохранения витамина С овощи нужно варить, опуская сразу в кипящую воду, или на пару. Перед сушкой нарезанные плоды и овощи подвергают бланшировке (быстрая обработка кипящей водой или паром) или сульфитации (обработка сернистым газом).

При недостатке витамина С у человека развивается цинга. Болезнь сопровождается появлением мелких кровоизлияний под кожу и в кожу, кровоточивостью десен, расшатыванием и выпадением зубов, структурными изменениями хрящей и костей.

Суточная потребность в витамине С для человека составляет 100–120 мг.

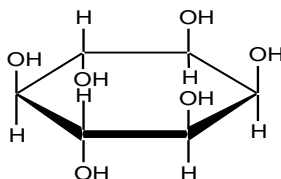
Аскорбиновая кислота имеет большое значение как антиоксидант для сохранности пищевых продуктов. Ее используют для

стабилизации внешнего вида картофеля, мяса и мясных изделий, а также для стабилизации пива, вина, фруктовых соков и для приготовления напитков. Кроме того, аскорбиновая кислота является хорошим хлебопекарным улучшителем. В небольших количествах (2–5 г на 100 кг муки) она заметно улучшает хлебопекарные качества пшеничной муки; хлеб получается более пышным, с лучшей пористостью и структурой мякиша.

5.5. Витаминоподобные вещества

В группу витаминоподобных веществ объединены разнообразные химические вещества, которые обладают витаминными свойствами, но отличаются от витаминов тем, что их дефицит у человека и животных не вызывает специфической недостаточности (признаков заболевания), и тем, что они не являются строго обязательными пищевыми факторами; отдельные из этих соединений входят в структуру тканей.

Инозит (гексаоксициклогексан) представляет собой кристаллическое вещество, хорошо растворимое в воде. Среди ряда изомеров инозита физиологической активностью обладает лишь мезо-инозит (мио-инозит):



Недостаток инозита в рационе крыс и мышей сопровождается остановкой роста и выпадением шерсти. Его витаминные свойства для других животных и человека окончательно не установлены.

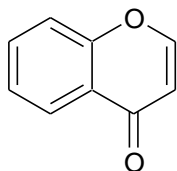
Инозит является важным фактором для роста культурных рас дрожжей, широко распространен в животных и растительных тканях. В животных тканях он присутствует главным образом в составе липида фосфатидинозита. В растениях, соединяясь с шестью молекулами ортофосфорной кислоты, он образует инозитфосфорную кислоту, кальциево-магниевая соль которой назы-

вается *фитином*. Особенно много фитина содержится в отрубях и хлопчатниковом жмыхе, из которого его получают заводским путем. В медицине фитин используют как лекарственное вещество.

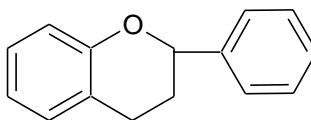
Пищевыми источниками инозита являются мясо, мозг, печень, молоко, хлеб из муки несортového помола, овощи, фрукты, грибы.

Инозит входит в состав питательных жидкостей для волос.

Витамин Р (биофлавоноиды, витамин проницаемости, рутин, цитрин). Это группа биологически активных флавоноидов, являющихся производными хромана или флавана:



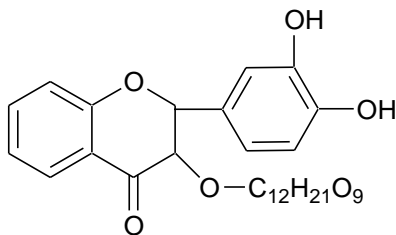
Хроман



Флаван

Флавоноиды (особенно в сочетании с аскорбиновой кислотой) обладают способностью уменьшать проницаемость кровеносных капилляров. Кроме того, они обладают антиоксидантными свойствами и, в частности, предохраняют от окисления аскорбиновую кислоту и гормон адреналин. Биологическая активность флавоноидов носит фармакодинамический характер (действуют по типу лекарственных веществ), поэтому их относят к витаминоподобным веществам.

Из флавоноидов наибольшей биологической активностью обладают представители флавононов (гесперитин и его гликозид гесперидин), флавонолов (кверцетин и его гликозид рутин), а также катехины, кумарины и другие полифенольные соединения. Для примера приводим формулу рутина, выделенного из зеленой массы гречихи:

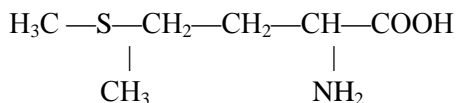


Дисахарид рутиноза

Флавоноиды содержатся в растениях, особенно их много в плодах шиповника, лимонах и других цитрусовых, ягодах черной смородины, красной и черноплодной рябины, овощах, зеленых листьях чая. Многие из флавоноидов являются пигментами, придающими окраску цветам и плодам растений.

Препараты флавоноидов – кристаллические вещества желтого или оранжевого цвета, плохо растворимые в воде, но хорошо растворяются в уксусной кислоте, спирте и в разбавленных щелочных растворах. Применяются как капилляроукрепляющее средство, красители, пищевые антиоксиданты и дубильные вещества.

Витамин U (S-метилметионин, противоязвенный фактор). По химической природе представляет собой метилированное производное аминокислоты метионина:



Витамин U содержится в овощах, особенно его много в капустном соке; разрушается при варке. Оказывает положительное действие при лечении язвы желудка и двенадцатиперстной кишки. В организме человека не синтезируется.

Наряду с описанными, к витаминоподобным веществам относят холин, убихинон (кофермент Q), а также кислоты: липоевую, пангамовую (витамин B₁₅), парааминобензойную, оротовую, линолевою, линоленовую, арахидоновую (три последние кислоты в сочетании называют витамином F).

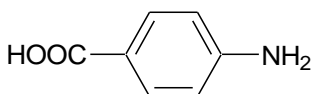
5.6. Антивитамины

К антивитаминам относят органические соединения, обладающие свойством подавлять биологическую активность витаминов.

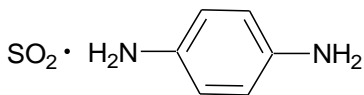
По механизму действия антивитамины делят на две группы.

1. Вещества, выключают витамины из процессов обмена путем их связывания или разрушения. Например, белок яиц авидин связывает биотин и препятствует его всасыванию в кишечнике. Это приводит к развитию признаков недостаточности витамина Н. Разрушение витаминов может происходить при каталитическом действии ферментов. Так, фермент аскорбатоксидаза окисляет аскорбиновую кислоту, тиаминазы I и тиаминазы II вызывают распад тиамина.

2. Соединения, конкурирующие с витаминами в соответствующих биохимических реакциях. В эту группу входят вещества, близкие по строению к конкретному витамину (конкуренты витаминов). Типичным примером может служить стрептоцид и аналогичные ему сульфаниламиды, являющиеся конкурентами парааминобензойной кислоты:



Парааминобензойная кислота



Стрептоцид

Парааминобензойная кислота служит обязательным фактором роста некоторых микроорганизмов. При применении стрептоцида и его аналоги включаются в состав ферментов вместо парааминобензойной кислоты. Это приводит к образованию неактивного ферментного комплекса и угнетению жизнедеятельности микроорганизмов.

К настоящему времени найдены структурные аналоги для никотиновой, пантотеновой и фолиевой кислот, рибофлавина, витаминов Е, К, С и т.д.

Большинство антивитаминов – структурных аналогов витаминов – применяются как лекарственные средства со строго направленным действием на определенные биохимические и физиологические процессы.

Глава 6. УГЛЕВОДЫ

Углеводами называют альдегиды и кетоны многоатомных спиртов и полимеры этих соединений. Углеводы подразделяются на моносахариды (монозы), олигосахариды (полиозы I порядка) и полисахариды (полиозы II порядка).

К *моносахаридам* относят углеводы и их производные, которые не способны расщепляться без потери основных углеводных свойств.

Олигосахариды (полисахариды I порядка) гидролизуются с образованием небольшого числа моносахаридов (от 2 до 10).

Полисахариды II порядка представляют собой высокомолекулярные полимеры моносахаридов и их производных с различным составом и строением, число остатков моносахаридных единиц в которых от 10 до нескольких тысяч.

6.1. Моносахариды

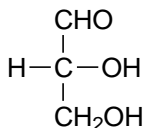
Моносахариды, или *простые сахара*, – это бесцветные, сладкого вкуса кристаллические вещества, легко растворимые в воде, но нерастворимые в неполярных (органических) растворителях.

В основе строения моносахаридов лежит неразветвленная цепочка углеродных атомов, соединенных между собой одинарными связями. Один из атомов углерода этой цепочки соединен двойной связью с атомом кислорода, образуя карбонильную группу; ко всем остальным атомам углерода присоединено наряду с водородом по одной гидроксильной группе. Если карбонильная группа занимает терминальное (концевое) положение, то моносахарид является альдегидом и называется *альдозой*; если карбонильная группа находится в другом положении, обычно при втором атоме углерода, то моносахарид является кетоном и называется *кетозой*. Нумерацию углеродной цепочки в альдозах начинают с карбонильной группы, а в кетозах – от того конца, к которому ближе карбонильная группа.

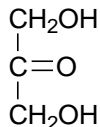
Таким образом, моносахариды представляют собой полигидроксиальдегиды или полигидроксикетоны.

Большинство моносахаридов имеет эмпирическую формулу $(\text{C}_n\text{H}_{2n}\text{O})_n$, где n равно или больше трех. В зависимости от числа

атомов углерода моносахариды делят на триозы ($n = 3$), тетрозы ($n = 4$), пентозы ($n = 5$), гексозы ($n = 6$) и т.д. Каждый из этих моносахаридов может существовать в форме альдозы и кетозы, образуя соответственно альдотриозы и кетотриозы, альдотетрозы и кетотетрозы и т.д. Например:



Глицеральдегид (альдотриоза)



Дигидроксиацетон (кетотриоза)

6.1.1. Химические свойства моносахаридов

В химии моносахаридов преобладающими являются реакции по карбонильной, спиртовой и полуацетальной $-\text{OH}$ (имеющим место в циклических формулах манноз) группам. В результате этих реакций образуются соединения, представляющие интерес с биохимической точки зрения.

Среди продуктов окисления альдоз выделяют три типа сахарных кислот: альдоновые, альдаровые и уроновые.

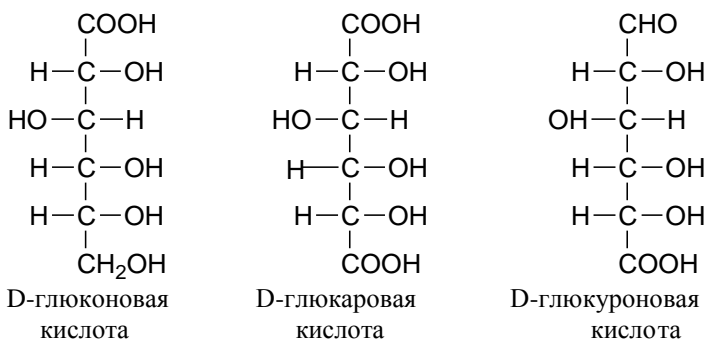
В присутствии слабых окислителей (например, бромная вода) или под действием специфических ферментов альдозы окисляются по альдегидной группе с образованием одноосновных карбоновых кислот, называемых *альдоновыми* кислотами (например, из глюкозы – глюконовая, из галактозы – галактоновая). Фосфорилированная форма глюконовой кислоты (6-фосфоглюконат) играет важную роль в углеводном обмене.

При применении более сильных окислителей (например, азотная кислота) окисляются как альдегидная группа, так и первичная (у последнего атома углерода) спиртовая группа, что приводит к образованию *альдаровых* кислот. Продукт такого окисления глюкозы называют глюкаровой (сахарной) кислотой, а галактозы – галактаровой (слизевой) кислотой. Альдаровые кислоты большого биологического значения не имеют.

Кислоты, образующиеся из альдоз при окислении только первичной спиртовой группы, называют *уроновыми*. Уроновая кислота, образовавшаяся из глюкозы, называется глюкуроновой

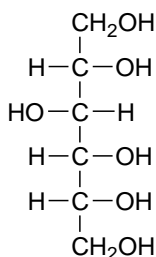
кислотой, из галактозы – галактуроновой, из маннозы – маннуроновой. Уроновые кислоты часто встречаются в природе в качестве компонентов полисахаридов, а также как промежуточные соединения в углеводном обмене.

Формулы трех видов кислот (глюконовой, глюкаровой и глюкуроновой), образовавшихся из глюкозы:

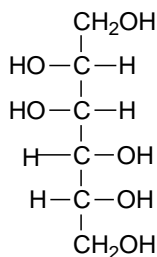


Ациклические (альдегидные) формы моносахаридов в щелочной среде легко вступают в реакции с такими окислителями, как феррицианид, ионы двухвалентной меди, ионы серебра, ионы висмута. В этих реакциях окислитель восстанавливается, а карбонильная группа сахара окисляется. Моносахариды и другие сахара, обладающие восстановительными свойствами, называют *восстанавливающими* (редуцирующими) сахарами. Восстанавливающие свойства сахаров используют для их обнаружения и количественного определения. Измеряя количество окислителя, восстановленное раствором сахара, можно вычислить массовую долю сахара в растворе. Для обнаружения и количественного определения восстанавливающих сахаров наиболее широко используют фелингову жидкость (реактив Фелинга), представляющую собой щелочной раствор, в котором ионы двухвалентной меди находятся в виде комплексного соединения с тартратами.

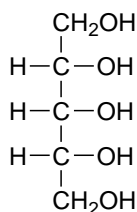
Восстановление карбонильной группы моносахаридов некоторыми химическими веществами, например, водородом, а также при участии специфических ферментов приводит к образованию многоатомных спиртов, называемых *сахароспиртами*. Глюкоза, например, дает сахароспирт *сорбит*, манноза – *маннит*, рибоза – *рибит*, ксилоза – *ксилит*:



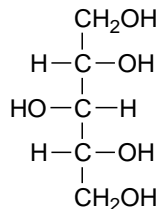
D-сорбит



D-маннит



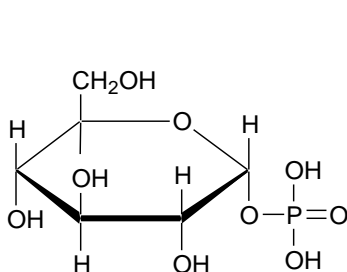
D-рибит



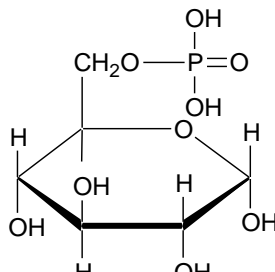
D-ксилит

Спирты часто встречаются в плодах, ягодах, овощах, соке древесных растений, а также в грибах и водорослях.

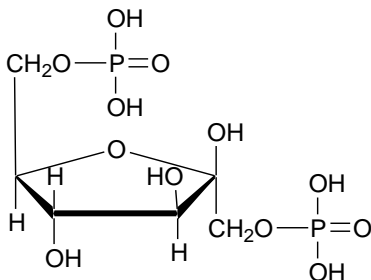
Одним из свойств моносахаридов является способность образовывать сложные эфиры с фосфорной кислотой (сахарофосфаты). Некоторые из эфиров содержатся в клетках живых объектов и являются промежуточными продуктами обмена веществ. Например, важное значение имеют глюкозо-1-фосфат, глюкозо-6-фосфат, фруктозо-1,6-дифосфат, рибулозо-5-фосфат и многие другие:



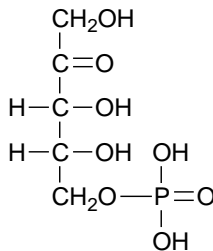
Глюкозо-1-фосфат



Глюкозо-6-фосфат



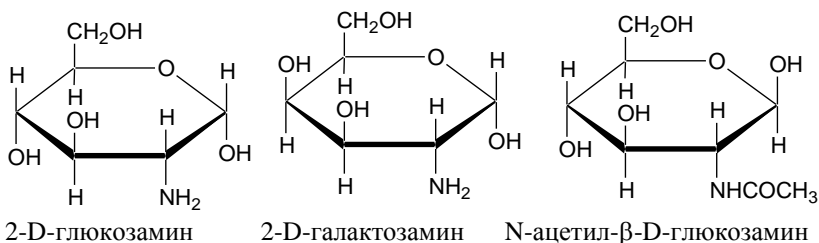
Фруктозо-1,6-дифосфат



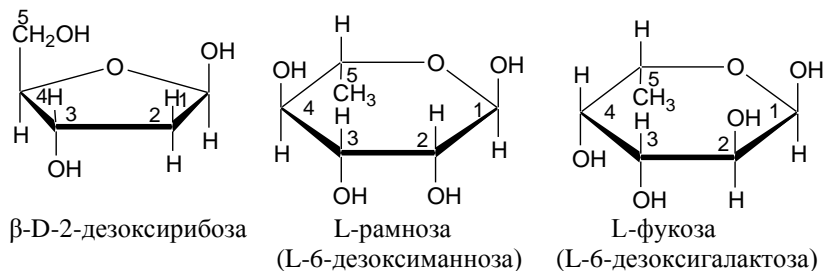
Рибулозо-5-фосфат

Введение в молекулу моносахарида остатка фосфорной кислоты (фосфорилирование) является первым этапом как к распаду простых углеводов, так и биосинтезу из них сложных углеводов. Таким образом, фосфорные эфиры моносахаридов являются их активными формами, обеспечивая их вступление в биохимические процессы.

Важное значение в биохимии имеют производные моносахаридов – *аминосахара* и *дезоксисахара*. Среди аминосахаров важную роль играют 2-D-глюкозамин и 2-D-галактозамин. Они, чаще в виде N-ацетильных производных, входят в состав полисахаридов, называемых *гликозаминогликанами*:

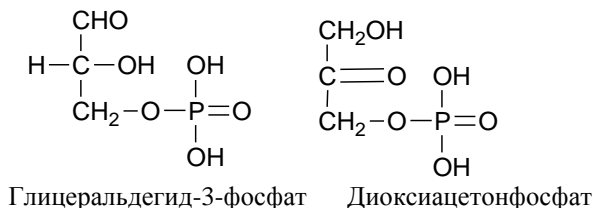


К наиболее известным дезоксисахарам относятся D-2-дезоксирибоза, рамноза и фукоза. Два последних дезоксисахара имеют L-конфигурацию и являются важными компонентами полисахаридов растений и бактериальных клеток. L-фукоза обнаружена также и в некоторых олигосахаридных фрагментах белков молока:



6.1.2. Отдельные представители моносахаридов

Триозы ($C_3H_6O_3$). Представители триоз содержатся в организмах в виде фосфорных эфиров – глицеральдегид-3-фосфата (ГАФ) и диоксиацетонфосфата (ДГАФ), образующихся в качестве промежуточных продуктов обмена углеводов, фотосинтеза и хемосинтеза:



Тетрозы ($C_4H_8O_4$). Из этой группы моносахаридов назовем D-эритрозу, которая в виде эритрозо-4-фосфата образуется в качестве промежуточного продукта при фотосинтезе и в пентозофосфатном цикле окисления глюкозы.

Пентозы ($C_5H_{10}O_5$). Представители пентоз в свободном виде почти не встречаются, а входят в состав полисахаридов, называемых *пентозанами*, и ряда других органических соединений; фосфорные эфиры пентоз образуются в качестве промежуточных продуктов при обмене углеводов и фотосинтезе. Пентозаны являются компонентами клеточных стенок растений.

Наиболее распространенными представителями пентоз являются арабиноза, ксилоза, рибоза, дезоксирибоза.

L-арабиноза. Эта форма арабинозы является наиболее распространенной в природе. Входит в состав гемицеллюлоз, пентозанов (например, арабанов), пектиновых веществ, растительных слизей, гумми, гликозидов. В свободном виде обнаружена в древесине хвойных пород. Человек и животные L-арабинозу не усваивают; дрожжи ее не сбраживают. Получают L-арабинозу путем кислотного гидролиза вишневого клея (наплыв на стволах и ветвях вишни) или свекловичного жома.

D-ксилоза, или древесный сахар, широко распространена в растениях в виде пентозанов, называемых ксиланами. Много ксиланов содержится в древесине, соломе, отрубях, оболочках семян подсолнечника, кукурузных кочерыжках. В свободном виде D-ксилоза

обнаружена в растениях в небольших количествах. В значительных количествах ее получают при кислотном гидролизе кукурузных кочерыжек. Организмом человека и животных D-ксилоза не усваивается; обычными дрожжами не сбраживается. Получаемый при восстановлении ксилозы спирт ксилит применяют вместо сахарозы в питании больных диабетом и ожирением (сахарозаменитель).

У человека и животных ксилоза входит в состав некоторых гликопротеинов.

D-рибоза в фуранозной форме входит в состав рибонуклеиновых кислот, свободных нуклеотидов и их производных, некоторых коферментов (например, НАД⁺ и ФАД). D-2-дезоксирибоза участвует в построении дезоксирибонуклеиновой кислоты. Продукт восстановления рибозы – спирт рибит – является составной частью витамина В₂, ФМН и ФАД.

Гексозы (С₆Н₁₂О₆) – важнейшие природные моносахариды. Многие из гексоз играют огромную роль в жизни как растительных, так и животных организмов.

D-глюкоза (декстроза, виноградный сахар) в свободном виде содержится в семенах, многих плодах, овощах и ягодах, зеленых частях растений, меде, крови человека и животных. В связанном виде входит в состав олиго- и полисахаридов (сахароза, лактоза, рафиноза, крахмал, гликоген, клетчатка и др.), многих гликозидов. Легко сбраживается дрожжами, является важнейшим источником энергии для организма в процессе его жизнедеятельности. Получают глюкозу кислотным или ферментативным гидролизом крахмала или клетчатки. Продукт восстановления глюкозы – спирт сорбит – найден в ягодах рябины, плодах вишен, слив, яблок и груш.

D-галактоза входит в состав некоторых олигосахаридов (лактоза, мелибиоза, рафиноза), ряда полисахаридов (различные гумми и слизи, агар-агар, галактаны, галактоарабаны и др.), а также гликопротеинов. В свободном виде обнаружена в небольших количествах в молоке. Галактоза сбраживается лишь специфическими расами дрожжей («лактозными» дрожжами).

D-манноза легко сбраживается дрожжами. Находится в растениях в составе полисахаридов – маннанов и слизей. В организме человека и животных она обнаружена в гликопротеинах. В свободном состоянии манноза содержится в виде продукта ее восстановления – спирта маннита, который широко распространен в

низших растениях (например, в водорослях).

D-фруктоза (левулоза, плодовый, или фруктовый, сахар) значительно слаще других сахаров, легко сбраживается дрожжами. Содержится в зеленых частях растений, плодах, овощах, ягодах, нектаре цветов, меде. Фруктоза в виде β -D-фруктофуранозы входит в состав олигосахаридов (например, сахарозы и рафинозы) и полисахаридов, называемых *фруктозанами* (например, инулина). Получают фруктозу кислотным или ферментативным гидролизом сахарозы или фруктозанов.

D-седогеиптулоза – семиуглеродный моносахарид, аморфен, не сбраживается дрожжами. В свободном виде встречается в растениях в незначительном количестве. Ее фосфорнокислый эфир – седогеиптулозо-7-фосфат – является промежуточным продуктом фотосинтеза и пентозофосфатного цикла окисления глюкозы.

6.2. Олигосахариды

К *олигосахаридам* относят углеводы, содержащие до 10 моносахаридных остатков, соединенных гликозидной связью, которые обладают сладким вкусом, хорошо растворяются в воде, легко кристаллизуются. Гликозидные связи в этих соединениях легко гидролизуются кислотами, но устойчивы к действию оснований.

В образовании гликозидной связи олигосахаридов участвуют полуацетальный гидроксил одного и любой гидроксил (включая и полуацетальный) другого моносахаридного остатка.

Олигосахариды, один из моносахаридных остатков которых содержит свободный полуацетальный гидроксил, называют *восстанавливающими* (например, мальтоза, лактоза, целлобиоза). У этого типа олигосахаридов гликозидная связь образуется за счет полуацетального гидроксила одного и спиртового гидроксила другого моносахаридного остатка. Олигосахариды, не содержащие свободный полуацетальный гидроксил, являются *невосстанавливающими*. Образование гликозидной связи у невосстанавливающих олигосахаридов происходит за счет полуацетальных гидроксил моносахаридных остатков.

В зависимости от количества моносахаридных остатков, входящих в состав олигосахаридов, последние делят на дисахариды, трисахариды, тетрасахариды и т.д.

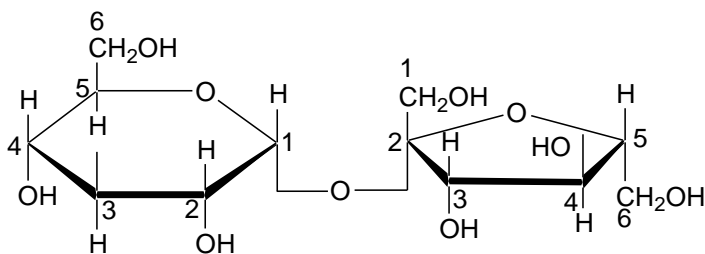
6.2.1. Отдельные представители олигосахаридов

Как отмечалось выше, из олигосахаридов наиболее распространены в природе *дисахариды*. Молекулы дисахаридов построены по типу гликозидов, но агликоном у них является остаток второй молекулы моносахарида. Моносахаридные остатки, входящие в состав дисахаридов, могут быть одинаковыми или разными.

Сахароза (свекловичный или тростниковый сахар) широко распространена в растениях; встречается в стеблях, семенах, фруктах, плодах, ягодах, корнях, клубнях. Много этого сахара накапливается в корнеплодах сахарной свеклы (14–20 %) и соке стеблей сахарного тростника (11–15 %). Эти растения являются главным источником получения сахарозы в пищевой промышленности.

Сахароза является транспортной формой углеводов многих растительных организмов; у высших животных она отсутствует. Она играет важную роль в питании человека, легко сбраживается дрожжами, не восстанавливает фелингову жидкость.

Молекула сахарозы состоит из α -D-глюкопиранозы и β -D-фруктофуранозы, соединенных за счет гликозидных (полуацетальных) гидроксилы. Химическое название сахарозы – α -D-глюкопиранозил-(1→2)- β -D-фруктофуранозид:



Сахароза

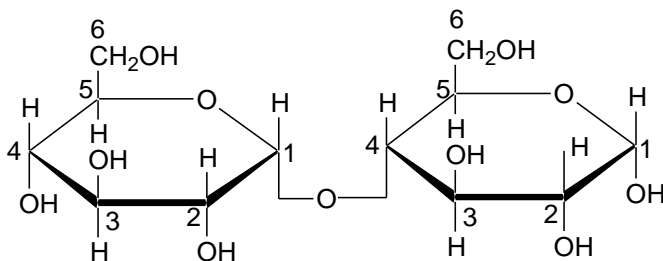
(α -D-глюкопиранозил-(1→2)- β -D-фруктофуранозид)

Сахароза не содержит свободного гликозидного гидроксила и поэтому не проявляет мутаротации (изменение оптической активности, связанное с переходом одних его форм в другие). Удельное вращение водных растворов сахарозы правое. При нагревании с кислотами или под действием фермента сахаразы (иначе инверта-

зы) сахароза гидролизуется, образуя смесь глюкозы и фруктозы. В результате гидролиза происходит изменение удельного вращения раствора сахарозы с правого на левое. Это явление называется *инверсией* (изменение какой-либо величины на обратную), а образующаяся смесь глюкозы и фруктозы – *инвертным сахаром*. Инверсия объясняется тем, что сахароза, имеющая удельное вращение $+66,5^\circ$ (правое), распадается на глюкозу с удельным вращением $+52,5^\circ$ (правое) и фруктозу с удельным вращением -92° (левое), что приводит к смене удельного вращения с правого на левое (знак оптического вращения становится отрицательным).

Мальтоза (солодовый сахар) образуется главным образом при гидролизе крахмала под действием амилаз. Содержится в больших количествах в солоде (высушенном проросшем зерне) и солодовых экстрактах. В небольших количествах найдена в тканях растений.

Молекула мальтозы состоит из двух остатков D-глюкопиранозы, соединенных гликозидной связью, которая образуется при участии гликозидного гидроксила первого атома углерода одного остатка α -глюкозы и спиртового гидроксила четвертого атома углерода второго остатка глюкозы. Поэтому гликозидную связь в молекуле мальтозы обозначают как $\alpha(1\rightarrow4)$ -связь:



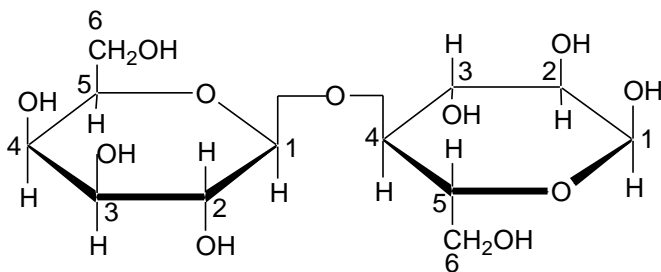
Мальтоза

(α -D-глюкопиранозил-(1 \rightarrow 4)-D-глюкопираноза)

Мальтоза сбраживается дрожжами, содержит свободный гликозидный гидроксил, проявляет восстановительные свойства, обнаруживает в водных растворах мутаротацию; под действием фермента α -глюкозидазы (мальтазы) гидролизуется с образованием двух молекул глюкозы.

Лактоза (молочный сахар) содержится в значительном количестве в молоке. Например, в коровьем молоке на ее долю приходится 4,5–5,2 %. Лактоза обнаружена в пыльцевых трубочках некоторых растений.

Молекула лактозы состоит из β -D-галактопиранозы и α -D-глюкопиранозы, соединенных $\beta(1\rightarrow4)$ -гликозидной связью:



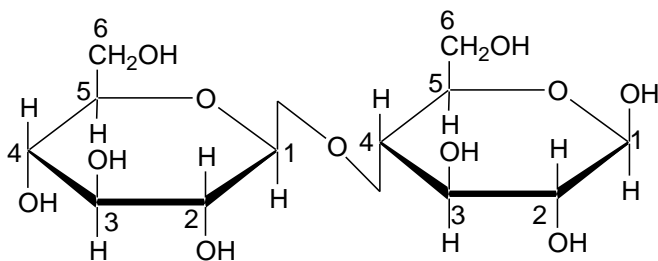
Лактоза

(β -D-галактопиранозил-(1 \rightarrow 4)- α -D-глюкопираноза)

Лактоза сбраживается лишь специфическими расами дрожжей («лактозными»). Содержит свободный гликозидный гидроксил, восстанавливает фелингову жидкость, проявляет мутаротацию. Под действием фермента β -галактозидазы (лактазы) распадается на галактозу и глюкозу.

В пищевой промышленности на сыродельных заводах лактозу получают из молочной сыворотки в кристаллическом виде и используют для приготовления питательных сред. Лактозу применяют как питание для грудных детей.

Целлобиоза состоит из двух остатков β -глюкопиранозы, соединенных $\beta(1\rightarrow4)$ -гликозидной связью:



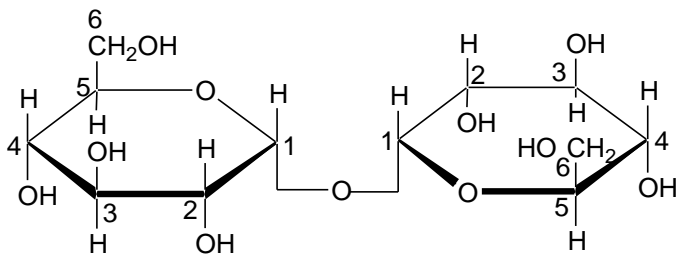
Целлобиоза

(β -D-глюкопиранозил-(1 \rightarrow 4)-D-глюкопираноза)

Целлобиоза является повторяющимся структурным фрагментом клетчатки (целлюлозы). В составе клетчатки находится в β -форме. В свободном виде обнаружена в прорастающих семенах и в пасоке (соке) некоторых деревьев. Содержит свободный гликозидный гидроксил, восстанавливает фелингову жидкость, обнаруживает мутаротацию. Под действием фермента β -глюкозидазы (целлобиазы) распадается на две молекулы глюкозы.

Трегалоза (грибной сахар) содержится в грибах, водорослях, лишайниках, рожках спорыньи, дрожжах, в некоторых высших растениях (например, в ясене), гемолимфе беспозвоночных (насекомые, моллюски, черви). В некоторых дрожжах массовая доля трегалозы достигает 18 % на сухое вещество.

В природе наиболее широко распространена α,α -трегалоза, которая состоит из двух остатков D-глюкопиранозы, соединенных между собой (α 1 \rightarrow 1)-гликозидной связью:



Трегалоза

(α -D-глюкопиранозил-(1 \rightarrow 1)-(α -D-глюкопиранозид)

Трегалоза сбраживается большинством дрожжей, не содержит свободный гликозидный гидроксил, не восстанавливает фелингову жидкость и не обнаруживает мутаротации. Под действием фермента (α,α -трегалазы) она распадается на две молекулы глюкозы. Два других изомера трегалозы (α,β -трегалоза и β,β -трегалоза) также не обладает восстанавливающими свойствами.

Рафиноза (мелитриоза, галактозилсахароза) является трисахаридом. Содержится в корнях сахарной свеклы, зернах злаков, семенах хлопчатника, сое и во многих бобовых растениях. Накапливается в больших количествах в мелассе при производстве свекловичного сахара. Молекула рафинозы построена из остатков α -D-галактопиранозы, α -D-глюкопиранозы и β -D-фруктофуранозы, связанных между собой с участием гликозидных гидроксильных групп каждого из остатков моносахаридов. Рафиноза не имеет свободного гликозидного гидроксила, поэтому не обладает восстанавливающими свойствами и мутаротацией.

6.3. Полисахариды

Основная масса всех встречающихся в природе углеводов представлена *полисахаридами* – высокомолекулярными соединениями, содержащими десятки, сотни и тысячи остатков моносахаридов или их производных. Полисахарид, содержащий остатки моносахаридов одного вида, называют гомополисахаридом (например, крахмал, целлюлоза и др.), а содержащий остатки моносахаридов двух и более видов – *гетерополисахаридом* (например, гепарин, хондроитинсерная кислота и др.). С точки зрения функционального назначения полисахариды делят на запасные и структурные. В живой природе *запасные* полисахариды (крахмал, гликоген, фруктозаны и др.) служат легко мобилизуемым резервным питательным материалом, а *структурные* полисахариды выполняют ряд важных структурных функций.

6.3.1. Отдельные представители полисахаридов

Крахмал – наиболее распространенный запасной полисахарид растений. Причем в одних частях растений он сохраняется

долго, в других используется быстро. На длительное время крахмал запасается в семенах, клубнях, луковицах, корнях и используется при прорастании. Особенно много его накапливается в семенах риса (60–80 %), кукурузы (65–75 %), пшеницы (60–70 %) и в клубнях картофеля (12–20 %). Крахмал, синтезируемый в хлоропластах листа, быстро используется растениями для дыхания и биосинтеза других веществ.

В растениях крахмал находится в виде зерен – высокоорганизованных структур, имеющих слоистое строение и различающихся по размеру и форме. Размер зерен колеблется от 1 до 100 мкм, форма зерен может быть овальной, сферической или неправильной. При этом каждый вид растений имеет зерна крахмала характерной для него формы, размера, слоистости.

При кислотном гидролизе крахмал распадается с образованием α -D-глюкопиранозы, являющейся его структурным элементом. В крахмале также обнаружены фосфор (0,02–0,16 %) и высокомолекулярные жирные кислоты (0,16 %) – стеариновая, пальмитиновая и др. При добавлении раствора йода в йодиде калия крахмал окрашивается в синий цвет. Появление окраски объясняется не химическим взаимодействием крахмала с йодом, а образованием комплексов адсорбционного типа.

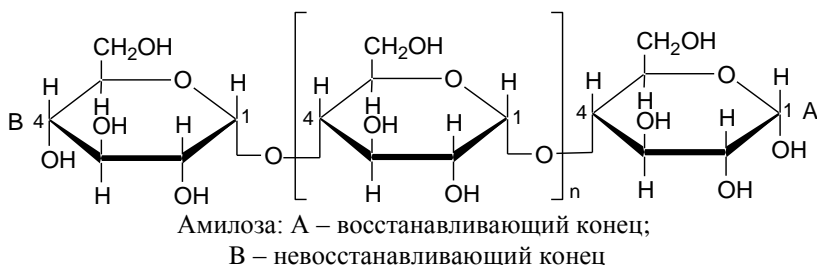
В холодной воде зерна крахмала не растворяются, а только набухают. При нагревании набухание зерен крахмала увеличивается, и при определенной температуре, называемой *температурой клейстеризации*, образуется коллоидный раствор, который называют *крахмальным клейстером*. Клейстеризация крахмала из разных биологических объектов наступает при различной температуре. Крахмал картофеля клейстеризуется при температуре 55–65 °С, кукурузы – 64–71 °С, пшеницы – 60–80 °С, риса – 70–80 °С.

При выдерживании крахмала в течение 6–7 суток при комнатной температуре в растворе с массовой долей соляной кислоты 7,5 % образуется так называемый *«растворимый крахмал»*, часто применяемый в лабораторной практике.

Крахмал представляет собой смесь двух полисахаридов – *амилозы и амилопектина*. Соотношение содержания амилозы и амилопектина в крахмале находится под генетическим контролем и зависит от вида растений, условий выращивания, вегетационного периода. Крахмальные зерна, синтезируемые большинством расте-

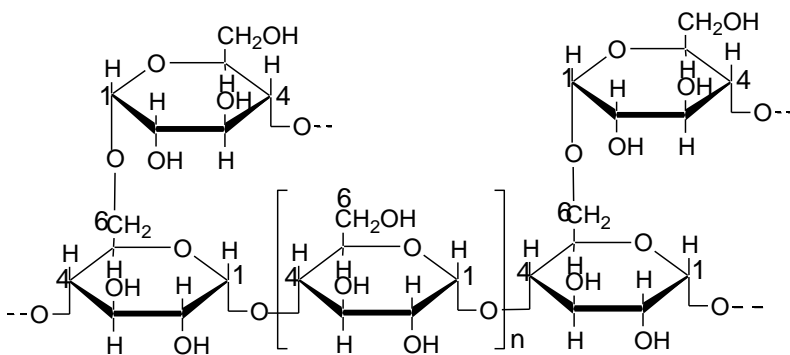
ний, содержат 15–25 % амилозы и 75–85 % амилопектина. Однако крахмалы восковидных сортов кукурузы, риса и ячменя состоят почти полностью из амилопектина, тогда как крахмалы гороха и обычных сортов кукурузы содержат 50–75 % амилозы; крахмал яблок состоит только из амилозы.

Амилоза – линейный полисахарид, содержащий от 100 до нескольких тысяч (~ 4000) остатков α -D-глюкопиранозы, соединенных $\alpha(1\rightarrow4)$ -гликозидными связями:



Методом рентгеноструктурного анализа установлено, что линейные молекулы амилозы имеют спиральную конформацию, причем каждый виток спирали состоит из шести остатков α -D-глюкопиранозы. Амилоза легко растворяется в горячей воде и дает растворы со сравнительно невысокой вязкостью. Образовавшийся раствор нестойкий, и при стоянии амилоза из него выпадает в осадок. Раствором йода в йодиде калия амилоза окрашивается в синий цвет. Молекулярная масса амилозы колеблется в пределах от 20 до 500–600 тысяч.

Амилопектин – разветвленный полисахарид, содержащий до 50 000 остатков α -D-глюкопиранозы, соединенных в его линейных ветвях $\alpha(1\rightarrow4)$ -гликозидными связями, а в точках ветвления $\alpha(1\rightarrow6)$ -гликозидными связями.



Амилопектин (фрагмент молекулы)

Каждая молекула амилопектина имеет один восстанавливающий конец (конец молекулы со свободным гликозидным гидроксилом) и много невосстанавливающих концов. Линейные ветви в амилопектине отходят во всех направлениях и придают молекуле древообразную форму. Средняя длина наружных ветвей (от невосстанавливающего конца до первой точки ветвления) составляет 16 глюкозных остатков, а средняя длина внутренних ветвей (от одной точки ветвления до другой) – семь глюкозных остатков. Молекулярная масса амилопектина достигает нескольких десятков миллионов.

Амилопектин растворяется в воде при нагревании под давлением и дает очень вязкие стойкие растворы. Раствором йода амилопектин окрашивается в сине-фиолетовый цвет.

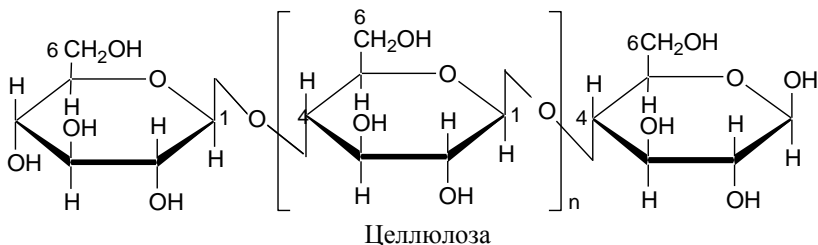
Крахмал широко применяется в медицине, пищевой и некоторых других отраслях промышленности. Под действием фермента амилазы крахмал в конечном итоге гидролизует с образованием мальтозы (при нагревании с раствором, например, серной кислоты – до глюкозы). При гидролизе крахмала в качестве промежуточных продуктов образуются полисахариды различной молекулярной массы – *декстрины*. О глубине гидролиза можно судить по реакции с йодом. Высокомолекулярные декстрины дают фиолетово-синюю окраску, декстрины меньшей молекулярной массы – красно-коричневую (красно-бурую). Низкомолекулярные декстрины йодом не окрашиваются.

Гликоген (животный крахмал) – резервный полисахарид организма человека и животных. Больше всего его содержится в печени (до 10 %) и мышцах (до 4 %), меньше в других органах и тканях. Обнаружен также в грибах, дрожжах, зерне сахарной кукурузы.

Гликоген – разветвленный полисахарид, содержащий от 2400 до 300 000 остатков α -D-глюкопиранозы, соединенных $\alpha(1\rightarrow4)$ -гликозидными связями в линейных участках и $\alpha(1\rightarrow6)$ -гликозидными связями в точках ветвления. Молекулярная масса гликогена колеблется от 400 000 до 50 млн и более. По своему строению гликоген очень близок к амилопектину, но отличается от него большей разветвленностью и более плотной упаковкой молекулы; форма молекулы приближается к сферической. Гликоген хорошо растворяется в горячей воде с образованием маловязких коллоидных растворов. С раствором йода дает окраску от красно-фиолетовой до красно-бурой. Под действием фермента амилазы гликоген, подобно крахмалу, расщепляется с образованием декстринов, затем мальтозы.

Целлюлоза (клетчатка) – полисахарид, составляющий основу клеточных стенок растений. Она обуславливает механическую прочность и эластичность растительных тканей; является самым распространенным органическим веществом на Земле. Целлюлоза содержится во всех частях растений: стеблях, листьях, корнях, плодах, семенах. На ее долю в волокне хлопка приходится 95–98 %, лубяных волокнах льна – 80–90 %, древесине – 40–50 %, листьях и зеленой массе трав – 10–25 %, корне- и клубнеплодах – 0,8–3,5 %, ягодах и фруктах – 0,5–2,0 %, семенах – 1,5–4 %. В растениях целлюлоза в чистом виде не встречается, она всегда связана с какими-либо соединениями: лигнином, гемицеллюлозами, пектиновыми веществами и др.

Молекулы целлюлозы представляют собой линейные цепи, построенные из 6000–12 000 остатков β -D-глюкопиранозы, соединенных $\beta(1\rightarrow4)$ -гликозидными связями:



Молекулярная масса целлюлозы достигает 1–2 млн. Вместе с тем имеются молекулы целлюлозы и с более короткими цепями.

В клеточных стенках растений молекулы целлюлозы организованы в биологические структурные единицы, называемые *микрофибриллами*. Целлюлоза не растворяется в воде; ее удается растворить в медно-аммиачном растворе (реактив Швейцера) или растворе гидроксида натрия.

Под действием фермента целлюлазы, найденного у ряда бактерий, плесневых грибов, некоторых видов насекомых и в прорастающих семенах, целлюлоза гидролизуется с образованием целлобиозы. В пищеварительных соках человека и животных этого фермента нет. Пищевое значение целлюлозы для человека состоит в том, что она активирует перистальтику (моторику) желудочно-кишечного тракта.

Хитин – важный полисахарид клеточных стенок большинства грибов (ряд грибов содержит целлюлозу) и некоторых зеленых водорослей. Он является также основным компонентом наружного скелета насекомых, ракообразных и других беспозвоночных животных. Хитин выполняет опорную и защитную функции и всегда связан с веществами неполисахаридной природы: белками, неорганическими солями, липидами, пигментами.

Молекулы хитина представляют собой длинные линейные цепи, состоящие из остатков N-ацетил- β -D-глюкозамина, соединенных $\beta(1\rightarrow4)$ -гликозидными связями. По строению хитин является очень близким к целлюлозе полисахаридом. Разница состоит в том, что в хитине гидроксильная группа при C-2 остатков глюкозы замещена на ацетоамидную группу ($-\text{NHCOCH}_3$). Как и целлюлоза, хитин не растворяется в воде. В частично растворенное состояние его можно перевести при помощи, например, муравьиной кислоты.

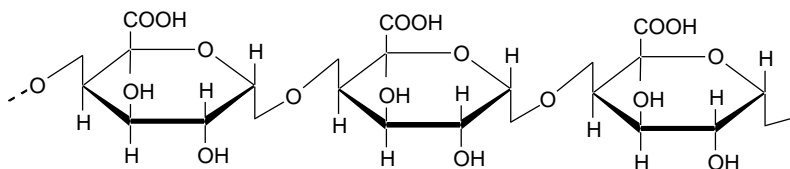
Гемицеллюлозы – группа высокомолекулярных полисахаридов клеточных стенок растений, не растворяющихся в воде, но растворимых в щелочных растворах. Они содержатся в древесине, соломе, оболочках семян, кукурузных кочерыжках, отрубях. Молекулярная масса гемицеллюлоз не превышает нескольких десятков тысяч.

При кислотном гидролизе гемицеллюлоз образуются манноза, галактоза, ксилоза, арабиноза. В зависимости от продуктов гидролиза среди гемицеллюлоз различают маннаны, галактаны, ксиланы и др. Имеются также гемицеллюлозы смешанного состава, дающие при гидролизе гексозы, пентозы и уроновые кислоты. Организмом человека гемицеллюлозы не усваиваются.

Пектиновые вещества (пектины) – высокомолекулярные полисахариды, содержащиеся в больших или меньших количествах во всех частях растений: листьях, стеблях, корнях, плодах, семенах. Больше всего пектиновых веществ содержится в сочных плодах и корнеплодах (до 2,5 %).

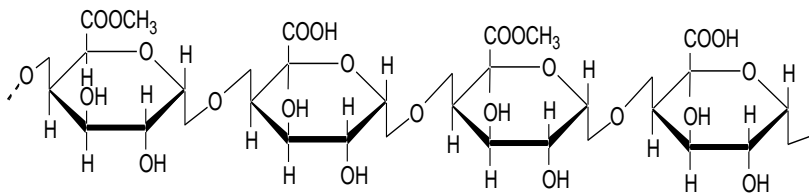
В основе молекулы пектиновых веществ растений лежит цепь преимущественно из остатков α -D-галактуроновой кислоты, соединенных $\alpha(1\rightarrow4)$ -гликозидными связями. Среди пектиновых веществ выделяют пектовую кислоту, пектин, протопектин.

Пектовая, или полигалактуроновая, кислота построена из остатков α -D-галактуроновой кислоты, соединенных $\alpha(1\rightarrow4)$ -гликозидными связями:



Пектовая кислота растворима в воде, не образует студни, с ионами металлов образует соли – *пектаты*. В виде пектата кальция она легко выпадает в осадок, что используют для количественного определения пектиновых веществ.

Пектин (растворимый пектин, метоксилированная полигалактуроновая кислота) – это полигалактуроновая кислота, часть карбоксильных групп которой этерифицирована метанолом с образованием карбоксиметильной группы:



Различают высокоэтерифицированный пектин, в котором степень этерификации (отношение числа этерифицированных карбоксильных групп к числу неэтерифицированных, выраженное в процентах) составляет более 50 %, и низкоэтерифицированный пектин, который имеет степень этерификации менее 50 %. Пектин растворяется в воде, находится главным образом в некоторых соках растений, например, в соке плодов и корнеплодов. Характерным и важным свойством пектина является его способность образовывать в присутствии сахара (65–70 %) в кислой среде (рН 3,1–3,5) студни. На способность пектина образовывать студни влияют также размеры его молекулы. Хорошими студнеобразующими свойствами при прочих равных условиях обладает пектин с молекулярной массой от 150 до 200 тысяч. Свойство пектина образовывать студни широко используют в кондитерской промышленности при производстве джема, желе, мармелада, пастилы и фруктовых карамельных начинок.

Получают пектин из свекловичного жома, корзинок подсолнечника, выжимок яблок и плодов цитрусовых, кормового арбуза, коры хвойных деревьев и др.

Протопектин (нерастворимый протопектин) – нерастворимая в воде сложная форма пектиновых веществ клеточных стенок растений и межклеточного вещества, склеивающего растительные клетки между собой. Нерастворимый пектин представляет собой метиловый эфир полигалактурановой кислоты (метоксилированная полигалактурановая кислота), соединенный с арабаном и галактаном клеточной стенки.

Протопектин под действием фермента протопектиназы (или разбавленных кислот) переходит в растворимый пектин. Последний при участии фермента пектинэстеразы гидролизуется с образованием метанола и полигалактурановой кислоты. Ферментативное превращение протопектина в растворимый пектин происходит

при созревании плодов, что приводит к уменьшению их жесткости и улучшению вкусовых качеств. Превращение протопектина в растворимый пектин под действием специфических ферментов продолжается и в процессе последующего хранения плодов при определенной температуре (например, 1 °С).

Пектины играют важную роль в жизни человека. В пищеварительном тракте они связывают токсичные, тяжелые, радиоактивные катионы металлов, фенолы, амины и т.п., образуя нерастворимые комплексы, которые не всасываются и выводятся из организма. Пектины регулируют работу кишечника, стимулируют заживление ран и язв, обладают кровоостанавливающим действием, эффективны при лечении и профилактике атеросклероза. Благодаря разностороннему воздействию на организм человека пектин является основным компонентом профилактического и диетического питания. Профилактическая норма потребления пектина 2–4 г в сутки.

Глава 7. ЛИПИДЫ

Липиды – группа структурно и функционально различных соединений растений, животных и микроорганизмов, общим свойством которых является хорошая растворимость в неполярных органических растворителях (эфире, бензоле, хлороформе и т.п.) и нерастворимость в воде.

Единая классификация липидов отсутствует. Наиболее целесообразно классифицировать липиды в зависимости от их химической природы, биологических функций.

По химическому составу липиды обычно делят на две группы: простые и сложные. *Простые* липиды не содержат азота, фосфора и серы. К ним относятся главным образом нейтральные липиды, являющиеся производными высших жирных кислот, одно-, двух- и многоатомных спиртов, альдегидов (ацилглицерины, эфиры диолов, воски, алкильные липиды, плазмалогены), а также их структурные компоненты (спирты, карбоновые кислоты).

Сложными липидами являются фосфолипиды и сфинголипиды. Фосфолипиды – соединения, при гидролизе которых образуются наряду со спиртами (чаще всего глицерином) и высокомолекулярными жирными кислотами фосфорная кислота, азотистые основания, аминокислоты и ряд других соединений. Сфинголипиды содержат сфингозиновые основания, являющиеся длинноцепочными аминодиолами.

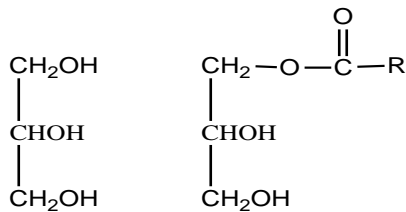
В состав простых и сложных липидов могут входить гликолипиды, содержащие в качестве структурных компонентов углеводные фрагменты.

Иногда в самостоятельные группы липидов выделяют жирорастворимые пигменты, стерины, жирорастворимые витамины. Некоторые из этих соединений могут быть отнесены к группе простых (нейтральных) липидов, другие – сложных.

По своим функциям в живом организме липиды делятся на структурные и запасные.

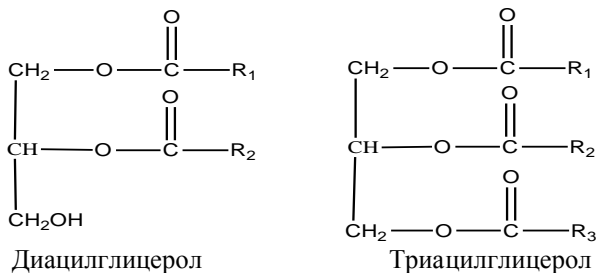
7.1. Жиры (ацилглицеролы)

Жиры представляют собой смесь ацилглицеролов – сложных эфиров трехатомного спирта глицерола (1,2,3-пропантриола) и жирных кислот. В зависимости от числа этерифицированных гидроксильных групп глицерина (три, две или одна) различают соответственно триацилглицеролы, диацилглицеролы и моноацилглицеролы. Триацилглицеролы составляют основную массу природных жиров. Поэтому термин «триацилглицерол» часто используют как синоним термина «жир» или «нейтральный жир». Моноацилглицеролы и диацилглицеролы, хотя и представляют собой важные промежуточные продукты липидного обмена, в составе природных жиров встречаются в малых количествах.



Глицерол

Моноацилглицерол



Диацилглицерол

Триацилглицерол

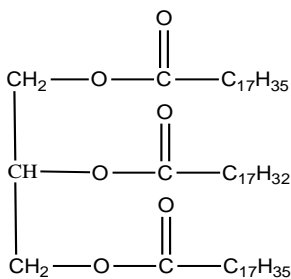
Помимо ацилглицеролов, природные жиры содержат незначительные количества свободных жирных кислот и других липидов. Жиры растворяются во многих неполярных органических растворителях (эфире, бензоле, хлороформе и др.). С водой в присутствии эмульгаторов они образуют стойкие эмульсии.

Жирные кислоты, входящие в состав различных ацилглицеролов (и других липидов) растительных и животных клеток, пред-

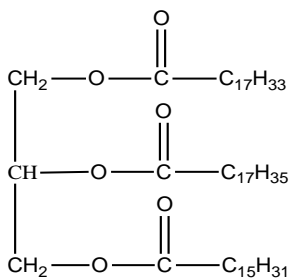
ставляют собой монокарбоновые кислоты с четным числом углеродных атомов (от 4 до 24 и более). Чаще всего встречаются жирные кислоты с 16 и 18 атомами углерода. Жирные кислоты с нечетным числом атомов углерода в составе липидов встречаются редко. Всего в растительном и животном мире идентифицировано свыше 200 различных жирных кислот.

Все жирные кислоты, обнаруженные в составе липидов, делят на две группы: *насыщенные* (не содержащие двойных связей) и *ненасыщенные*, или *непредельные* (содержат одну или несколько двойных связей). Две двойные связи в жирных кислотах, за некоторым исключением, не бывают сопряженными ($-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-$), а организованы в систему, где между ними находятся метиленовые группы ($-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$). Двойные связи практически во всех природных жирных кислотах находятся в *цис*-конформации, что приводит к сильному изгибу углеводородной цепи кислоты. Наиболее часто встречающиеся в липидах жирные кислоты приведены в прил. 4.

Триацилглицеролы называют *простыми*, если в их молекуле все остатки жирных кислот одинаковы (например, триолеин, тристеарин и др.), и *смешанными*, если они содержат остатки различных жирных кислот (например, диолеостеарин, олеостеаропальмитин и др.). Природные жиры состоят главным образом из смешанных триацилглицеролов.



Тристеарин



Олеостеаропальмитин

Теоретически каждая из трех гидроксильных групп глицерина может быть этерифицирована любой жирной кислотой, что дает возможность существования огромного количества различных

триацилглицеролов. В действительности эта возможность ограничивается наличием в данной ткани относительно небольшого числа жирных кислот.

В зависимости от источника получения природные жиры делят на растительные, часто называемые маслами (хлопковое, подсолнечное, масло какао-бобов и др.), и животные (говяжий, свиной, гусиный, молочный, китовый и др.).

Растительные масла богаты ненасыщенными жирными кислотами (чаще всего олеиновой и линолевой), поэтому имеют низкую температуру плавления и в большинстве случаев при комнатной температуре жидкие. Среди растительных жиров твердыми при комнатной температуре являются кокосовое масло ($t_{пл} = 20\text{--}28\text{ }^{\circ}\text{C}$) и масло какао-бобов ($t_{пл} = 30\text{--}34\text{ }^{\circ}\text{C}$). В состав ацилглицеролов некоторых растительных жиров входят жирные кислоты, характерные для данных растений. Например, в состав масла клещевины (касторовое масло) входит рициноловая кислота $\text{CH}_3\text{--}(\text{CH}_2)_5\text{--}\text{CH}(\text{OH})\text{--}\text{CH}_2\text{--}\text{CH}=\text{CH}\text{--}(\text{CH}_2)_7\text{--}\text{COOH}$. В маслах из семян семейства крестоцветных – рапса, горчицы – содержится эруковая кислота $\text{CH}_3\text{--}(\text{CH}_2)_7\text{--}\text{CH}=\text{CH}\text{--}(\text{CH}_2)_{11}\text{--}\text{COOH}$. Плоды некоторых тропических деревьев и кустарников содержат масла, в состав которых входят ненасыщенные циклические жирные кислоты.

Животные жиры обычно содержат значительное количество насыщенных жирных кислот (пальмитиновой, стеариновой), благодаря чему имеют высокую температуру плавления и при комнатной температуре являются твердыми веществами. Температура плавления жиров приведена в прил. 5.

Как правило, чем выше содержание насыщенных кислот с короткой цепью или ненасыщенных кислот, тем ниже температура плавления жира. В составе молочного жира имеются триацилглицеролы, содержащие как насыщенные кислоты с короткой цепью (масляную, капроновую, каприловую, каприновую), так и ненасыщенные кислоты (преобладает олеиновая). Поэтому при комнатной температуре он имеет мягкую консистенцию.

Плотность жиров меньше единицы. Наряду с температурой плавления, плотностью и другими физическими константами свойства жиров характеризуются химическими константами, называемыми «числами»: йодное число, кислотное число, число омыления и др.

Йодное число показывает содержание в жире ненасыщен-

ных жирных кислот. Оно выражается массой йода в граммах, которая связывается со 100 г жира. Присоединение йода происходит по месту двойных связей, имеющих в ненасыщенных жирных кислотах. По величине йодного числа судят о натуральности жира и об изменениях, которые могут происходить при его хранении. Йодные числа некоторых жиров и масел имеют следующие величины: молочный жир – 28–45, говяжий – 32–47, бараний – 35–46, свиной – 46–66, китовый – 108–130, жир печени трески – 118–186; кокосовое масло – 8–12, хлопковое – 100–116, соевое – 124–133, подсолнечное – 127–136, льняное – 170–185.

Кислотное число – масса гидроксида калия в миллиграммах, необходимая для нейтрализации свободных жирных кислот, содержащихся в 1 г жира. Жиры обычно содержат незначительное количество свободных жирных кислот. Кислотное число бараньего жира составляет 1,2–2,2, говяжьего – 1,1–2,2, свиного – 1,1–2,2, растительных масел – 1–10. При хранении жира или богатых жиром пищевых продуктов происходит увеличение кислотного числа. Одной из причин такого увеличения является гидролиз триацилглицеролов. Кислотное число пищевых жиров нормируется стандартами.

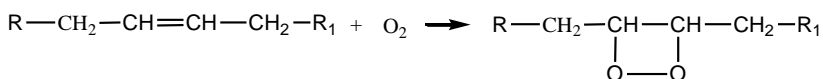
Число омыления – масса гидроксида калия в миллиграммах, необходимая для нейтрализации свободных и связанных с глицеролом жирных кислот, освобождающихся при омылении 1 г жира. Для животных жиров число омыления составляет 170–260, для растительных масел – 170–200. По числу омыления можно рассчитать среднюю молекулярную массу триацилглицеролов, входящих в состав жира. Расчет производят следующим образом: 56110 (молекулярная масса КОН в мг) умножают на три и полученный результат делят на число омыления.

При кипячении ацилглицеролов с кислотами или основаниями, а также под действием фермента липазы происходит гидролиз сложноэфирной связи, сопровождаемый высвобождением глицерола и жирных кислот. Щелочной гидролиз ацилглицеролов называют *омылением*. В результате этой реакции образуются глицерол и соли высших жирных кислот – *мыла*.

Жидкие растительные масла можно превратить в твердые жиры путем каталитического гидрирования, в процессе которого происходит присоединение водорода по месту двойных связей в нена-

сыщенных жирных кислот. Гидрированные (гидрогенизированные) растительные масла широко используют в отдельных отраслях промышленности (кондитерская, маргариновая, мыловаренная).

При длительном хранении жиры или содержащие жиры продукты под действием света, кислорода и влаги приобретают неприятный вкус и специфический запах – *прогоркают* (портятся). Наиболее распространенным является *окислительное* прогоркание, обусловленное окислением ненасыщенных жирных кислот молекулярным кислородом, который присоединяется по месту двойных связей, образуя перекиси:



При отсутствии кислорода этот процесс не происходит. Для предотвращения окислительного прогоркания к жирам добавляют антиокислители, часто витамин Е.

В процессе прогоркания жиров и содержащих жиры продуктов участвуют некоторые ферменты, например липаза и липоксигеназа. Прогоркание жиров иногда зависит от жизнедеятельности микроорганизмов.

В различных органах и тканях живых организмов содержится неодинаковое количество жиров. В растениях они обычно накапливаются в семенах и плодах. Так, в семенах клещевины содержится в среднем 60 % жира, подсолнечника – 45 %, сои – 20 %, кукурузы и риса – 5 %, проса – 4 %, гречихи – 3 %, гороха, фасоли, пшеницы, ржи, ячменя – 2 %. Семена и плоды используют в жировой промышленности для получения растительных жиров (масел). В организме животных жиры концентрируются в жировой ткани, которая наибольшего развития достигает под кожей (особенно у свиней), в брюшной полости, между мышцами и в других местах. В жировой ткани жир составляет до 87–97 %. Наряду с жирами в ней присутствуют в небольших количествах вода, белки, пигменты и другие органические и минеральные вещества. Жировую ткань с содержащимися в ней жиром, водой, белками и другими компонентами называют *салом*. Жировую ткань применяют как сырье для изготовления пищевых продуктов (шпик, колбасы и др.) и для получения топленых пищевых и технических

жиров.

Жиры применяются главным образом как пищевые продукты и для изготовления консервов, майонеза, маргарина. Их также широко используют в производстве мыла, глицерина, свечей, смазочных материалов, алкидных смол, олифы, масляных лаков и как основу при изготовлении лекарственных мазей, косметических средств и др.

7.2. Воски

Воски – жироподобные вещества с температурой плавления 40–90 °С, растворимые в неполярных органических растворителях. Главную часть восков составляют сложные эфиры, образованные длинноцепочечными насыщенными или ненасыщенными жирными кислотами с четным числом углеродных атомов, обычно в пределах 14–36, и длинноцепочечными спиртами жирного (реже ароматического) ряда с числом углеродных атомов в пределах 16–31. Наряду со сложными эфирами воски содержат некоторое количество свободных высших спиртов и высших жирных кислот, а также немного углеводов с нечетным числом углеродных атомов (27–35), красящие и душистые вещества. Общее количество названных примесей может достигать 50 %.

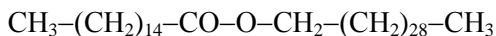
Воски обнаружены как в растительных, так и в животных организмах. В растениях они содержатся в гидрофобной кутикуле – тонкой пленке, которая покрывает снаружи листья, стебли, стволы и плоды, предохраняя расположенные под ней ткани от химических, физических и биологических повреждений. Нарушение кутикулы плодов приводит к быстрой их порче при хранении. В семенах восков мало. Например, в оболочках семян подсолнечника их содержится 0,2 %, семян льна – 0,03 %, семян сои – 0,01 % от массы оболочек.

У животных и птиц, особенно водоплавающих, выделяемые кожными железами воски образуют защитную пленку на коже, шерсти и перьях. Воски являются важными липидными компонентами морского планктона (совокупность мелких растений и животных, находящихся во взвешенном состоянии в толще воды) – источника пищи для океанских животных (киты, сельдь, лососевые и др.).

По физико-химическим свойствам воски близки к жирам, но

более устойчивы к действию света, окислителей, нагреванию, хуже гидролизуются. Среди восков широкое применение находят пчелиный воск, ланолин, спермацет и др.

Пчелиный воск – вещество, выделяемое восковыми железами рабочих пчел; является основой пчелиных сотов. Под его покровом в сотах хранится мед и развиваются личинки пчел. Состоит из смеси сложных эфиров, образованных высшими жирными кислотами и высшими спиртами, свободных жирных кислот (до 13,5 %) и углеводов (до 12,5 %). В его составе обнаружены вещества, обуславливающие цвет и запах, а также минеральные соединения. Из сложных эфиров в пчелином воске преобладает мирицилпальмитат:



Пчелиный воск служит материалом для изготовления искусственной вошины, компонентом для полировочных паст, мазей, пластырей, косметических препаратов и др.

Ланолин получают после специальной обработки «шерстяного жира» (жиропот овечьей шерсти) – вещества, выделяемого кожными железами овец и обильно покрывающего шерсть (5–16 % от массы шерсти). Он представляет собой смесь почти равных количеств высших жирных кислот (ланолиновой, ланопальмитиновой, ланостеариновой и др.), высших спиртов (цетилового, холестерола, ланостерола и др.) и их сложных эфиров. Отличается от других восков высоким содержанием стеролов (холестерола, эргостерола и др.).

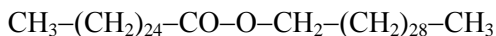
Ланолин хорошо всасывается через кожу. Применяют как основу для изготовления лекарственных мазей и косметических кремов.

Спермацет содержится в специальном спермацетовом мешке головы кашалота, расположенном над длинной верхней челюстью. Состоит на 90 % из цетилпальмитата $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{14}-\text{CO}-\text{O}-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_{14}-\text{CH}_3$. Остальная часть спермацета – эфиры цетилового $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{14}-\text{CH}_2\text{OH}$ и других высших спиртов с лауриновой, миристиновой и стеариновой кислотами.

Спермацет, как и ланолин, хорошо всасывается через кожу. Применяют при изготовлении лекарственных мазей и косметических средств, в качестве сырья в производстве мыла, свечей, как

смазочный материал и др.

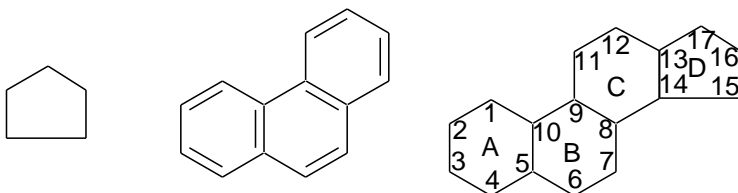
Карнаубский воск получают из листьев бразильской восковой пальмы. Его основной компонент – эфир мирицилового спирта и церотиновой кислоты (мирицилцеротинат):



Применяют для изготовления свечей, полировочных паст, при выделке кожи, в производстве копировальной бумаги и др.

7.3. Стероиды

Стероиды – группа липидов, в основе которых лежит ядро циклопентанпергидрофенантрена, состоящее из полностью гидрированного фенантрена (называемого пергидрофенантреном) и циклопентана.



Циклопентан

Фенантрен

Циклопентанпергидрофенантрен

Для природных стероидов характерно присутствие кислородсодержащего заместителя у С-3, наличие метильных групп, связанных с С-10 и С-13, и отсутствие двойных связей в циклах.

К стероидам относятся стеролы, стериды, желчные кислоты, витамины группы D, сердечные гликозиды, стероидные гормоны и др. В основе их классификации лежит структура заместителя, присоединяемого к 17-му углеродному атому ядра.

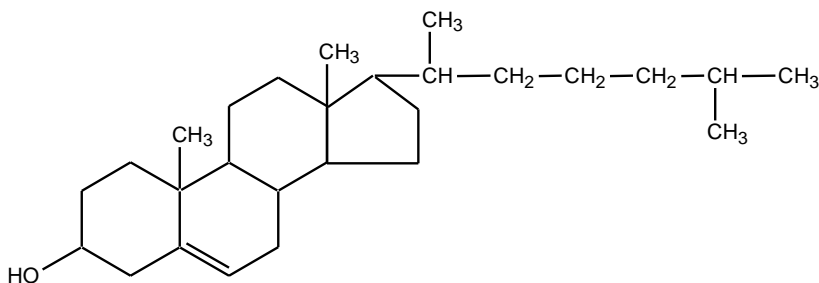
7.3.1. Стеролы

Стеролы – наиболее распространенная группа стероидов. Синтезируются позвоночными и многими моллюсками (зоостеро-

лы), растениями (фитостеролы), грибами (микостеролы); встречаются у некоторых видов бактерий. Стероиды участвуют в построении биологических мембран и в образовании различных стероидных биорегуляторов (гормоны, витамины группы D, сапонины и т.п.).

Важным стеролом животных организмов (зоостеролом) является *холестерол* – одноатомный циклический спирт. Это кристаллическое, оптически активное вещество с температурой плавления 149 °С, нерастворимое в воде, но легко экстрагируемое из клеток хлороформом, эфиром, бензолом или горячим этанолом.

Холестерол содержится в значительных количествах в нервной ткани (1–4 %), желчи (~0,87 %), печени (0,15–0,2 %), крови (0,15–0,2 %), мышечной ткани (0,03–0,23 %), молоке (цельное молоко – 0,01–0,014 %, молочный жир – 0,2–0,4 %), желтке яиц (~1,6 %) как в свободной, так и в этерифицированной формах (преобладает свободная форма):



В очень небольшом количестве холестерол содержится в пыльце и масле семян растений.

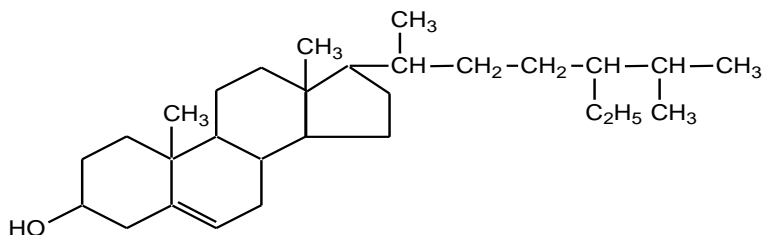
Холестерол, образуя с жирными кислотами и белками сложные комплексы, участвует в построении биологических мембран, регулирующих обмен веществ в клетке. У позвоночных он используется для биосинтеза стероидных гормонов, желчных кислот и спиртов и некоторых других соединений. Исходным веществом для биосинтеза холестерола является активный ацетильный остаток – ацетил-КоА (CH₃-CO~S-КоА).

У человека избыток холестерола в крови (что бывает при богатой холестеролом диете) способствует развитию атеросклероза (заболевание кровеносных сосудов), ожирению печени, образова-

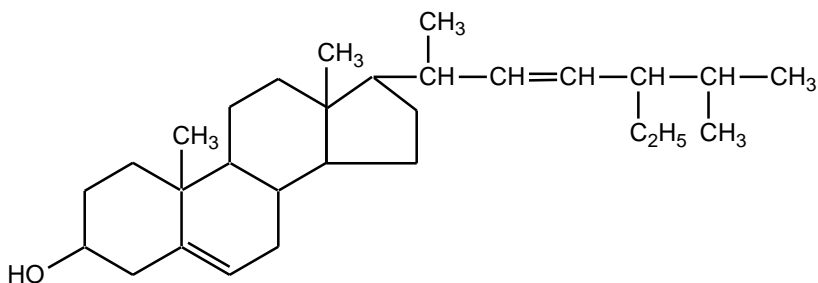
нию желчных камней и другим заболеваниям.

Получают холестерол из неомыляемой фракции липидов спинного мозга и других органов крупного рогатого скота. Используют для получения стероидных лекарственных препаратов.

Среди стеролов растений (фитостеролов) наиболее распространенными являются *ситостерол* и *стигмастерол*:



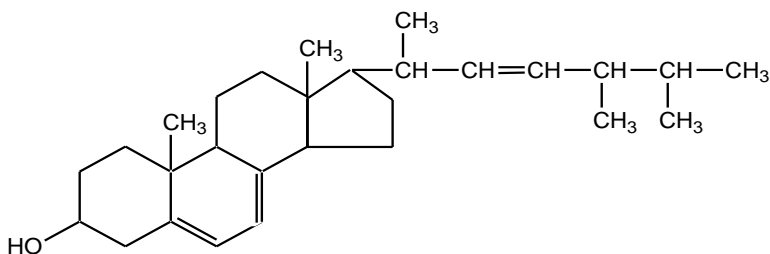
Ситостерол



Стигмастерол

Оба стерола получают из растительных масел, применяют для синтеза стероидных лекарственных средств. Общее содержание стеролов в семенах пшеницы составляет 0,03–0,07 %, семенах кукурузы – 1,0–1,3 %, семенах двудольных растений – 0,15–1,5 %.

Характерным представителем микостеролов является эрго-стерол:



Эргостерол

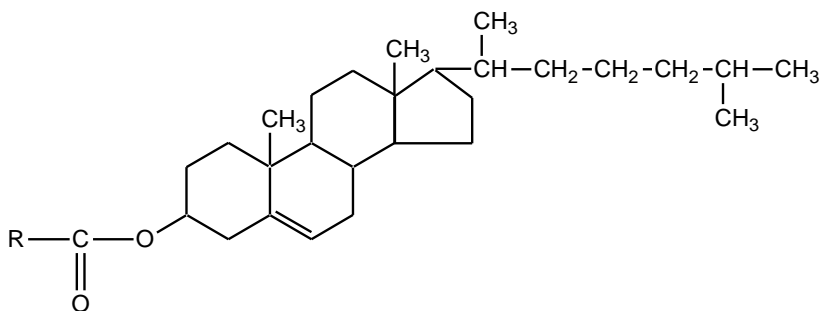
Эргостерол содержится в дрожжах, плесневых грибах, рожках спорыньи, пшеничном зерне. При ультрафиолетовом облучении эргостерол изомеризуется в витамин D₂.

Получают эргостерол из дрожжей (в них содержится свыше 2 % стеролов от сухого вещества) и плесневых грибов – отходов от производства антибиотиков. Применяют для получения витамина D₂ и некоторых стероидных лекарственных средств.

Ситостерол, стигмастерол, эргостерол, так же как и холестерол, твердые, оптически активные вещества, растворимые в жирах и органических растворителях.

7.3.2. Стериды

Стериды – сложные эфиры стеролов с высшими жирными кислотами. Из жирных кислот в составе стеридов обнаружены в основном пальмитиновая, стеариновая и олеиновая кислоты; встречаются и другие жирные кислоты (арахидоновая, миристиновая, церотиновая и др.). Из стеридов в организме человека и животных наиболее распространены сложные эфиры холестерина – *холестериды*:



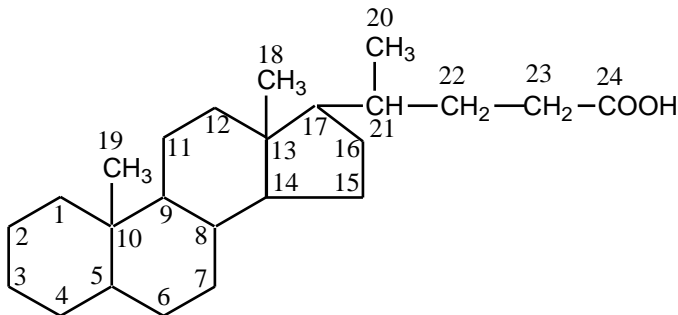
Холестерид

Все стериды – твердые вещества, не растворяются в воде, но хорошо растворимы в растворителях жиров. В природе, особенно у животных, встречаются в виде комплексов с белками, участвуют в построении биологических мембран, регулируют ряд процессов в организме.

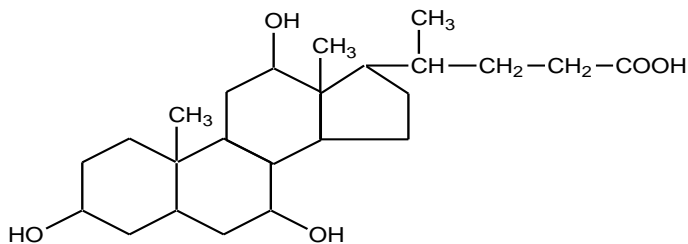
7.3.3. Желчные кислоты

Желчные кислоты представляют собой монокарбоновые циклические оксикислоты, вырабатываемые печенью позвоночных из холестерина и поступающие с желчью в начальную часть тонкого кишечника. У различных групп позвоночных набор желчных кислот варьирует и связан с характером пищи.

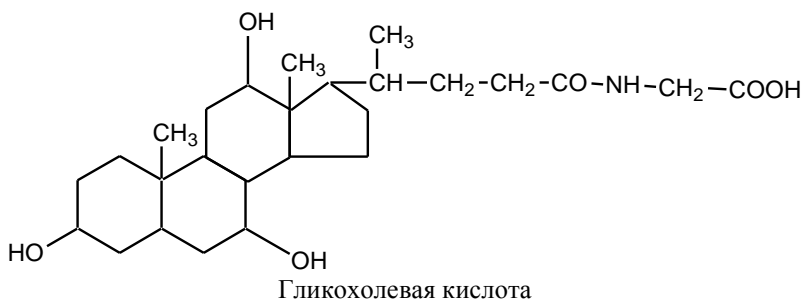
Желчные кислоты – твердые, оптически активные вещества, плохо растворимые в воде. По своей химической природе они являются производными холановой кислоты:



В желчи человека содержатся главным образом холевая (3,7,12-тригидроксихолановая), дезоксихолевая (3,12-дигидроксихолановая) и хенодезоксихолевая (3,7-дигидроксихолановая) кислоты:



Желчные кислоты присутствуют в желчи в конъюгированной форме (в виде парных соединений) с глицином или таурином ($\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-SO}_3\text{H}$). Например, холевая кислота, соединяясь с глицином, превращается в гликохолевую, а с таурином – в таурохолевую кислоты:

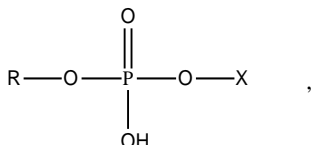


Соли конъюгированных желчных кислот (особенно натриевые) растворимы в воде и являются хорошими эмульгаторами. Эмульгируя жиры, они способствуют их перевариванию и всасыванию, осуществляя активный перенос высших жирных кислот, образовавшихся в процессе переваривания жиров, в стенку тонкого кишечника. Кроме того, желчные кислоты активируют выделяющуюся изначально в неактивной форме липазу – фермент, расщепляющий триацилглицериды в процессе их переваривания.

Желчные кислоты выделяют из желчи крупного рогатого скота. Применяют для получения стероидных лекарственных средств и в качестве лекарственных препаратов, растворяющих и предотвращающих образование желчных камней.

7.4. Фосфолипиды

Фосфолипиды – это несимметричные диэфиры фосфорной кислоты, имеющие следующую общую формулу:



где R – ацильные, реже алкильные или алкенильные производные глицерола, сфингозина или других спиртов; X – остаток аминокислота, глицерола или другого полярного азотсодержащего соединения.

Фосфолипиды содержатся в тканях животных, растений и микроорганизмах; локализованы в основном в биологических мембранах. Богаты ими сердце, печень, нервная ткань человека и позвоночных животных, желток яиц птиц, семена растений (особенно масличных и бобовых культур). В жировых отложениях преобладают триацилглицеролы, а фосфолипиды являются минорными компонентами.

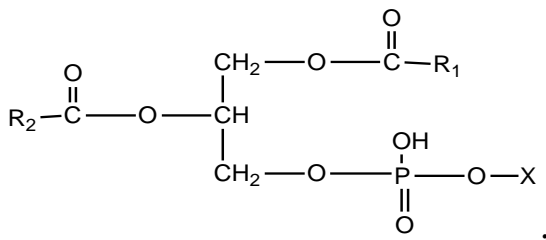
Молекулы всех фосфолипидов содержат полярную «головку» и два неполярных углеводородных «хвоста». Поэтому их называют *амфипатическими* или *полярными* липидами. Наличие в молекулах фосфолипидов полярных (остатки фосфорной кислоты и полярного соединения) и неполярных (остатки радикалов жирных кислот) групп обуславливает своеобразие физико-химических свойств и специфическую роль этих соединений в построении и функционировании биологических мембран.

Фосфолипиды – белые воскообразные вещества, быстро темнеющие на воздухе. Хорошо растворяются в большинстве неполярных растворителей. Растворимость в этаноле, ацетоне и эфире у разных групп фосфолипидов неодинакова. В воде при низкой концентрации образуют мицеллы, при высокой – слоистую структуру, состоящую из бимолекулярных слоев фосфолипидов, разделенных слоями воды.

Фосфолипиды подразделяют на глицерофосфолипиды и сфингофосфолипиды.

7.4.1. Глицерофосфолипиды

Общая формула строения глицерофосфолипидов имеет следующий вид:



где R_1 и R_2 – радикалы жирных кислот; X – полярная группа.

В основе молекулы глицерофосфолипидов лежит фосфатидная кислота, представляющая собой глицерол, у которого две спиртовые группы этерифицированы жирными кислотами, а одна, в 3-м положении, – фосфорной кислотой. У большинства природных глицерофосфолипидов насыщенные жирные кислоты (с 16–18 углеродными атомами) находятся в положении С-1, а ненасыщенные (16–20 углеродных атомов, от одной до четырех двойных связей), как правило, в положении С-2. В свободном виде фосфатидная кислота в клетках содержится в очень малых количествах и преимущественно в растительных тканях. В то же время фосфатидная кислота является важным промежуточным соединением при биосинтезе фосфолипидов.

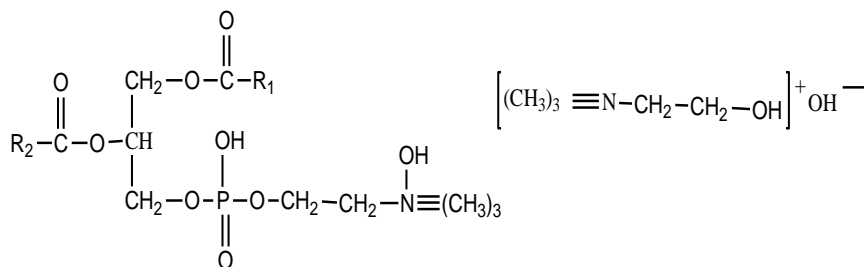
Находящийся в составе фосфатидной кислоты остаток фосфорной кислоты может образовывать сложноэфирную связь со специфическими полярными группировками, по строению которых глицерофосфолипиды отличаются друг от друга. Разнообразие фосфолипидов обусловлено и характером двух жирных кислот, входящих в молекулу.

В зависимости от строения полярной группы глицерофосфолипиды делятся на фосфатидилхолины, фосфатидилэтаноламины, фосфатидилсерины, фосфатидилинозитолы, фосфатидилглицеролы и другие группы.

Из глицерофосфолипидов в организме животных и высших растений в наибольшем количестве содержатся фосфатидилхолины и фосфатидилэтаноламины.

Фосфатидилхолины содержат следующие компоненты: глицерол, две жирные кислоты, фосфорную кислоту и в качестве X-группы аминоспирт холин.

Холин – сильное основание, хорошо растворимое в воде и спирте, но нерастворимое в эфире и бензоле. Может присутствовать в тканях и в свободном виде. Из продуктов питания им богаты мясо, рыба, желток яиц, соевая мука, капуста, шпинат.



Фосфатидилхолин

Холин

Холин играет важную роль в обмене веществ. Он является одним из важных соединений, предупреждающих или уменьшающих жировое перерождение печени, а также служит главным источником метильных групп для происходящих в организме реакций метилирования. Потребность взрослого человека в холине составляет 0,5–1,5 г в сутки.

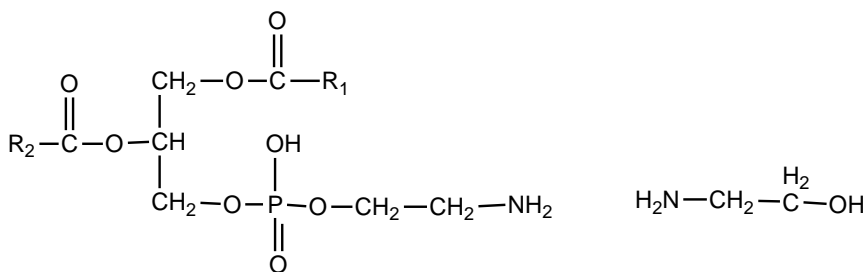
Фосфатидилхолины – твердые, воскоподобные вещества, растворимые в спирте, хлороформе и его смесях с метанолом; плохо растворяются в петролейном эфире. Содержатся в тканях животных, растений, дрожжах, редко – в бактериях. Входят в состав биологических мембран.

В большом количестве фосфатидилхолины содержатся в желтке яиц птиц (4 %), веществе мозга (3–4 %); много их в печени (2 %), бобах сои (2 %), семенах подсолнечника (0,7 %), зародышах пшеницы (0,4 %); найдены в составе липидов молока.

Фосфатидилхолины широко используют при изготовлении шоколада, маргарина, хлеба, мучных изделий, напитков, мороженого; мощных и косметических средств и в качестве веществ,

предохраняющих жиры от окисления и прогоркания; в медицине при лечении заболеваний нервной системы, упадке сил, анемии.

Фосфатидилэтанолamines – это твердые или воскоподобные вещества, растворимые в хлороформе и его смесях с метанолом, пиридине, бутаноле. Полярным соединением у фосфатидилэтанолamines является остаток этаноламина (коламина):

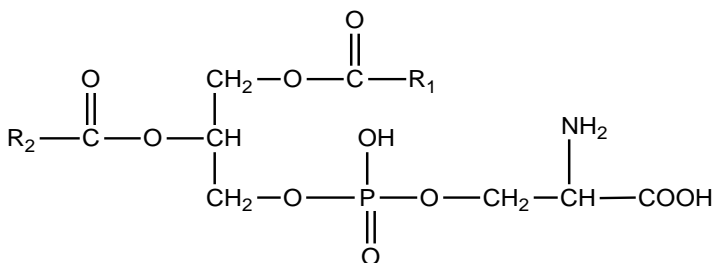


Фосфатидилэтаноламин

Этаноламин

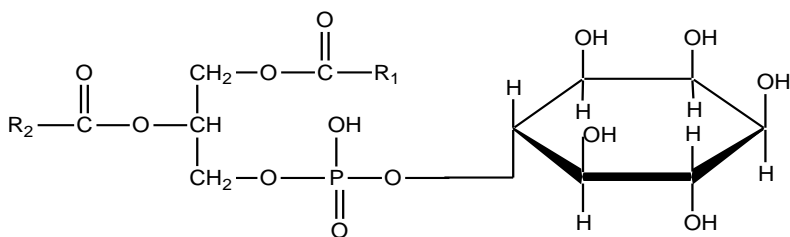
Фосфатидилэтанолamines содержатся в тканях животных, растений и микроорганизмах, причем в растениях и микроорганизмах являются преобладающими глицерофосфолипидами. Вместе с фосфатидилхолинами участвуют в построении биологических мембран.

Фосфатидилсерины очень близки по строению и функциям к двум предыдущим фосфолипидам. Полярной группой у них является серин:



В тканях животных организмов фосфатидилсерины присутствуют в виде солей калия, натрия и магния.

Фосфатидилинозитолы – полярной группой служит шести-углеродный циклический спирт инозит:

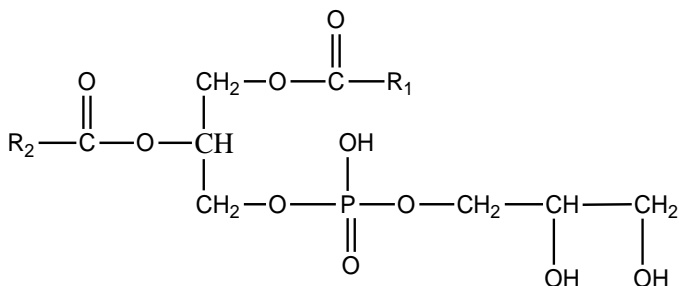


Общая формула строения фосфатидилинозитолов

Фосфатидилинозитолы обнаружены у животных, растений и микроорганизмов. У животных они найдены в сердце, печени, легких, но особенно высоко их содержание в миелиновых оболочках нервных волокон спинного мозга.

Фосфатидилинозитолы представляют интерес как возможные предшественники простагландинов – важнейших регуляторов метаболизма. Особенно важны фосфорилированные производные фосфатидилинозитолов: фосфатидилинозитол-4-фосфат и фосфатидилинозитол-3,4-дифосфат. Они присутствуют в тканях мозга и составляют более половины всех фосфатидилинозитолов.

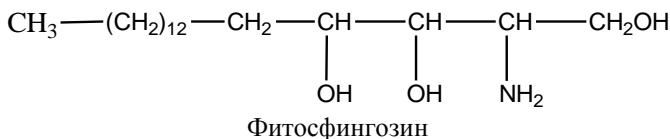
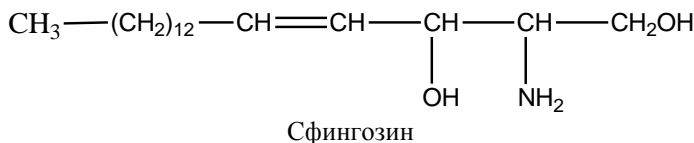
Фосфатидилглицеролы в качестве дополнительного соединения содержат глицерол:



В значительных количествах фосфатидилглицеролы содержатся в некоторых бактериальных мембранах в форме аминокислотных производных. Растения в особенно заметных количествах содержат фосфатидилглицеролы в хлоропластах, где на их долю приходится около 50 % от общего содержания липидов в листьях.

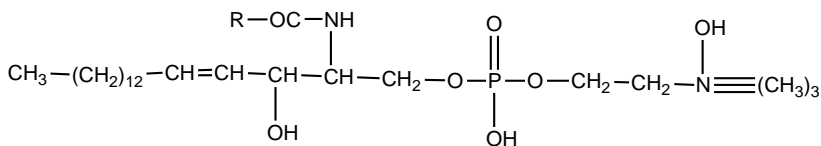
7.4.2. Сфингофосфолипиды

Сфингофосфолипиды отличаются от глицерофосфолипидов тем, что вместо глицерола содержат главные производные аминокислотного спирта сфинганина – *сфингозин* или *фитосфингозин*:



N-ацильные производные сфингозинов, в которых аминогруппа ацилирована жирной кислотой, называют *церамидами*. Остаток высшей жирной кислоты соединен с аминокислотным спиртом пептидной связью. Остальные компоненты сфингофосфолипидов – фосфорная кислота и дополнительное полярное соединение (X-группа) – присоединены так же, как и у глицерофосфолипидов.

Сфингофосфолипиды обнаружены в биологических мембранах животных и растительных клеток. В животных клетках наиболее распространенными сфинголипидами являются *сфингомиелины*. Особенно богата ими нервная ткань, в частности мозг, найдены они в составе липидов крови, молока, тканях печени, почек и других органов. В состав сфингомиелинов входят аминокислотный спирт сфингозин, жирная кислота, фосфорная кислота и холин:



В некоторых сфингомиелинах вместо сфингозина обнаружен аминоспирт дигидросфингозин (восстановленный сфингозин, сфинганин):

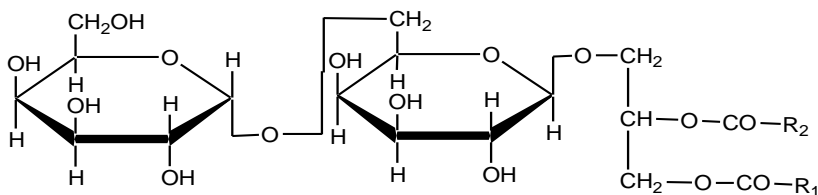
Сфин- $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{14}-\text{CHON}-\text{CHNH}_2-\text{CH}_2\text{OH}$ гофосфоли-
 пида расте- ний в своем
 составе содержат вместо сфингозина аминоспирт фитосфингозин,
 а в качестве дополнительного полярного соединения (X-группа) –
 какой-либо олигосахаридный остаток.

7.5. Гликолипиды

По своему строению *гликолипиды* характеризуются наличием остатков глицерола или производного сфинганина, остатков высших жирных кислот, одного или нескольких моносахаридных остатков. Находятся в тканях животных, растений и микроорганизмах, обнаружены также в крови и молоке. Играют важную роль в функционировании биологических мембран. В зависимости от спиртового компонента среди гликолипидов различают гликозилдиацилглицеролы и гликосфинголипиды.

7.5.1. Гликозилдиацилглицеролы

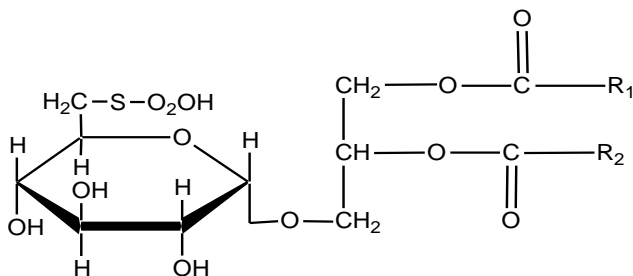
Гликозилдиацилглицеролы в составе молекулы содержат глицерол, этерифицированный остатками двух высших жирных кислот, и одну или несколько молекул моносахаридов. Из высших жирных кислот в этих соединениях обнаружены как насыщенные (например, пальмитиновая), так и ненасыщенные (например, линолевая). В качестве углеводного компонента чаще всего встречаются остатки одной или нескольких молекул D-галактозы. Примером таких гликозилдиацилглицеролов являются моногалактозилдиацилглицеролы и дигалактозилдиацилглицеролы:



Дигалактозилдиацилглицерол

Моно- и дигалактозилдиацилглицеролы содержатся в самых различных растительных тканях (листьях, семенах пшеницы, клубнях картофеля, водорослях и др.) и некоторых бактериях. Они являются главными липидами мембран хлоропластов (органеллы растительной клетки, служащиеместилищем фотосинтезирующего аппарата). В животных тканях эти соединения не обнаружены.

В хлоропластах содержатся также гликозилдиацилглицеролы, состоящие из двух остатков жирных кислот, глицерола и сульфоглюкозы, – *сульфолипиды*:

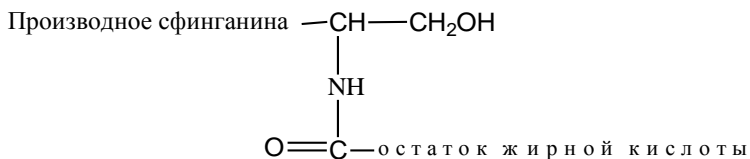


Растительный сульфолипид (сульфонолипид)

Растительные сульфолипиды, так же как и галактолипиды, играют важную роль в структуре и функции мембран хлоропластов.

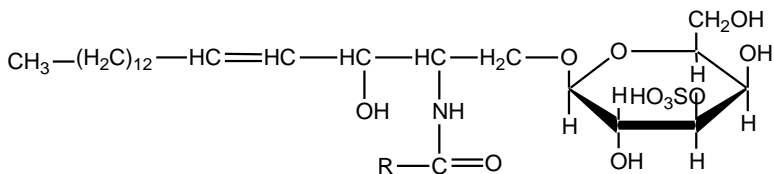
7.5.2. Гликофинголипиды

Гликофинголипиды широко распространены в тканях животных и меньше – в растениях. В состав их молекул входят одно из производных аминок спирта сфинганина (сфингозин, фитосфингозин и др.), высшая жирная кислота, соединенная пептидной связью с этим производным, и один или несколько моносахаридных



Церамид (схема строения)

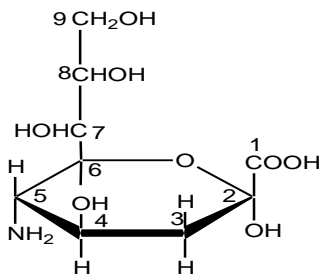
Сульфатиды, как и цереброзиды, являются структурными компонентами биологических мембран белого вещества мозга. Однако содержание их в мозге намного ниже, чем цереброзидов. По строению молекул сульфатиды – это цереброзиды, у которых остаток галактозы этерифицирован в С-3-положении серной кислотой, в связи с чем сульфатиды называют *цереброзидсульфатами*:



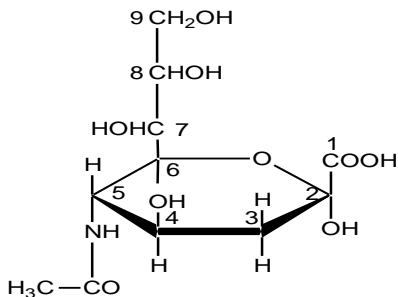
Сульфатид (цереброзидсульфат)

Ганглиозиды обнаружены в большинстве тканей животных организмов, причем в наибольшем количестве – в сером веществе мозга. Они сосредоточены преимущественно на внешней поверхности биологических мембран. Они участвуют в процессе приема сигналов, поступающих в клетки, в контроле и регуляции межклеточных контактов, связывают или инактивируют некоторые бактериальные токсины и выполняют многие другие функции.

Ганглиозиды – сложные соединения, в составе которых обнаружены сфингозин, жирная кислота, D-глюкоза, D-галактоза, N-ацетилглюкозамин, N-ацетилгалактозамин и обязательно N-ацетилнейраминавая кислота, относящаяся к группе сиаловых кислот (ацильных производных нейраминавой кислоты):



Нейраминовая кислота



N-ацетилнейраминовая кислота

Благодаря наличию карбоксильной группы в остатке N-ацетилнейраминовой кислоты все ганглиозиды являются кислыми соединениями.

Моносиалоганглиозид содержит один остаток N-ацетилнейраминовой кислоты (рис. 7.1).



Рис. 7.1. Схема строения моносиалоганглиозида (цифрами обозначены номера углеродов, участвующих в образовании С-О-С-связи между компонентами ганглиозида)

ДИНАМИЧЕСКАЯ БИОХИМИЯ

Глава 8. ВВЕДЕНИЕ В ОБМЕН ВЕЩЕСТВ И ЭНЕРГИИ

8.1. Общие понятия об обмене веществ и энергии

Живой организм (особь, индивидуум, «живое существо») представляет собой сложную самоорганизующуюся и саморегулирующуюся биологическую систему, поддерживающую свое существование посредством постоянно происходящих в нем разнообразных химических реакций. В каждой клетке живого организма протекают сотни и тысячи катализируемых ферментами реакций. Эти реакции, называемые биохимическими, осуществляются в нужном направлении с помощью систем регуляции, обеспечивающих согласованный ход всех биохимических превращений. Совокупность всех биохимических реакций, направленных на поддержание жизненных функций организма (рост, жизнедеятельность, воспроизведение и т.п.), принято называть *обменом веществ и энергии* или *метаболизмом*, различные продукты таких реакций – *метаболитами*. Последовательности биохимических реакций, из которых состоит обмен веществ, называют *метаболическими путями*.

Обмен веществ в целом складывается из двух противоположных типов реакций – *катаболических (катаболизм)* и *анаболических (анаболизм)*, протекающих в клетках одновременно. Катаболизм (диссимиляция) – это ферментативное расщепление крупных молекул (белков, жиров, углеводов и др.), осуществляемое преимущественно посредством реакций гидролиза и окисления. В ходе катаболизма крупные органические молекулы расщепляются до простых веществ, что сопровождается выделением свободной энергии, которая запасается в форме энергии фосфатных связей АТФ, так называемых макроэргических связей (~), аккумулирующих различные виды энергии в виде энергии химических связей, разрыв которых приводит к освобождению энергии. Анаболизм (ассимиляция) – это ферментативный синтез сложных органических веществ из более простых предшественников. Анаболические

реакции происходят за счет энергии, освобождающейся при катаболическом расщеплении молекул углеводов, жиров, белков и других веществ, а в фотосинтезирующих растениях также и за счет световой энергии.

В процессе катаболизма происходит постепенный и многоступенчатый распад сложных органических соединений, который можно разделить на три стадии.

На первой стадии распада крупные молекулы органических соединений расщепляются на свои составные части: белки – на аминокислоты, липиды – на глицерол, жирные кислоты и другие компоненты, полисахариды – на моносахариды, нуклеиновые кислоты – на нуклеотиды.

На второй стадии продукты, образовавшиеся на первой стадии, превращаются в небольшое число более простых молекул. Глицерин, жирные кислоты, моносахариды и многие аминокислоты расщепляются до ацетил-КоА и др.

Остальные аминокислоты при расщеплении образуют следующие соединения: α -кетоглутаровую кислоту, фумаровую кислоту, щавелевоуксусную кислоту, янтарную кислоту.

На третьей стадии продукты, образовавшиеся на второй стадии, аэробно (с участием кислорода) окисляются через цикл трикарбоновых кислот (цикл Кребса, цикл лимонной кислоты), сопряженный с дыхательной цепью ферментов (электронно-транспортная цепь), до углекислого газа и воды.

Анаболизм также протекает в три стадии. На первой стадии анаболизма образуются молекулы-предшественники. На второй стадии эти молекулы превращаются в структурные компоненты (составные части, «строительные блоки») крупных молекул. На третьей стадии анаболизма из соответствующих структурных компонентов синтезируются крупные молекулы (белки, липиды, полисахариды и др.). Например, синтез белков начинается с образования α -кетокислот и других предшественников (первая стадия). На второй стадии образуются α -аминокислоты, из которых на третьей стадии анаболизма синтезируются белки.

Одновременно с превращением веществ в реакциях катаболизма и анаболизма происходит выделение и потребление энергии. Освобождение химической энергии на разных стадиях катаболизма происходит в неодинаковой степени. На первой стадии

катаболизма освобождается менее 1 % химической энергии, на второй стадии – около 1/3, а на третьей – около 2/3 общего количества химической энергии, заключенной в органических соединениях. Около 40–50 % энергии, выделившейся при реакциях второй и третьей стадий катаболизма, рассеивается в виде тепла. Остальные 50–60 % запасаются в организме в форме энергии фосфатных связей АТФ. Эта энергия в дальнейшем используется для реакций анаболизма и других процессов жизнедеятельности организма.

Для поддержания жизни каждый организм нуждается в постоянном притоке веществ и энергии. Процесс поступления веществ и энергии в организм называют *питанием*. Вещества, необходимые для жизни организма, называются *питательными веществами*.

Живые организмы в соответствии с природой необходимых им питательных веществ можно разделить на две группы: *автотрофные* и *гетеротрофные* организмы.

Автотрофные организмы нуждаются только в простых питательных (неорганических) веществах; из них они синтезируют все сложные органические молекулы, необходимые для их роста и воспроизводства. Гетеротрофные организмы нуждаются для питания в сложных органических веществах.

Все зеленые высшие растения автотрофны. Питательными веществами для них служат микроэлементы, диоксид углерода, вода, нитрат-ионы, сульфат-ионы, фосфат-ионы и др. Эти неорганические соединения поставляют растению углерод, азот, кислород, водород, серу и фосфор, из которых построено большинство компонентов тканей (белки, липиды, углеводы, нуклеиновые кислоты и другие). Первоисточниками энергии для синтеза органических веществ растениями служат определенные кванты солнечного света.

Следует подчеркнуть, что не все клетки зеленого растения автотрофны. Например, клетки листа – автотрофны, клетки корней и клубней, семян – гетеротрофны. Более того, на свету клетки листьев автотрофны, а в темноте они ведут себя как гетеротрофы. В период прорастания семян росток питается гетеротрофно за счет накопленного в них запаса органических веществ.

Известный русский микробиолог С.Н. Виноградский показал, что органические вещества в природе синтезируются не только путем фотосинтеза в зеленых растениях, но и бактериями, не содержащими хлорофилла. Этот процесс называется хемосинтезом (гетеротрофная фиксация CO_2). Энергию, необходимую для синтеза органических веществ из неорганических, эти бактерии получают при окислении различных химических элементов: Fe, N, S, H, Sb, Mn. Некоторые хемосинтетики используют в качестве донора водорода простейшие органические вещества: метан, метанол и др.

Исследование химизма ассимиляции меченого оксида углерода (IV) ($^{14}\text{CO}_2$) различными хемосинтезирующими бактериями показало, что первым стойким продуктом хемосинтеза является фосfogлицериновая кислота, а CO_2 присоединяется к рибулозобисфосфату, т.е. цикл Кальвина – основной механизм ассимиляции CO_2 . У многих хемосинтезирующих бактерий цикл Кальвина главный, но не единственный путь образования органических веществ.

Таким образом, процессы фотосинтеза и хемосинтеза – источник органического вещества на Земле.

Животные организмы гетеротрофны; они получают углерод, азот, кислород, водород, серу и фосфор, а также энергию из готовых органических молекул, составляющих их пищу. В состав пищи человека и животных входят белки, жиры, углеводы, минеральные вещества и другие жизненно важные компоненты. Чтобы пищевой рацион человека был адекватным и сбалансированным, соотношение белков, жиров и углеводов по массе в нем должно быть 1:1:4.

Суточная потребность в энергии взрослого человека зависит от возраста, интенсивности выполняемой работы, физиологического состояния организма и колеблется в пределах 2500–4000 килокалорий (ккал). Например, для взрослого человека при средней по утомляемости работе (механизированный труд) требуется суточный рацион в 3000 ккал.

В суточном рационе человека 15 % калорийности должно удовлетворяться за счет белков, 30 % – за счет жиров и 55 % – за счет углеводов. При этом из общего количества белков не менее половины должны составлять белки животного происхождения;

из общего количества жиров 75–80 % должны составлять жиры животного происхождения и 20–25 % – жиры растительного происхождения.

В организме человека в среднем при окислении 1 г белков выделяется 4,1 ккал (17,2 кДж), 1 г жиров – 9,3 ккал (38,9 кДж) и 1 г углеводов – 4,1 ккал (17,2 кДж). При расчете энергетической ценности выпускаемых промышленностью пищевых продуктов условно принимают, что при окислении в организме 1 г белков и 1 г углеводов выделяется по 4 ккал, 1 г жира – 9 ккал.

8.2. Термодинамика (энергетика) биохимических процессов

8.2.1. Предмет и терминология

Термодинамика, называемая иногда *энергетикой*, – это наука о теплоте и ее превращениях. Она изучает не только соотношения между теплотой и механической работой, но и соотношения теплоты и других форм энергии (электрической, химической, лучистой). Применение термодинамики к химическим процессам составляет предмет *химической термодинамики*.

Химическая термодинамика изучает химические реакции и физико-химические процессы с помощью термодинамических методов; она исследует возможности, направление, предел самопроизвольного протекания химического процесса в данных условиях и условиях равновесия химических реакций. Термодинамические представления применяются и в исследованиях живых организмов. Область науки, занимающаяся изучением трансформации энергии в живых организмах, называется *биоэнергетикой*.

С помощью термодинамики можно предсказать максимальную работу, которую можно получить в определенном процессе, определить состояние равновесия, максимально возможные выходы, оптимальную температуру и давление для данной реакции, выбрать наиболее подходящий растворитель и т.д. Термодинамика может ответить на вопрос о том, будет ли данная химическая реакция протекать преимущественно в желаемом направлении, но она ничего не может сказать о том, какое время требуется для этого или каков путь (механизм), по которому пойдет данная ре-

акция. Скорость и механизмы реакций рассматривает *кинетика*. Термодинамика изучает в основном конечные, то есть равновесные, состояния, тогда как кинетика – промежуточные.

В термодинамике, как и в других научных дисциплинах, имеются свои понятия, термины и величины. Рассмотрим важнейшие из них.

Система (термодинамическая система) – совокупность материальных объектов, ограниченных каким-либо образом от окружающей среды и обеспечивающих протекание данного химического или физического процесса. Все лежащее за пределами интересующей нас системы называют *окружающей средой* (внешнее окружение). Совокупность системы и окружающей среды в термодинамике называют *вселенной*. Для примера рассмотрим помещенную в термостат колбу с раствором. Раствор в колбе – система; колба, термостат и все остальное – окружающая среда (внешнее окружение). Термодинамической системой могут быть растительный или животный организм в целом, отдельная клетка живого организма, реагирующие друг с другом вещества и т.п.

В зависимости от характера взаимодействия с окружающей средой термодинамические системы делятся на три типа: изолированные, замкнутые, открытые. *Изолированная* система не обменивается с окружающей средой ни веществами, ни энергией. *Замкнутая (закрытая)* система может обмениваться с окружающей средой энергией, но не может обмениваться веществами. *Открытая* система обменивается с окружающей средой и энергией и веществами. Систему вода – пар, ограниченную стенками сосуда Дьюара, можно с некоторой степенью приближения считать изолированной системой, поскольку ее теплообмен с окружающей средой и растворимость материала стенок сосуда в воде незначительны. Живые организмы и их клетки являются открытыми термодинамическими системами.

Состояние системы определяется совокупностью ее свойств и описывается *параметрами* состояния (температура, объем, давление и др.). Изменение какой-либо из этих величин указывает на изменение состояния системы.

Состояние системы, при котором воздействие системы на окружающее пространство такое же, как и действие последнего на систему, называют *термодинамическим равновесием*. При

термодинамическом равновесии взаимное действие отдельных частей внутри системы также уравновешено. Процессы, протекающие в живых организмах, никогда не достигают состояния истинного термодинамического равновесия.

Переход системы из одного состояния в другое, то есть изменение любого из параметров, описывающих состояние системы, называется *термодинамическим процессом*. Термодинамические процессы могут быть *обратимыми* и *необратимыми*. В случае обратимости процесса возможно возвращение системы к исходным параметрам через те же промежуточные равновесные состояния, по которым совершался процесс в прямом направлении. Процессы, протекающие в живых организмах, являются необратимыми. Обратимые и необратимые процессы, протекающие при постоянной температуре, называются *изотермическими*, при постоянном давлении – *изобарическими* и при постоянном объеме – *изохорическими*.

Количественной мерой определенного вида движения материи при ее превращениях из одного вида в другой служит *энергия*. Являясь характеристикой движения материи, энергия всегда определяет способность системы совершать работу. Различают несколько видов энергии.

Механическая энергия – форма энергии, характеризующая движение макротел и способность совершать механическую работу по перемещению макротел. Эта энергия разделяется на кинетическую, определяющую скорость движения тел, и потенциальную, определяющую расположение макротел относительно друг друга.

Тепловая энергия представляет собой сумму кинетической энергии хаотического теплового движения всех атомов и молекул вещества. Показателем теплового движения частиц является температура.

Химическая энергия – это энергия взаимодействия атомов в молекуле.

Электрическая энергия – энергия взаимодействия электрически заряженных частиц, вызывающая движение этих частиц в электрическом поле.

Энергетические превращения в живых организмах происходят в основном в пределах описанных четырех видов энергии.

Исследования по взаимным превращениям различных форм энергии позволили сформулировать фундаментальные законы (начала) термодинамики. Для объяснений трансформации энергии в живых организмах важное значение имеют первый и второй законы термодинамики.

8.2.2. Первый закон (начало) термодинамики

Первый закон термодинамики широко известен как закон сохранения энергии. Он формулируется следующим образом: *если в изолированной системе протекает какой-либо процесс, полная энергия системы остается постоянной; если в неизолированной системе протекает процесс, связанный с обменом энергии между системой и окружающей средой, изменение энергии системы, не считая знака, точно равно изменению энергии окружающей среды.* Из этого закона следует, что невозможно существование изолированной системы, энергия которой возрастала бы в результате протекающих в ней процессов. Нельзя сконструировать устройство для получения энергии из ничего.

Первый закон термодинамики справедлив и для живых организмов. Специальными опытами, проведенными на человеке и животных, было установлено, что количество энергии, поглощенное за сутки животным организмом вместе с питательными веществами, равно выделенной за это время теплоте. Следовательно, сами по себе живые организмы не являются независимыми источниками какой-либо новой формы энергии.

Первичным источником энергии в животном организме для производства всех видов работы является химическая энергия пищевых веществ (белков, жиров, углеводов), выделяющаяся при их окислении. Для растений первичным источником энергии является энергия солнечного света, запасаемая в процессе фотосинтеза. Эта же энергия используется и животными организмами, поедаящими растения.

Обмен энергией между системами или между системой и окружающей средой может осуществляться в форме работы или тепла. Под работой, которую одна система передает другой, в термодинамике чаще всего подразумевается механическая, но

это может быть также и работа электрическая, химическая, магнитная и т.п.

Математически первый закон термодинамики выражается уравнением

$$\Delta U = Q + A.$$

Словесная формулировка этого уравнения будет следующая: *изменение внутренней энергии системы (ΔU) равно алгебраической сумме тепла (Q), переданного в процессе, и совершенной работы (A).*

Внутренняя энергия (U) представляет собой сумму всех видов энергии системы (механической, тепловой, химической, электрической и пр.). Абсолютная величина внутренней энергии системы измерению не поддается, но можно определить изменение внутренней энергии (ΔU) при переходе из одного состояния (U_1) в другое (U_2):

$$\Delta U = U_2 - U_1.$$

Согласно закону сохранения энергии количество внутренней энергии системы связано только с состоянием системы в данный момент, а это значит, что если система переходит из одного состояния в другое, то изменение внутренней энергии не зависит от пути осуществления этого перехода, а лишь зависит от начального и конечного термодинамического состояния системы ($\Delta U = U_2 - U_1$).

Другими словами, изменяем ли мы энергию сразу или постепенно в несколько стадий, прямым или косвенным путем, величина ΔU остается постоянной.

Химические реакции и процессы часто сопровождаются поглощением или выделением тепла, которое согласно первому закону термодинамики может служить мерой изменения внутренней энергии системы ($\Delta U = Q$). Например, тепло, поглощенное системой внутри *калориметрической бомбы* при постоянном объеме (Q_v), является прямой мерой изменения внутренней энергии ($Q_v = \Delta U$).

Чтобы измерить ΔU при сгорании химического вещества, нужно поместить это вещество в калориметрическую бомбу вместе с газообразным кислородом и поджечь смесь с помощью электрической искры. В этом случае бомба будет выделять в окружающую среду тепло. Калориметр позволяет измерить Q_v и, следовательно, ΔU в ходе реакции.

Химические и биохимические реакции значительно чаще протекают при постоянном давлении (обычно равном атмосферному), чем при постоянном объеме. Поэтому для упрощения расчета изобарических процессов была введена функция состояния термодинамической системы, называемая *энтальпией* (*теплосодержанием*). Энтальпия (H) системы равна сумме ее внутренней энергии и произведения объема (V) на давление (P):

$$H = U + PV.$$

Обычно определяют не абсолютную величину энтальпии, а ее изменение в результате процесса или реакции, которое выражают уравнением

$$\Delta H = \Delta U + P\Delta V.$$

Как правило, энтальпию относят к одному молю вещества и выражают Дж \cdot моль⁻¹.

При биохимических реакциях изменение объема чаще всего бывает незначительно, величина $P\Delta V$ тоже мала и ей обычно пренебрегают, принимая $\Delta H = \Delta U$, то есть изменение энтальпии практически равно изменению внутренней энергии системы.

Принято, что положительное значение энтальпии ($+\Delta H$) указывает на поглощение тепла в ходе процесса или реакции, а отрицательное ($-\Delta H$) – на его выделение. Если термодинамический эффект реакции характеризуют через величину тепловой энергии Q , то знаки меняют на противоположные. Следовательно, если в результате реакции происходит выделение тепла ($+Q$), то энтальпия системы уменьшается, а при его поглощении из внешней среды ($-Q$) она увеличивается. Реакции, при которых происходит выде-

ление тепла, называют *экзотермическими*, а те, при которых тепло поглощается из внешней среды, – *эндотермическими*.

Энтальпия, подобно внутренней энергии, является функцией состояния, ее изменение зависит только от начального и конечного состояния системы, а не от путей перехода или последовательности химических реакций. Это правило, называемое *правилом Гесса*, позволяет вычислить тепловые эффекты таких химических и биохимических превращений, для которых известны только исходные соединения и конечные продукты, а промежуточные стадии еще не исследованы.

Если внутренняя энергия вещества, находящегося в изолированной системе, полностью превращается в тепловую и при этом система не совершает никакой работы, то эту энергию можно определить по количеству выделившегося тепла, то есть по теплоте сгорания. Теплота сгорания имеет важное значение как для химиков, так и для биохимиков из-за известной аналогии между химическим процессом горения и окислением веществ в живых организмах. Теплоту сгорания определяют при помощи особого прибора – калориметрической бомбы.

Теплота сгорания некоторых соединений, имеющих важное биохимическое значение ($\text{кДж} \cdot \text{моль}^{-1}$), представлена в табл. 8.1.

Таблица 8.1

Теплота сгорания некоторых соединений, $\text{кДж} \cdot \text{моль}^{-1}$

Аланин	1634	Пальмитиновая кислота	9796
Глицерин	1663	Пировиноградная кислота	1144
Галактоза	2807	Сахароза	5661
Глюкоза	2807	Стеариновая кислота	11 359
Лактоза	5661	Этиловый спирт	1379
Мальтоза	5661	Янтарная кислота	1492

8.2.3. Второй закон (начало) термодинамики

Первый закон термодинамики устанавливает эквивалентные соотношения между изменением внутренней энергии системы, поглощаемой ею теплотой и произведенной работой. Он

утверждает, что энергия может превращаться из одной формы в другую, но не может возникать или исчезать. Однако этот закон ничего не говорит о том, будет ли происходить то или иное событие и в каком направлении могут идти изменения в системе. На этот вопрос дает ответ второй закон термодинамики, смысл которого заключается в том, что все процессы превращения энергии протекают с рассеиванием части энергии в виде тепла. Это рассеивание энергии является необратимым, так как тепловая энергия – это наиболее деградированный вид энергии, обусловленный хаотическим (беспорядочным) движением микрочастиц.

Существует несколько эквивалентных формулировок второго закона, из которых приводим формулировку по Льюису: *каждый спонтанно протекающий процесс способен совершать работу; для обращения такого процесса необходимо затратить работу*. Следовательно, если в системе совершилась работа, то для того, чтобы вернуть систему в исходное состояние, необходимо ввести энергию извне, поскольку часть первоначальной энергии необратимо перешла в тепло.

Возможность прогнозировать протекания термодинамических процессов, их направление и предел могут такие параметры состояния, как *свободная энергия и энтропия*.

Свободная энергия (G) – это та часть внутренней энергии системы, которая может быть использована для совершения работы.

Энтропия (S) означает «внутреннее изменение» или «внутреннее превращение» – это упорядоченность системы, которая в различных случаях может проявляться по-разному; это мера рассеивания, деградации энергии, а также мера необратимости. Низкая энтропия соответствует высокой степени структурной организации; увеличение энтропии соответствует увеличению разупорядоченности (беспорядка).

Энтропия – это показатель состояния системы. Она представляет собой отношение Q/T , где T – абсолютная температура. Для того чтобы узнать, может ли данная обратимая реакция протекать в закрытой системе, необходимо прежде всего определить величину Q/T данной реакции или данного превращения. Если энтропия положительна ($Q/T > 0$), то реакция может протекать самопроизвольно; если $Q/T = 0$, то система находится в равновесии, а если отношение $Q/T < 0$, то в закрытой системе процесс

может протекать лишь в обратном направлении. Все вещества обладают энтропией (табл. 8.2).

Таблица 8.2

Величина энтропии ($\text{кДж}\cdot\text{моль}^{-1}\cdot\text{град}^{-1}$)
некоторых веществ при 298,15 °К

Вещество	Q/T	Вещество	Q/T
Вода (ж)	70	Аспарагин (тв)	175
Вода (г)	189	Глицерин (тв)	109
Водород (атом, г)	114	Мочевина (тв)	145
Водород (молекула, г)	131	Сахароза (тв)	360
Глюкоза (тв)	212	Уксусная кислота (ж)	159
Диоксид углерода (г)	241	Фумаровая кислота (тв)	166
Кислород (молекула, г)	205	Этанол (ж)	159

Значение величин энтропии позволяет производить энергетическую характеристику различных химических и биологических процессов. Например, при окислении моля глюкозы образуется шесть молей диоксида углерода и шесть молей воды, суммарная энтропия которых (см. табл. 8.2) превышает энтропию моля глюкозы. Следовательно, при окислении глюкозы происходит возрастание энтропии, обесценивание энергии.

В обратимом изотермическом процессе изменение энтропии равно тепловому эффекту процесса, деленному на абсолютную температуру: $\Delta S = \Delta Q/T$. При самопроизвольных превращениях в закрытых системах энтропия возрастает ($\Delta S > 0$); в системах, находящихся в состоянии равновесия, $\Delta S = 0$.

Живые организмы представляют собой открытые термодинамические системы; реакции обмена веществ в них никогда не достигают состояния истинного равновесия. Равновесие – это смерть для всего живого. Жизнь – это устойчивое динамическое неравновесие и упорядоченное состояние вещества.

Термодинамическое состояние живого организма можно охарактеризовать как стационарное, когда притоку веществ и энергии в клетку соответствует определенная скорость их оттока. Исходя из этого второй закон термодинамики применительно к живым организмам может быть сформулирован следую-

шим образом: *при любом процессе сумма изменения энтропии системы и окружающей среды должна быть положительной* ($\Delta S_{\text{сист.}} + S_{\text{среды}} > 0$). В самой системе энтропия может убывать, но этот процесс должен сопровождаться повышением энтропии окружающей среды, приводящим к возрастанию суммарной энтропии. Таким образом, живые организмы создают и поддерживают присущую им упорядоченность за счет внешней среды, степень упорядоченности которой в результате этого уменьшается.

Изменения свободной энергии, энтальпии и энтропии в химических реакциях, протекающих при постоянной температуре и постоянном давлении, то есть в условиях, характерных именно для биологических систем, количественно связаны друг с другом следующим уравнением:

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

где ΔG – изменение свободной энергии системы (изменение химического потенциала); ΔH – изменение ее энтальпии; T – абсолютная температура, при которой протекает процесс; ΔS – изменение энтропии.

В честь американского физика свободную энергию называют также свободной энергией Гиббса. Если значение ΔG данной реакции отрицательное, то реакция может протекать самопроизвольно (спонтанно); если $\Delta G = 0$, то система находится в равновесии, а если ΔG положительное, то для осуществления реакции необходимо затратить какое-то количество энергии.

Реакции и процессы, при которых происходит уменьшение свободной энергии ($\Delta G < 0$), называются *экзергоническими*. Такие реакции обычно сопровождаются выделением тепла, то есть переходом части химической энергии в тепловую энергию. Экзергонические реакции, например окисление, сопровождаются возрастанием энтропии. Реакции и процессы, идущие с увеличением свободной энергии ($\Delta G > 0$), называются *эндергоническими* и могут совершаться только при поглощении энергии извне. Обычно они сопровождаются поглощением тепла.

Изменение свободной энергии зависит не только от изменения внутренней энергии и энтропии, но и от температуры и концентрации реагирующих веществ. Поэтому в биохимии расчет ве-

личины ΔG проводят для определенных, стандартных условий, когда концентрация реагирующих веществ составляет 1 моль/л, температура 25 °С (298,15 °К). Величину ΔG данной реакции для данных условий обозначают символом ΔG° и называют *стандартным изменением свободной энергии, или стандартным изменением химического потенциала*.

Величина ΔG° зависит от рН среды, так как с изменением рН меняется соотношение ионизированных и неионизированных форм того вещества, которое подвергается превращению. От рН зависит степень ионизации и многих других компонентов клетки. В биохимической энергетике в качестве стандартного принимается рН 7,0, что примерно соответствует концентрации водородных ионов в клетке. Изменение стандартной свободной энергии при рН 7,0 обозначают символом ΔG° (табл. 8.3).

Таблица 8.3

Величина ΔG° (кДж·моль⁻¹) некоторых биохимических реакций при рН 7,0 и температуре 25 °С

Реакция	ΔG°
Глицерол-1-фосфат + H ₂ O → Глицерол + H ₃ PO ₄	-9
Глюкозо-6-фосфат + H ₂ O → Глюкоза + H ₃ PO ₄	-14
Фруктозо-6-фосфат + H ₂ O → Фруктоза + H ₃ PO ₄	-16
Лактоза + H ₂ O → Глюкоза + Галактоза	-16
Мальтоза + H ₂ O → Глюкоза + Глюкоза	-15
Глюкозо-1-фосфат → Глюкозо-6-фосфат	-7
Глюкоза + 6 O ₂ → 6 CO ₂ + 6 H ₂ O	-2874
Пальмитиновая кислота + 23 O ₂ → 16 CO ₂ + 16 H ₂ O	-9796

8.2.4. Принципы расчетов изменения свободной энергии

Обобщая материал по принципам расчета ΔG° , Б.П. Плешков (1987) обращает внимание на то, что это вычисление можно проводить разными методами. Выбор метода зависит от имеющихся данных.

Наиболее просто значение ΔG° рассчитывается по величинам констант равновесия химических реакций. Зависимость ΔG° от константы равновесия реакции в общем виде выражается следующими уравнениями:

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K'_{eq}, \text{ или } \Delta G^\circ = -RT \ln K'_{eq} \cdot 2,303,$$

где R – универсальная газовая постоянная ($8,31 \text{ Дж} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{град}^{-1}$); T – абсолютная температура ($298,15 \text{ }^\circ\text{K}$); K'_{eq} – константа равновесия реакции при $\text{pH} = 7,0$.

На основании этой формулы определим, может ли протекать самопроизвольно катализируемая ферментом фосфоглюкомутазой реакция превращения глюкозо-1-фосфата в глюкозо-6-фосфат. Константа равновесия этой реакции при $\text{pH} = 7,0$ и температуре $25 \text{ }^\circ\text{C}$ равна 19. Подставив числовые значения в приведенное выше уравнение, получим, что при $\text{pH} = 7,0$ $\Delta G^\circ = -7 \text{ кДж} \cdot \text{моль}^{-1}$. Изменение стандартной свободной энергии в этой реакции имеет отрицательное значение, в стандартных условиях реакция превращения глюкозо-1-фосфата в глюкозо-6-фосфат под действием фермента фосфоглюкомутазы протекает самопроизвольно.

Важно напомнить, что константа равновесия выражается отношением произведения молярных концентраций продуктов реакции к произведению молярных концентраций исходных соединений в момент достижения равновесия. Также известно, что ферменты (равно и другие катализаторы) не смещают равновесия реакции, а лишь изменяют ее скорость. Поэтому константы равновесия в присутствии катализаторов не изменяются. Однако значения ΔG° в зависимости от величины константы равновесия изменяются весьма значительно. Во всех случаях, когда $K'_{eq} > 1$, значение ΔG° будет отрицательным и реакция может протекать самопроизвольно (в прямом направлении); при $K'_{eq} < 1$ значение ΔG° положительное и самопроизвольно будет протекать обратная реакция, а для прямой реакции необходима доставка энергии за счет какого-либо источника.

Многие биохимические реакции и процессы сопровождаются переносом электронов, в результате чего изменяются окислительно-восстановительные потенциалы реагирующих систем и величины этих изменений можно измерить. Для вычисления ве-

личины стандартного изменения свободной энергии реакции, когда взаимодействуют между собой две окислительно-восстановительные пары с известными стандартными окислительно-восстановительными потенциалами, используют следующее уравнение:

$$\Delta G^\circ = -nF\Delta E_o',$$

где ΔG° – стандартное изменение свободной энергии; n – число переносимых электронов в результате реакции; F – число Фарадея (96 406 Дж·В⁻¹); $\Delta E_o'$ – разность стандартных окислительно-восстановительных потенциалов акцептора и донора электронов.

При расчете величины изменения стандартной свободной энергии переноса пары электронов от восстановленного НАД·Н₂ ($E_o' = -0,32$ В) на молекулярный кислород ($E_o' = 0,82$ В) через всю систему переносчиков, называемую дыхательной цепью, уравнение имеет вид:

$$\Delta G^\circ = -2 \cdot 96\,406 \cdot [0,82 - (-0,32)] = -220 \text{ кДж} \cdot \text{моль}^{-1}.$$

Таким образом, процесс переноса электронов через дыхательную цепь сопровождается большим уменьшением свободной энергии.

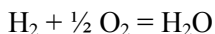
Для определения величины ΔG° используют расчеты, основанные на изменениях энтальпии и энтропии в результате реакции. К настоящему времени определены энтропии многих веществ в стандартном состоянии (S°), то есть при 298,15 °К, а также изменение энтальпии (ΔH) при реакциях образования данного соединения из простых веществ, когда каждое из этих веществ находится в стандартном состоянии.

Изменение стандартной энергии исходя из этих данных рассчитывают по формуле

$$\Delta G^\circ = \Delta H^\circ - T\Delta S^\circ,$$

где $\Delta H^\circ = \Delta H^\circ_{\text{продуктов}} - \Delta H^\circ_{\text{реагентов}}$ и $\Delta S^\circ = \Delta S^\circ_{\text{продуктов}} - \Delta S^\circ_{\text{реагентов}}$.

Для примера рассчитаем ΔG° для реакции соединения водорода с кислородом в процессе клеточного (тканевого) дыхания:



При температуре $25\text{ }^\circ\text{C}$ $T = 298,15\text{ }^\circ\text{K}$, $\Delta H^\circ = -286\text{ кДж} \cdot \text{моль}^{-1}$, $\Delta S^\circ = -163\text{ Дж} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{град}^{-1}$, отсюда

$$\Delta G^\circ = -286\text{ кДж} - (-49\text{ кДж}) = -235\text{ кДж} \cdot \text{моль}^{-1}.$$

Следовательно, процесс окисления моля водорода половиной моля кислорода при клеточном дыхании сопровождается значительным уменьшением свободной энергии. Таким образом, расчеты ΔG° , основанные на изменениях окислительно-восстановительных потенциалов и на изменениях энтальпии и энтропии для одного и того же процесса соединения водорода с кислородом при дыхании, показали одну и ту же закономерность – значительное уменьшение свободной энергии.

Условия в живой клетке отличаются от стандартных. Концентрация реагирующих веществ в ней обычно меньше, чем 1 моль/л, давление разнится от атмосферного, температура отличается от $25\text{ }^\circ\text{C}$. Отсюда следует, что при физиологических условиях, характерных для живой клетки, значение ΔG° будет значительно меньше, чем при стандартных условиях; возможности самопроизвольных превращений при относительно низких концентрациях веществ по сравнению со стандартными условиями значительно больше.

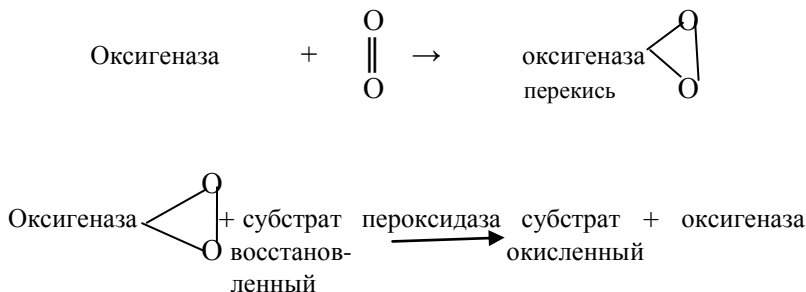
8.3. Биологическое окисление

Под *биологическим окислением* понимают совокупность окислительно-восстановительных реакций, протекающих в живых организмах при участии ферментов. Его основная функция – обеспечение организма энергией, необходимой для жизнедеятельности.

В настоящее время представление о биологическом окислении основывается на классических теориях так называемой активации кислорода А.Н. Баха и О. Варбурга и активации водорода В.И. Палладина и Г. Виланда.

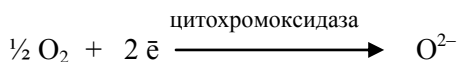
А.Н. Бах полагал, что молекулярный кислород вступает в реакцию с легко окисляемым соединением с образованием перекисей (кислород активируется). Затем происходит перенос актив-

ного кислорода с перекиси на другие молекулы, не реагирующие с молекулярным кислородом. Он считал, что в этом процессе принимает участие система ферментов, состоящая из оксигеназы и пероксидазы. Процесс можно представить следующим образом:



Теория А.Н. Баха известна также под названием «перекисной теории окисления».

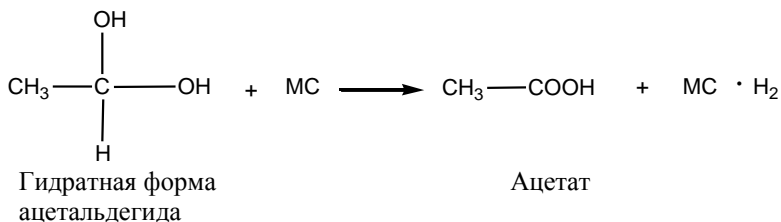
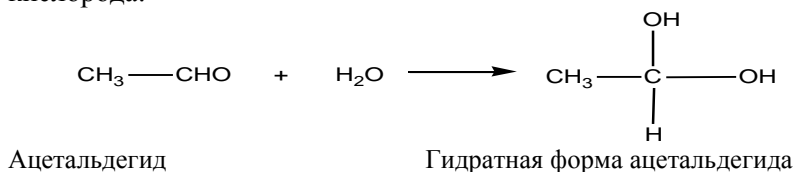
О. Варбург, открывший фермент цитохромоксидазу («дыхательный фермент Варбурга»), показал, что активирование кислорода происходит не за счет образования перекисей, а путем переноса на него электронов (\bar{e}):



Именно цитохромоксидаза оказалась тем ферментов, который активирует кислород. Однако теория «активации» кислорода не может объяснить биологическое окисление у организмов, живущих без кислорода.

Принципиально иной подход к расшифровке механизмов реакции биологического окисления был сделан В.И. Палладиным, а вслед за ним Г. Виландом. В.И. Палладин впервые высказал идею о том, что биологическое окисление – процесс переноса водорода от окисляемого вещества на кислород или другое соединение, т.е. окисление может происходить и без участия кислорода. Г. Виланд подтвердил теорию В.И. Палладина на примере окисления этанола в ацетальдегид, а последнего в ацетат, по-

казав, что окисление идет путем дегидрирования при отсутствии кислорода:



где MC – метиленовая синь (соединение синего цвета); MC·H₂ – восстановленная форма метиленовой сини (бесцветное соединение).

Теория «активации» водорода В.И. Палладина и Г. Виланда, суть которой состоит в дегидрировании субстратов, положена в основу современного понимания механизма биологического окисления.

Под *окислением* понимают реакции, в результате которых происходит отдача электронов (ē) или одновременно электронов и протонов (атомов водорода) либо присоединение кислорода. Обычно окисляемый субстрат рассматривают как донор водорода или электронов. Процесс, обратимый окислению, называют *восстановлением*. Вещества, способные присоединять электроны (либо электроны и протоны), называют *окислителями*, а вещества, способные отдавать электроны (либо электроны и протоны), называют *восстановителями*.

В биохимии для обозначения передаваемого от донора к акцептору одного электронного эквивалента (электрона либо электрона и протона и др.) часто используют термин *восстановительный эквивалент*.

Биологическое окисление в основном осуществляется путем дегидрирования, катализируемого ферментами дегидрогеназами. Отнятый от субстрата (донора) водород передается к акцептору.

Если роль акцептора выполняет любое соединение, кроме кислорода, то имеет место *анаэробное* окисление; если акцептором водорода служит кислород, то биологическое окисление называют *аэробным* окислением или *тканевым* (клеточным) дыханием.

Конечными продуктами тканевого дыхания при окислении жиров и углеводов являются диоксид углерода и вода, а белков – диоксид углерода, вода и мочеви́на. Первичными субстратами биологического окисления служат аминокислоты, моносахариды, жирные кислоты, спирты, азотистые основания и другие продукты, образовавшиеся в результате ферментативного гидролиза белков, углеводов, липидов, нуклеиновых кислот.

Аэробное окисление, сопряженное с производством в организме энергии, почти во всех клетках проходит в три стадии.

На первой стадии из первичных субстратов биологического окисления – глюкозы, жирных кислот, глицерина и аминокислот – образуется ацетилкофермент-А (ацетил-КоА).

На второй стадии происходит окисление ацетильной группы ацетил-КоА в цикле лимонной кислоты (цикл Кребса, цикл дикарбоновых и трикарбоновых кислот) с образованием CO_2 (путем декарбоксилирования) и атомов водорода, улавливаемых в форме восстановленных коферментов (никотин- и флави́нзависимых дегидрогеназ) $\text{НАД}\cdot\text{H}_2$ ($\text{НАДФ}\cdot\text{H}_2$) и $\text{ФАД}\cdot\text{H}_2$.

Третья стадия включает перенос атомов водорода (электронов и протонов) от $\text{НАД}\cdot\text{H}_2$ ($\text{НАДФ}\cdot\text{H}_2$) и $\text{ФАД}\cdot\text{H}_2$ по дыхательной цепи, состоящей из системы окислительно-восстановительных ферментов, на кислород с образованием воды и энергии.

Процесс биологического окисления тесно связан с другой жизненно важной функцией организма, называемой *дыханием*. Под дыханием понимают совокупность физиологических и биохимических процессов, при которых окисление органических веществ приводит к выделению химической энергии. Когда дыхание протекает в клетках, его называют *внутренним*, *тканевым* или *клеточным*. Если для него требуется кислород, то дыхание называют *аэробным*; если же реакции идут в отсутствие кислорода, то имеет место *анаэробное дыхание*.

Тканевое дыхание следует отличать от внешнего дыхания. Под *внешним дыханием* или *газообменом* понимают процессы по-

глошения кислорода из окружающей среды и выделения в нее диоксида углерода.

Интенсивность газообмена характеризуется величиной *дыхательного коэффициента*, под которым понимают отношение объема диоксида углерода, выделяемого при дыхании, к объему поглощенного за то же время кислорода. Дыхательный коэффициент зависит от химической природы дыхательного субстрата (окисляемого вещества или субстратов окисления) и некоторых других факторов. При окислении углеводов он равен единице. При окислении других субстратов он может быть меньше или больше единицы.

Глава 9. ОБМЕН УГЛЕВОДОВ

9.1. Роль углеводов в обмене и питании

Углеводы – важнейший класс природных органических соединений, наиболее распространенных в растениях. На их долю приходится до 90 % сухого вещества растительных организмов. У животных углеводы составляют около 2 % массы тела.

В живых организмах углеводы выполняют самые разнообразные функции.

Энергетическая. Окисляясь, углеводы (глюкоза) обеспечивают большую часть потребности клеток животных, растений и микроорганизмов в энергии. При окислении 1 г углеводов высвобождается 4,1 ккал (17,2 кДж).

Пластическая. Углеводы используются при синтезе нуклеиновых кислот, органических кислот, а из них – аминокислот, белков, липидов и т.д.

Защитная. В комплексе с белками углеводы составляют основу иммунно-защитных оболочек ткани, клеточных стенок бактерий и клеточных мембран всех организмов.

Резервная. Запасные резервные углеводы откладываются в организме в виде гликогена в основном в печени и мышцах, который расходуется по мере надобности. Крахмал, фруктозаны и другие полисахариды запасаются в растениях.

Опорная. Целлюлоза и другие нерастворимые полисахариды выполняют функции структурных и опорных элементов в клеточных стенках бактерий (муреин) и растений (клетчатка), а также в соединительных тканях и оболочках клеток животных (хитин, гиалуроновая кислота). У человека и животных углеводы в комплексе с белками входят в состав хрящевых тканей (хондроитинсульфаты) и других соединительнотканых образований.

Пищевая. В пище всегда содержится значительное количество клетчатки, которая вызывает механическое раздражение желудка и кишечника, участвуя таким образом в акте перистальтики (движения).

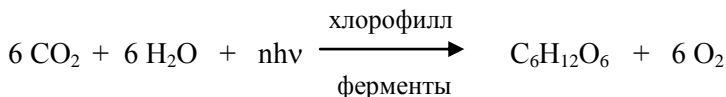
Отдельные представители углеводов выполняют особые функции в организме, например, участвуют в проведении нервных

импульсов, образовании антител, обеспечении специфичности групп крови, нормальной деятельности высшей нервной системы и т.д.

Обмен углеводов в организме по сравнению с обменом нуклеиновых кислот и белков занимает подчиненное положение, но его роль в общем метаболизме значительна. Именно в химических связях между атомами в молекулах углеводов в первую очередь запасается энергия света (фотосинтез) или энергия, выделяющаяся при окислении неорганических соединений при первичном биосинтезе органического вещества в природе (хемосинтез). В процессе жизнедеятельности органических форм запасенная энергия высвобождается из молекул углеводов и служит для поддержания на должном уровне многих жизненных функций.

9.2. Первичный синтез углеводов (фотосинтез и хемосинтез)

Фотосинтез – это процессы биологического преобразования зелеными растениями лучистой энергии солнца в химическую и использование ее для синтеза из углекислого газа и воды углеводов и свободного кислорода на Земле. За счет фотосинтеза создается до 90 % и более сухого вещества растений, обеспечиваются потребности человечества в продуктах питания, топливе, а также сырье для различных отраслей промышленности. Схематически фотосинтез можно представить как окислительно-восстановительный процесс взаимодействия углекислого газа и воды при участии хлорофилла (зеленые пигменты растений), поглотившего энергию электромагнитного излучения. Эта энергия используется для фотохимической реакции, при которой восстанавливается углекислый газ (суммарное уравнение фотосинтеза):

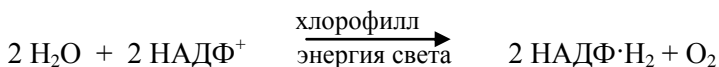


Выдающуюся роль в области изучения фотосинтеза сыграли труды К.А. Тимирязева, который впервые показал, что фотосинтез подчинен закону сохранения и превращения энергии, и выдвинул

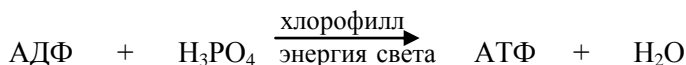
гипотезу о хлорофилле как оптическом сенсibiliзаторе (от лат. *sensibilis* – чувствительный), поглощающем световую энергию.

Фотосинтез состоит из световых и темновых реакций. *Световые реакции* непосредственно связаны с использованием энергии света, протекают в мембранах хлоропластов (пластиды, содержащие хлорофилл), где локализованы фотосинтетические пигменты: хлорофилл и каротины (оранжево-желтые пигменты), ферменты – переносчики электронов.

Пигменты поглощают энергию видимого света и переходят в возбужденное состояние, то есть запасают энергию. Эта энергия обеспечивает перенос электронов от воды на НАДФ с образованием восстановленного НАДФ и кислорода. Процесс разложения воды при участии энергии солнечного света получил название *фотолиз*. Схематически можно записать следующим образом:



За счет этой же энергии одновременно происходит *фосфорилирование АДФ* с образованием АТФ:



Таким образом, в процессе световых реакций происходит фотолиз воды и выделение молекулярного кислорода. Кроме этого, световая энергия затрачивается на восстановление НАДФ⁺ и на фосфорилирование АДФ, а образующиеся при этом НАДФ·H₂ и АТФ используются затем в темновых реакциях для восстановления СО₂ до углеводов.

Темновые реакции могут идти в отсутствие света в основном веществе хлоропластов, который имеет вид геля. В результате этих реакций происходит восстановление углекислого газа за счет НАДФ·H₂ и с использованием энергии АТФ при участии ферментов. Последовательность темновых реакций изучил Мэ́львин Кальвин (рис. 9.1).

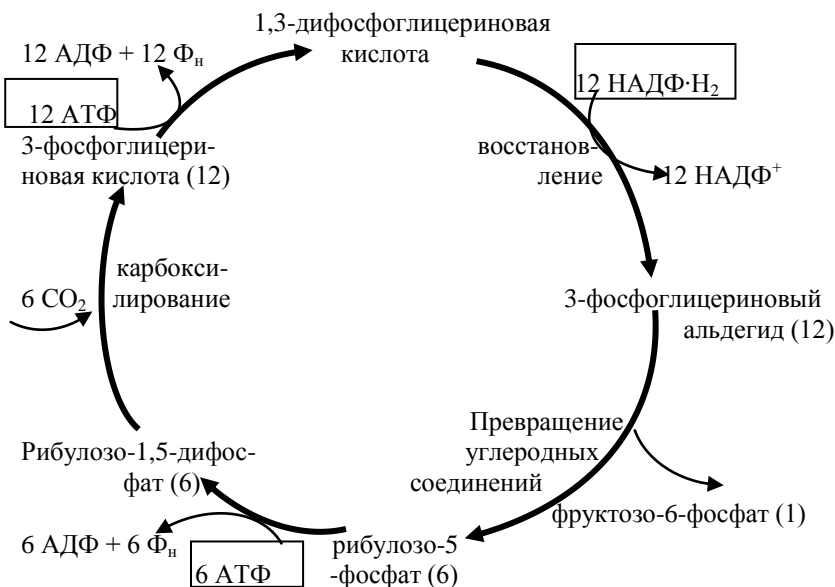
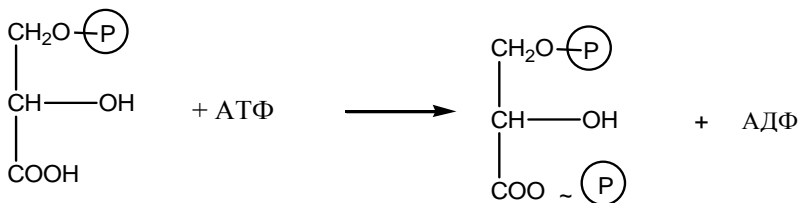


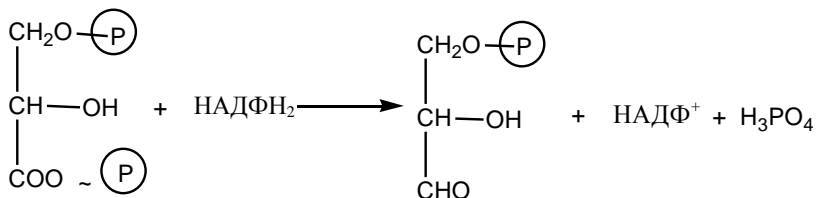
Рис. 9.1. Упрощенная схема цикла Кальвина (в рамках помещены продукты световых реакций; в скобках цифрами обозначено число молекул)

Началом цикла считается карбоксилирование рибулозо-1,5-дифосфата с образованием неустойчивого промежуточного продукта, который при участии воды немедленно распадается на две молекулы 3-фосфоглицериновой кислоты.

3-Фосфоглицериновая кислота под воздействием АТФ фосфорилируется и превращается в 1,3-дифосфоглицериновую кислоту с участием фермента фосфоглицераткиназы:

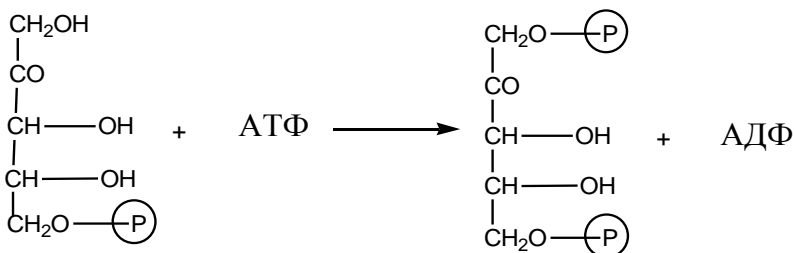


Далее происходит восстановление 1,3-дифосфоглицериновой кислоты под действием фермента тризофосфатдегидрогеназы за счет НАДФ·Н₂ с образованием 3-фосфоглицеринового альдегида:

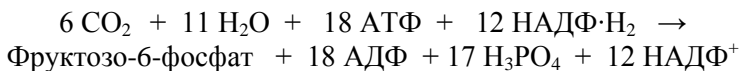


3-Фосфоглицериновый альдегид в результате сложных реакций, катализируемых ферментами, расходуется на синтез фруктозо-6-фосфата и рибулозо-5-фосфата.

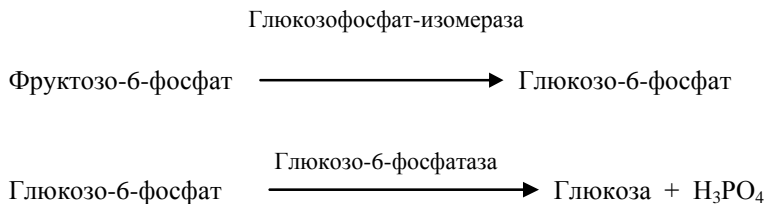
Рибулозо-5-фосфат под действием фермента фосфорибулокиназы и с участием АТФ фосфорилируется и превращается в рибулозо-1,5-дифосфат:



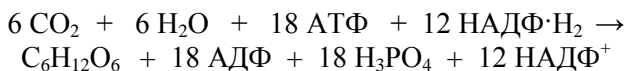
Рибулозо-1,5-дифосфат может присоединять новую молекулу СО₂, и цикл повторяется снова. Результатом этого процесса является образование фруктозо-6-фосфата, для образования одной молекулы которого необходима фиксация шести молекул СО₂. Суммарное уравнение ассимиляции углекислого газа выглядит следующим образом:



Обычно фруктозо-6-фосфат не накапливается в клетках, а быстро превращается в глюкозу, которая служит источником для образования других углеводов. Превращение фруктозо-6-фосфата в глюкозу происходит в результате следующих двух реакций:



Таким образом, суммарное уравнение превращения углекислоты в глюкозу выглядит следующим образом:

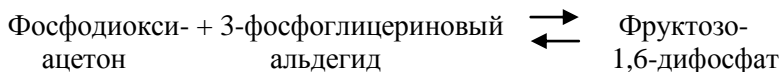


Хемосинтез – это тип питания бактерий, основанный на усвоении CO_2 и получении энергии за счет окисления неорганических соединений. Открыт С.Н. Виноградским в 1887 г. Способные к хемосинтезу аэробные бактерии (водородные, нитрифицирующие, тионовые и др.) усваивают CO_2 так же, как при фотосинтезе (цикл Кальвина). Некоторые фотосинтезирующие бактерии осуществляют хемосинтез в темноте. Анаэробные бактерии при хемосинтезе восстанавливают соединения серы, CO_2 . Углекислый газ у анаэробных бактерий ассимилируется не по пути Кальвина (метанобразующие, гомоацетатные). Хемосинтезирующим бактериям принадлежит исключительно важная роль в биогеохимических циклах химических элементов в биосфере. Многие процессы превращения химических элементов в биогеохимических циклах осуществляются только организмами, способными к хемосинтезу.

9.3. Взаимопревращение углеводов в тканях

9.3.1. Ферментативные взаимодействия моносахаридов

Первичным улавливаемым продуктом фотосинтеза является фосфоглицериновая кислота. При дальнейших превращениях она дает различные моносахариды: глюкозу, фруктозу, маннозу и галактозу. Эти моносахариды образуются без участия света, исключительно в результате «темновых» ферментативных реакций. Образование гексоз из фосфоглицериновой кислоты или фосфоглицеринового альдегида происходит благодаря действию фермента альдолазы. Этот фермент катализирует реакцию взаимодействия фосфоглицеринового альдегида и фосфодиоксиацетона с образованием фруктозо-1,6-дифосфата:



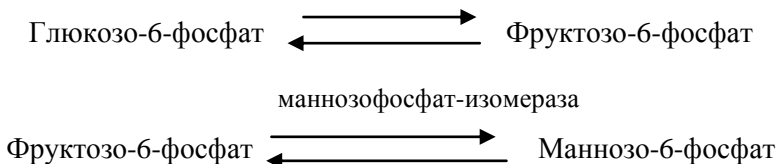
Альдолаза широко распространена в растительном мире. Она найдена у микроорганизмов, грибов, папоротников, хвойных, однодольных и двудольных растений. Альдолаза играет важнейшую роль в процессах превращения сахаров в растениях.

Взаимопревращения моносахаридов происходят в результате действия соответствующих ферментов, катализирующих реакции фосфорилирования с образованием фосфорных эфиров сахаров. Разнообразные гексозофосфорные эфиры найдены в растениях.

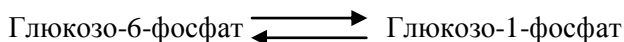
В растительных организмах обнаружены также ферменты, катализирующие образование фосфорных эфиров сахаров и их взаимные превращения. Так, например, под действием фермента гексокиназы глюкоза превращается в глюкозо-6-фосфат:



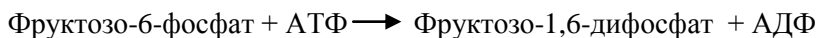
Под действием фермента глюкозофосфат-изомеразы, содержащегося в дрожжах и высших растениях, происходит обратимое превращение глюкозо-6-фосфата во фруктозо-6-фосфат и маннозо-6-фосфат:



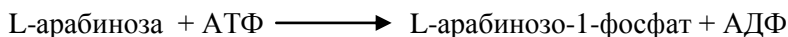
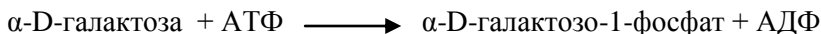
Благодаря действию фосфоглюкомутазы глюкозо-6-фосфат может обратимо превращаться в глюкозо-1-фосфат:



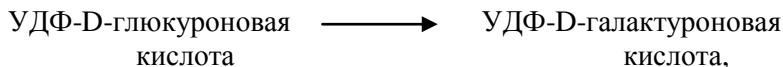
Фосфофруктокиназа катализирует превращение фруктозо-6-фосфата во фруктозо-1,6-дифосфат:



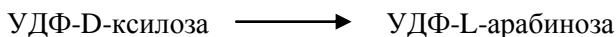
В бесклеточных ферментных препаратах, выделенных из растений, найдены L-арабинокиназа и D-галактокиназа, катализирующие реакции фосфорилирования L-арабинозы и D-галактозы с образованием соответственно β -L-арабинозо-1-фосфата и α -D-галактозо-1-фосфата согласно уравнениям:



В растениях найдены также изомеразы, катализирующие взаимопревращения уроновых кислот:

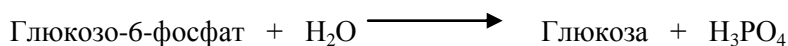


а также ксилозы и арабинозы:



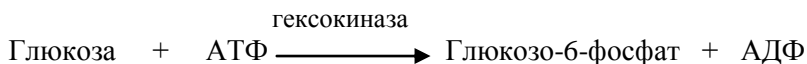
Ферментативное превращение галактозы в глюкозу осуществляется в две стадии. Первая из них происходит благодаря каталитическому действию фермента галактокиназы, превращающего галактозу при участии аденозинтрифосфорной кислоты в галактозо-1-фосфат. Вторая стадия заключается в ферментативном превращении галактозо-1-фосфата в глюкозо-1-фосфат. Ферменты, катализирующие эти превращения, выделены из дрожжей. Образовавшийся глюкозо-1-фосфат может далее под действием фосфоглюкомутазы подвергаться ферментативному превращению в глюкозо-6-фосфат, а последний благодаря действию глюкозофосфатизомеразы – во фруктозо-6-фосфат.

Образование свободных моносахаридов из их фосфорных эфиров происходит под действием фосфатаз, которые широко распространены во всех живых организмах. Например, фермент глюкозо-6-фосфатаза катализирует следующую реакцию:

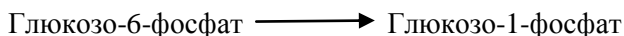


9.3.2. Биосинтез олигосахаридов и полисахаридов (сахарозы, лактозы, крахмала и гликогена)

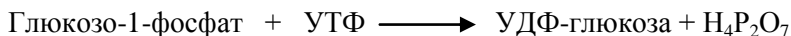
Сахароза – главный транспортный углевод. С помощью сахарозы идет передвижение углеводов в растениях. Исходными моносахаридами для биосинтеза сахарозы являются глюкоза и фруктоза или их фосфорные эфиры. Фруктоза образуется в процессе фотосинтеза, а глюкоза – в результате реакции изомеризации из фруктозы. Схема реакций следующая. На первом этапе идет фосфорилирование глюкозы, благодаря чему она становится более реакционно-способной:



Затем глюкозо-6-фосфат изомеризуется в глюкозо-1-фосфат при участии фермента фосфоглюкомутазы:



На следующем этапе глюкозо-1-фосфат соединяется с УТФ под действием фермента глюкозо-1-фосфатуридинтрансферазы. В результате отщепляется пиродифосфорная кислота и образуется уридиндифосфатглюкоза:



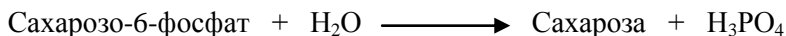
Одновременно идет фосфорилирование фруктозы под действием фруктокиназы с участием АТФ:



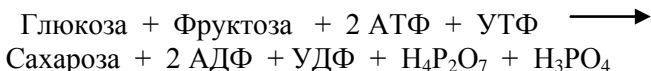
После этого происходит взаимодействие УДФ-глюкозы и фруктозо-6-фосфата с участием фермента сахарозофосфат-УДФ-гликозилтрансферазы:



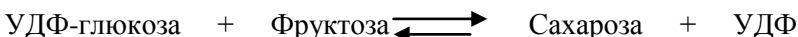
Образовавшийся сахарозо-6-фосфат под действием фосфатазы гидролизуется с образованием свободной сахарозы:



Суммарное уравнение синтеза сахарозы:



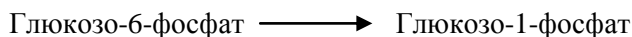
Так происходит синтез сахарозы в фотосинтезирующих тканях. В нефотосинтезирующих тканях некоторых растений (корнеплодах сахарной свеклы, клубнях картофеля и др.) сахароза может образовываться не из фруктозо-6-фосфата, а из свободной фруктозы. Реакция катализируется ферментом сахарозо-УДФ-гликозилтрансферазой и в зависимости от условий может быть направлена как в сторону синтеза, так и в сторону расщепления сахарозы:



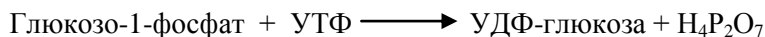
Лактоза содержится в молоке. Состоит из глюкозы и галактозы и построена по типу β -гликозида. Источником для синтеза лактозы является глюкоза. Образование лактозы, функционирующей в молочной железе, происходит из глюкозы, которая доставляется кровью. Биосинтез лактозы протекает в несколько стадий. Первая стадия состоит во взаимодействии глюкозы с АТФ при участии фермента гексокиназы:



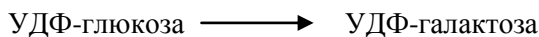
На второй стадии глюкозо-6-фосфат изомеризуется в глюкозо-1-фосфат под влиянием фермента фосфоглюкомутазы:



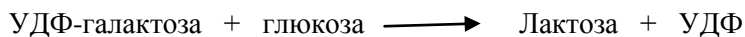
Третья стадия заключается во взаимодействии глюкозо-1-фосфата с УДФ при участии фермента глюкозо-1-фосфатуридилтрансферазы:



На четвертой стадии происходит изомеризация УДФ-глюкозы в УДФ-галактозу под действием фермента УДФ-глюкоза-4-эпимераза:



На пятой стадии при взаимодействии УДФ-галактозы с глюкозой под влиянием фермента лактозо-УДФ-гликозилтрансферазы образуется лактоза:



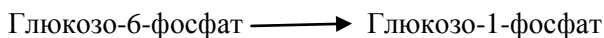
Крахмал состоит из амилозы, представляющей собой неразветвленную цепь, состоящую из остатков α -глюкозы, соединенных $\alpha(1\rightarrow4)$ -гликозидными связями, и амилопектина – разветвленной молекулы, в которой наряду с $\alpha(1\rightarrow4)$ -гликозидными связями имеются и $\alpha(1\rightarrow6)$ -гликозидные связи. Отличия в строении амило-

зы и амилопектина как составных частей крахмала определяют и различные механизмы их биосинтеза.

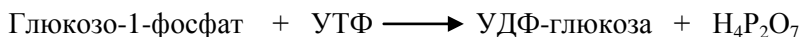
Последовательность реакций при синтезе *амилозы* следующая: глюкоза фосфорилируется при участии фермента гексокиназы с образованием глюкозо-6-фосфата:



Во второй реакции глюкозо-6-фосфат под действием фермента фосфоглюкомутазы изомеризуется в глюкозо-1-фосфат:

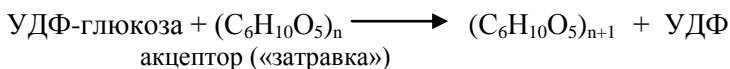


Далее глюкозо-1-фосфат взаимодействует с УДФ в присутствии фермента глюкозо-1-фосфатуридилтрансферазы с образованием УДФ-глюкозы:



УДФ-глюкоза является своего рода транспортной формой, в виде которой глюкоза переносится к синтезируемой амилозной цепи.

Для синтеза амилозы необходимо наличие в реакционной среде небольшого количества «затравки», в качестве которой служит олигосахарид. Остатки глюкозы при биосинтезе амилозы переносятся на акцептор («затравку»), состоящий из небольшого числа глюкозных остатков (не менее четырех), происходит образование $\alpha(1 \rightarrow 4)$ -гликозидных связей, и цепочка амилозы удлиняется:



Фермент, катализирующий эту реакцию, называется УДФ-глюкозакрахмалгликозилтрансфераза. УДФ-глюкоза – макроэргическое соединение. Однако у большинства растений активным донором глюкозы является не УДФ-глюкоза, а аденозиндифосфат-глюкоза (АДФ-глюкоза) – макроэргическое соединение, которое примерно в 10 раз более эффективно, чем УДФ-глюкоза.

УДФ-глюкоза участвует в биосинтезе амилозы, гликогена в организме человека и животных. В синтезе разветвленной молекулы *амилопектина* участвует фермент α -глюкантрансфераза, который катализирует превращение амилозы в амилопектин. Этот фермент называют также амилопектинветвящий фермент, или Q-фермент. Он относится к ферментам переноса и катализирует превращение связей $\alpha(1\rightarrow4)$ в связи $\alpha(1\rightarrow6)$ без промежуточного гидролиза (рис. 9.2).

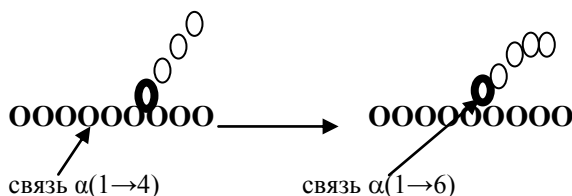


Рис. 9.2. Схема действия Q-фермента при биосинтезе амилопектина

В животных организмах часть глюкозы откладывается в печени (10 %) и мышцах (4 %) в виде *гликогена*. Синтез гликогена происходит в той же последовательности, что и синтез крахмала в растениях. Разница состоит в том, что перенос глюкозы от УДФ-глюкозы на «затравку» гликогена катализирует фермент УДФ-глюкоза-гликогенгликозилтрансфераза.

9.4. Превращение углеводов в процессе пищеварения

Источником углеводов для растений служит фотосинтез. Организм человека и животных не способен синтезировать углеводы из неорганических веществ и получает их в готовом виде. Главным источником углеводов является пища. В состав пищи входят как *запасные (пищевые)* углеводы, усвояемые в организме: крахмал, гликоген, сахароза, лактоза, мальтоза и др., так и *структурные*, неусвояемые организмом: клетчатка, пектиновые вещества, пентозаны и др.

Первым этапом обмена углеводов в животном организме является их превращение в пищеварительном тракте, которое называют *перевариванием*. Пищевые полисахариды в желудочно-

кишечном тракте расщепляются ферментами (амилолитическими) пищеварительного тракта до моносахаридов, которые, всасываясь через слизистую оболочку кишечника, поступают в кровь.

Переваривание углеводов начинается в ротовой полости. В составе слюны содержатся два фермента: α -амилаза и мальтаза. Специфической особенностью α -амилазы слюны является способность гидролизовать крахмал только тех пищевых продуктов, которые подвергались термической обработке при изготовлении продуктов питания.

Пища в ротовой полости находится недолго, после попадания ее в желудок постепенно пищевой комок пропитывается кислым желудочным соком, низкое значение рН которого инактивируют α -амилазу слюны. В желудке амилолитические ферменты отсутствуют.

Основным местом переваривания крахмала и гликогена является тонкий кишечник, где на них действует α -амилаза поджелудочной железы. Она может расщеплять крахмал, не подвергшийся термической обработке при приготовлении пищи.

Поступающие с пищей дисахариды гидролизуются ферментами тонкого кишечника до моносахаридов. Фермент α -глюкозидаза расщепляет мальтозу на две молекулы глюкозы, сахароза гидролизуется ферментом α -глюкогидролаза (кишечная сахараза) до глюкозы и фруктозы, лактоза превращается под действием фермента β -галактозидазы в смесь глюкозы и галактозы.

Таким образом, в процессе переваривания углеводов пищи происходит их расщепление до моносахаридов: глюкозы, фруктозы и галактозы. Моносахариды всасываются через стенку кишечника (скорость их всасывания различна) и в конечном итоге поступают в ткани и органы, где подвергаются дальнейшему превращению.

Из структурных полисахаридов важным компонентом пищи является клетчатка (целлюлоза). У человека и млекопитающих животных отсутствует фермент целлюлаза, вызывающий гидролиз клетчатки. Не атакуются ферментами желудочно-кишечного тракта млекопитающих и растительные пентозаны. Поэтому гидролиз происходит при участии ферментов микроорганизмов, населяющих пищеварительный тракт.

Местом гидролиза структурных полисахаридов у крупного рогатого скота, овец, коз, верблюдов, оленей, маралов является рубец (начальный отдел четырехкамерного желудка жвачных). У человека, лошадей, свиней, собак место гидролиза – *толстый отдел кишечника*.

Фермент целлюлаза, выделяемый микробами, катализирует распад клетчатки с образованием дисахарида целлобиозы, состоящей из двух молекул β -глюкозы. Целлобиоза легко гидролизуется до глюкозы ферментом целлобиазой, которая также вырабатывается микроорганизмами.

Таким образом, из нерастворимой в воде клетчатки, недоступной непосредственному усвоению организмом человека и животных, под воздействием микрофлоры кишечника образуется глюкоза. Часть глюкозы всасывается и поступает в кровь организма-хозяина, другая часть служит пищей микробов и подвергается дальнейшему распаду с образованием других органических веществ, среди которых особое место по своему количеству занимает уксусная кислота.

Клетчатка, входящая в состав пищи (овощи, фрукты, черный хлеб), повышает секрецию пищеварительных соков и усиливает перистальтику кишечника, способствуя тем самым нормальному пищеварению. В толстом отделе кишечника человека расщепляется 5–10 % от поступившей клетчатки. Часть клетчатки не расщепляется, служит основой в формировании кала и выводится из организма.

9.5. Окисление углеводов в тканях

9.5.1. Анаэробное окисление углеводов. Гликолиз

Анаэробное окисление углеводов идет по пути гликолиза. *Гликолиз* – это анаэробный процесс, приводящий к распаду одной молекулы глюкозы на две молекулы пировиноградной кислоты (ПВК, пируват). При этом освобождается энергия, которую организм аккумулирует в форме АТФ. Реакции гликолиза протекают в цитозоле без потребления кислорода.

Полная цепь реакций гликолиза выявлена в середине 30-х годов XX века трудами Л.А. Иванова, С.П. Костычева, А.Н. Лебеде-

ва, Г. Эмбдена, Я.О. Парнаса и О. Мейергофа. Гликолиз протекает в две стадии.

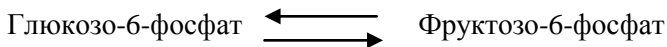
Первая стадия – *подготовительная*, или *собираательная* (неокислительного превращения). Различные гексозы вовлекаются в гликолиз, но главным образом глюкоза, а также фруктоза и манноза. При этом инертные молекулы гексоз активируются, фосфорилируясь за счет АТФ, и превращаются в глюкозо-6-фосфат. Этап заканчивается образованием глицеральдегид-3-фосфата (реакции 1–5) (рис. 9.3).

Вторая стадия – *окислительная*. Глицеральдегид-3-фосфат окисляется до пировиноградной кислоты (пирувата). Энергия окисления накапливается в АТФ, образуются восстановительные эквиваленты НАД·Н₂ (реакции 6–10).

Гликолиз начинается с фосфорилирования глюкозы за счет АТФ. Это *первая пусковая реакция*, которую катализирует фермент гексокиназа в присутствии Mg²⁺ или Mn²⁺:



Вторая реакция – изомеризация глюкозо-6-фосфата во фруктозо-6-фосфат при участии фермента гексозофосфатизомеразы:



Третья реакция – фосфорилирование фруктозо-6-фосфата с образованием фруктозо-1,6-дифосфата. Реакцию катализирует фермент фосфофруктокиназа в присутствии ионов Mg²⁺. Это *вторая пусковая реакция* гликолиза:



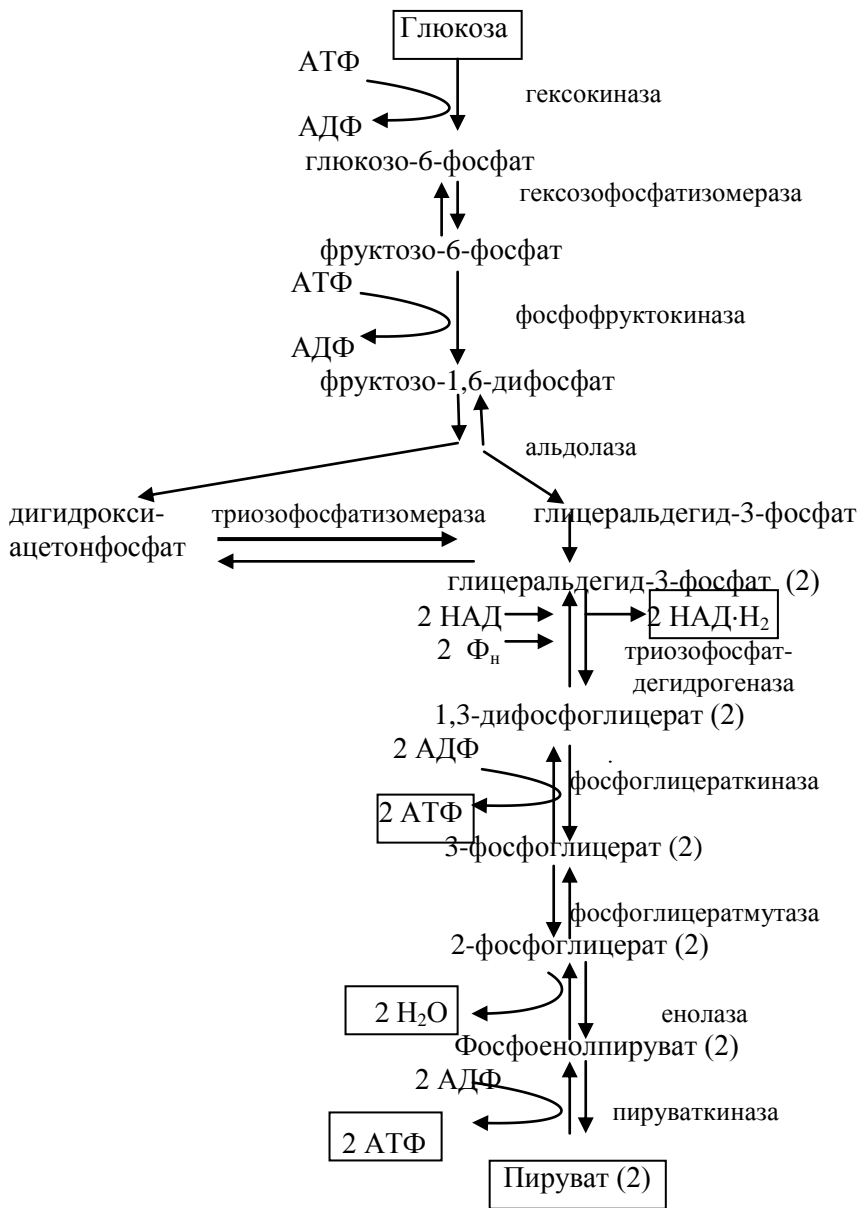
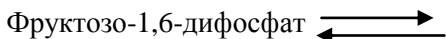


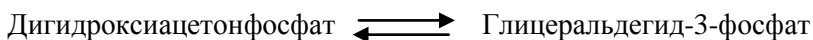
Рис. 9.3. Схема гликолиза (в рамках помещены исходные субстраты и конечные продукты гликолиза; цифрами в скобках обозначено число молекул)

Четвертая реакция – расщепление фруктозо-1,6-дифосфата при участии фермента альдолазы с образованием двух фосфотриоз – глицеральдегид-3-фосфата (ГАФ) (или 3-фосфоглицеринового альдегида ЗФГА) и дигидроксиацетонфосфата (ДФАФ):



Глицеральдегид-3-фосфат + Дигидроксиацетонфосфат

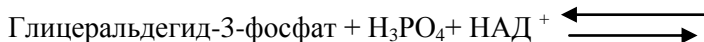
Пятая реакция – изомеризация триозофосфатов. Из образовавшихся триозофосфатов в последующие реакции гликолиза включается только глицеральдегид-3-фосфат. В него превращаются дигидроксиацетонфосфат в обратной реакции в присутствии фермента триозофосфатизомеразы:



Образованием фосфотриоз завершается первая стадия гликолиза. Молекула глюкозы путем двух фосфорилирований и расщепления превратилась в две молекулы фосфотриоз (триозофосфатов).

Вторая стадия гликолиза включает окислительно-восстановительные реакции и реакции фосфорилирования, в процессе которых генерируется АТФ. На этой стадии окисляются обе молекулы фосфотриоз, т.е. две половины молекулы глюкозы (поэтому пути окисления углеводов, начинающиеся с гликолиза, называются дихотомическим распадом).

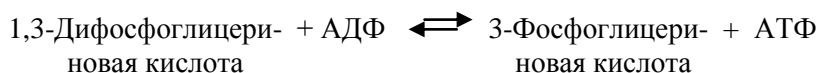
Шестая реакция – центральный этап гликолиза. Представляет собой окислительно-восстановительный процесс (субстратное фосфорилирование). Суммарное уравнение реакции следующее:



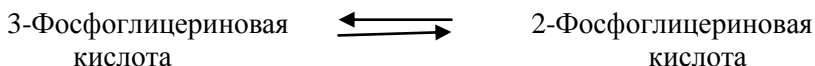
1,3-Дифосфоглицериновая кислота + НАД·Н₂

Реакцию катализирует фермент глицеральдегидфосфатдегидрогеназа.

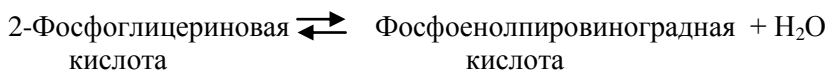
Седьмая реакция – богатая энергией группа 1,3-дифосфоглицериновой кислоты переносится на АДФ с образованием АТФ под действием фермента фосфоглицераткиназы:



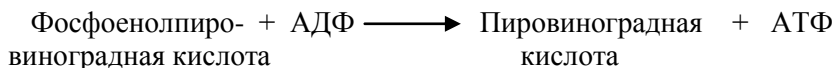
Восьмая реакция – фосфатная группа фосфоглицериновой кислоты переносится из положения 3 в положение 2 при участии фермента фосфоглицератмутазы:



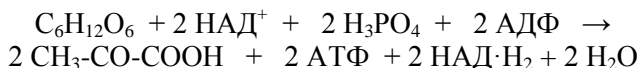
Девятая реакция – внутримолекулярный окислительно-восстановительный процесс (субстратное фосфорилирование). В результате образуется высокоэнергетическое соединение – *фосфоенолпировиноградная кислота*. Реакцию катализирует фермент енолаза:



Десятая реакция – перенос фосфорильной группы вместе с высокоэнергетической связью от фосфоенолпировиноградной кислоты на АДФ при участии фермента пируваткиназы:



Суммарное уравнение гликолиза:



В дальнейшем пировиноградная кислота в зависимости от условий (преимущественно обеспеченности кислородом) и специфических особенностей данного организма (вида клеток орга-

низма или самого организма) может подвергаться различным превращениям.

Роль гликолиза как анаэробной фазы дыхания заключается в извлечении из углеводов свободной энергии и аккумуляции ее в виде молекул АТФ, а также в образовании многих высоко реакционно-способных соединений, которые используются в разнообразных метаболических реакциях. Значение гликолиза особенно велико в тканях и органах, где ограничен доступ кислорода или возможно внезапное и резкое возрастание скорости потребления АТФ.

9.5.2. Включение крахмала, гликогена и других углеводов в процесс гликолиза

Клетка может окислять только глюкозу и фруктозу. Другие углеводы превращаются в глюкозу при помощи ферментативных реакций.

Крахмал и гликоген. Высвобождение глюкозных единиц из крахмала и гликогена происходит при помощи реакций двух типов: гидролиза (в растениях) и фосфоролита (в мышцах).

Гидролитический распад крахмала осуществляется под действием четырех ферментов класса гидролаз. Фермент α -амилаза катализирует гидролитическое расщепление $\alpha(1\rightarrow4)$ -связей в молекуле без определенного порядка с образованием декстринов, мальтозы и некоторого количества глюкозы.

Под действием фермента β -амилазы происходит гидролиз $\alpha(1\rightarrow4)$ -связей в молекуле крахмала, последовательно отщепляются остатки мальтозы. Фермент глюкоамилаза катализирует последовательное отщепление остатков глюкозы от молекулы крахмала. Он также катализирует гидролитическое расщепление $\alpha(1\rightarrow4)$ -связей. Амилопектин-1,6-глюкозидаза, или R-фермент, катализирует гидролитическое расщепление $\alpha(1\rightarrow6)$ -связей в молекуле амилопектина, т.е. действует на точки ветвления молекулы.

Фосфоролит – присоединение фосфорной кислоты по месту разрыва глюкозидной связи между остатками моносахаридов в цепи полисахарида. При этом происходит перенос одного глюкозного остатка молекулы крахмала на фосфорную кислоту с образованием глюкозо-1-фосфата. Эту реакцию катализирует фермент класса трансфераз α -глюканфосфорилаза:



Затем глюкозо-1-фосфат изомеризуется в глюкозо-6-фосфат при участии фермента фосфоглюкомутазы:



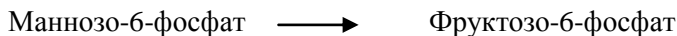
Дисахариды мальтоза, сахароза, лактоза вступают на путь гликолиза после гидролиза на свои составные части под действием ферментов: α -глюкоамилазы, β -фруктофуранозидазы, β -галактозидазы:



Свободные фруктоза и манноза вступают на путь гликолиза после фосфорилирования у шестого углеродного атома под действием фермента гексокиназы:



После этого маннозо-6-фосфат изомеризуется во фруктозо-6-фосфат в реакции, катализируемой ферментом маннозофосфати-зомеразой:



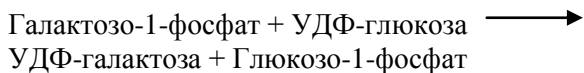
Фруктозо-6-фосфат может включаться непосредственно в гликолиз как промежуточный продукт этого процесса.

В печени человека и животных фруктоза может включаться в гликолиз после образования из нее двух триозофосфатов, исходным материалом для которых является триозо-1-фосфат.

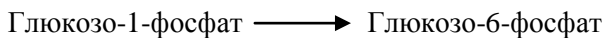
Включение в гликолиз галактозы происходит по более сложной схеме. В первой реакции галактоза фосфорилируется по первому углеродному атому при участии фермента галактокиназы:



Во второй реакции галактозо-1-фосфат взаимодействует с УДФ-глюкозой под действием фермента гексозо-1-фосфатуридилтрансфераза:



В третьей реакции происходит изомеризация глюкозо-1-фосфата в глюкозо-6-фосфат. Реакцию катализирует фермент фосфоглюкомутаза:



В четвертой реакции происходит преобразование УДФ-галактозы в УДФ-глюкозу под действием фермента УДФ-глюкоза-4-эпимераза:

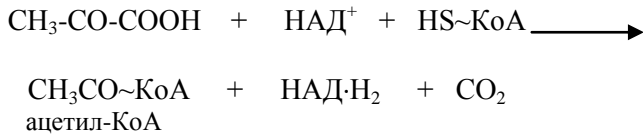


Таким образом, чтобы крахмал, гликоген, мальтоза, сахароза и лактоза вступили на путь гликолиза, им необходимо подвергнуться гидролитическому распаду на составные части, затем фосфорилироваться и преобразоваться в фосфорные эфиры глюкозы с использованием АТФ.

9.5.3. Аэробное окисление углеводов

Клетки человека, животных, растений и многих микроорганизмов при достаточном поступлении кислорода окисляют образующийся в гликолизе пируват до углекислого газа и воды в аэробной стадии, которую называют клеточным дыханием. Эта стадия протекает в три этапа: окислительное декарбоксилирование пировиноградной кислоты (пирувата); цикл трикарбоновых кислот (ЦТК), или цикл Кребса; дыхательная цепь (клеточное дыхание) и окислительное фосфорилирование (рис. 9.4).

Пировиноградная кислота подвергается окислительному декарбоксилированию мультиферментной пируватдегидрогеназной системой, состоящей из трех ферментов: пируватдегидрогеназы, липоатацетилтрансферазы, липоамиддегидрогеназы и пяти кофакторов: тиаминпирофосфата (ТПФ), флавинадениндинуклеотида (ФАД), кофермента А (HS~КоА), никотинамидадениндинуклеотида (НАД⁺) и липоевой кислоты. Это сложный процесс, суммарное уравнение которого имеет следующий вид:



Сначала протекает реакция между ПВК и связанным с первым ферментом этого процесса пируватдегидрогеназой (E₁) ТПФ, в результате декарбоксилирования образуется α-гидрокси-этил-ТПФ, соединенный с первым ферментом, и выделяется СО₂. Гидроксильная группа реагирует с дисульфидной формой липоевой кислоты, присоединенной ко второму ферментативному белку системы (E₂) липоацетилтрансферазы. Протекает окислительно-восстановительная реакция, дисульфидные связи липоевой кислоты восстанавливаются до двух SH-групп, одна из них образует эфир с ацетиллом, возникшим в результате окисления гидроксильной группы. Ацетильная группа переносится к SH-группе кофермента А с образованием ацетилкофермента А (ацетил-КоА активная уксусная кислота).

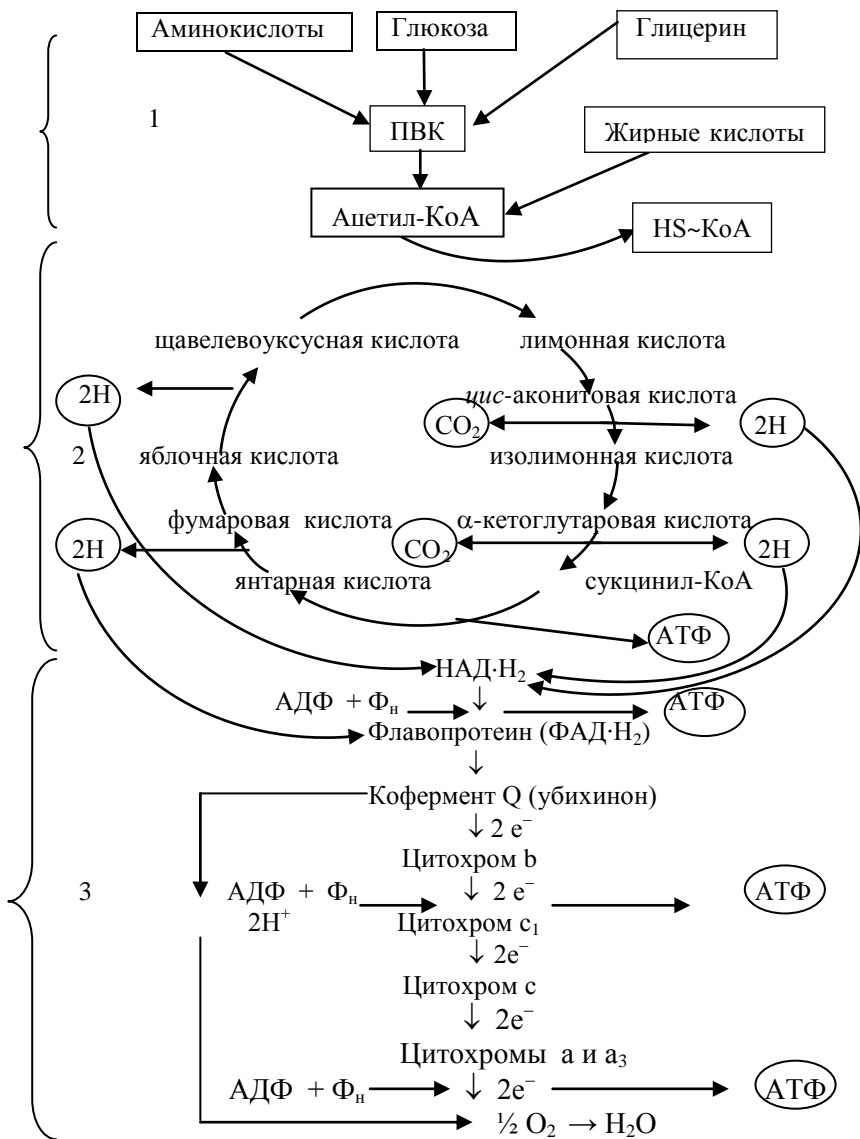
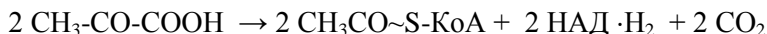


Рис. 9.4. Общая схема биологического окисления: 1 – анаэробная стадия (гликолиз); 2 – аэробная стадия – образование ацетил-КоА и его окисление в ЦТК; 3 – клеточное дыхание и окислительное фосфорилирование (в рамках исходные субстраты и конечные продукты; цикл трикарбоновых кислот упрощен)

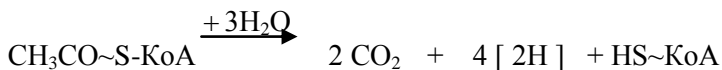
Ацетил-КоА отделяется от фермента, освобождая восстановленный амид липоевой кислоты, который окисляется при участии фермента липоамиддегидрогеназа, содержащего кофермент ФАД, способный к восстановлению. Образующийся в результате этого ФАД·Н₂ окисляется присутствием в среде НАД⁺. На этом процесс завершается, все коферменты оказываются в исходном состоянии и включаются в следующий цикл.

Таким образом, в результате окислительного декарбоксилирования одной молекулы пировиноградной кислоты образуется по одной молекуле ацетил-КоА, НАД·Н₂ и СО₂.

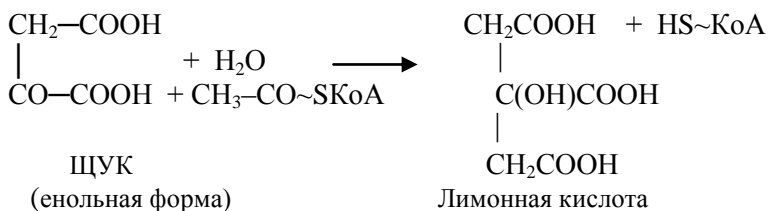
В случае если этот процесс является продолжением дихотомического распада глюкозы – гликолиза, то образуется по две молекулы ацетил-КоА, НАД·Н₂ и СО₂:



Цикл Кребса является завершающим этапом субстратного распада углеводов, жиров и белков, которые предварительно распались до активированной уксусной кислоты, и протекает по схеме:

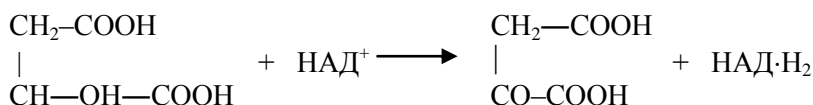


Цикл начинается переносом ацетила с кофермента А на щавелевоуксусную кислоту (ЩУК) и образованием лимонной кислоты ферментом цитратсинтазой:



В последующих реакциях ацетил окисляется до двух молекул углекислого газа и четырех пар водорода. Три пары снимаются НАД-зависимыми, а одна пара – ФАД-зависимыми дегидрогеназами. Завершающая реакция цикла – окисление яблочной кислоты

в щавелевоуксусную кислоту, замыкающий цикл протекает при участии фермента малатдегидрогеназы, коферментом которого является НАД:



Следовательно, щавелевоуксусная кислота в цикле Кребса является самообновляющимся катализатором, способным вновь соединяться с остатками уксусной кислоты, включая их в цикл Кребса.

Цикл трикарбоновых кислот занимает важное место в процессе обмена веществ. При окислении ацетил-КоА в нем образуется ряд промежуточных продуктов, которые приводят к синтезу других важных соединений: щавелевоуксусная и α -кетоглутаровая кислоты, подвергаясь восстановительному аминированию, образуют аспарагиновую и глутаминовую кислоты, сукцинил-КоА идет на синтез порфиринов. В цикле Кребса осуществляется взаимосвязь между обменом углеводов, органических кислот, жиров, аминокислот и белков в клетках живых организмов.

Таким образом, *ЦТК* – это амфиболический путь метаболизма. Функции его связаны не только с катаболическими, но и с анаболическими процессами, для которых он поставляет вещества-предшественники.

Клеточное (тканевое) дыхание или биологическое окисление, дыхательная цепь и окислительное фосфорилирование. Процессы биологического окисления являются основным источником энергии в организме. В живых организмах окисление происходит в результате отнятия водорода (протона и электрона), переноса электронов или присоединения кислорода. Большинство процессов биологического окисления протекает путем дегидрирования окисляемых субстратов при помощи коферментов дегидрогеназ НАД⁺, НАДФ⁺, ФАД, ФМН. Пары водородов, снятые дегидрогеназами с изолимонной, α -кетоглутаровой, янтарной и других субстратов, передаются на НАД⁺ и ФАД, в виде которых поступают в цепь биологического окисления (цепь переноса электронов, дыхательная цепь), которая существует в митохондриях и представляет собой мультиферментную систему, в конце которой происходит

присоединение водорода с кислородом (рис. 9.5). Ферменты дыхательной цепи локализованы во внутренней мембране митохондрии, образуя мультиферментные комплексы, которые катализируют весь процесс в целом. В цепи биологического окисления происходит постепенный переход водорода и электронов от соединений с высоким энергетическим уровнем к соединениям с более низким энергетическим уровнем, что сопровождается освобождением энергии.

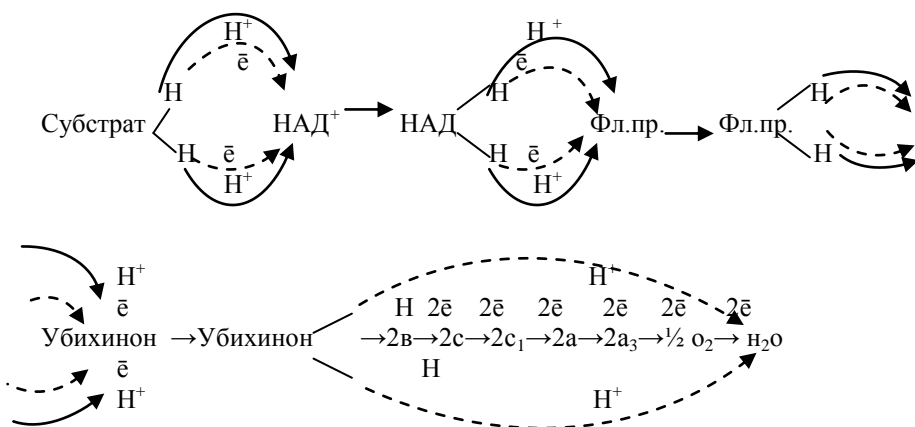


Рис. 9.5. Схема дыхательной цепи

В результате многоступенчатого переноса электронов и протонов водорода по дыхательной цепи они приходят к кислороду и образуют воду. Таким образом, клеточное дыхание – это совокупность окислительно-восстановительных реакций, сводящихся к переносу пары атомов водорода (а затем электронов, отщепленных от них), снятых с субстратов окисления (белков, жиров, углеводов) в процессе их окислительного распада на кислород. Конечным продуктом клеточного дыхания является вода, образовавшаяся за счет активированных (путем ионизации) в процессе клеточного дыхания водорода и кислорода. Процесс осуществляется мультиферментной системой, называемой дыхательной цепью (см. рис. 9.5).

Освобожденная при переносе электронов и протонов по дыхательной цепи энергия запасается в фосфатных связях АТФ.

Синтез АТФ из АДФ и фосфорной кислоты, который происходит с использованием энергии, освобождающейся при окислении веществ в живых клетках, и сопряжен с переносом электронов по дыхательной цепи, называется *окислительным фосфорилированием*, открытым в начале 30-х годов XX века В.А. Энгельгардтом.

В состав дыхательной цепи входит небелковый переносчик электронов – убихинон (кофермент Q), который переносит электроны и протоны от одной группы переносчиков к другой.

Электроны и протоны отщепляются от субстратов в реакциях окисления преимущественно пиридинзависимыми дегидрогеназами с образованием НАД·Н₂, которые выполняют роль первичных дегидрогеназ, снимая водороды непосредственно с субстратов окисления. Последний окисляется флаavinзависимым ферментом ФАД·Н₂-дегидрогеназой. Она отдает электроны и протоны убихинону, который передает их системе цитохромов. Цитохромы – группа железосодержащих белков, присутствующих во всех аэробных клетках. В настоящее время из различных видов живых организмов выделено большое число цитохромов.

С кислородом реагирует лишь последний цитохром дыхательной цепи – *цитохромоксидаза* (цитохром *aa*₃). Это единственный цитохром, обладающий ферментативными свойствами. Цитохромоксидаза осуществляет быстрое окисление цитохрома молекулярным кислородом. Она является терминальной, т.е. конечной, оксидазой дыхательной цепи митохондрий.

С ферментами дыхательной цепи сопряжена мультиферментная система окислительного фосфорилирования АДФ фосфатом неорганическим с образованием АТФ. Перенос пары электронов и протонов водорода с восстановленного НАД·Н₂ на кислород высвобождает около 52 ккал. В дыхательной цепи обнаружены три участка, называемые точками сопряжения окислительного фосфорилирования с клеточным дыханием, где высвобождающейся энергии достаточно для превращения в энергию макроэнергетической связи АТФ. Расположены эти точки в следующих звеньях дыхательной цепи: 1 – при передаче водорода с никотинпротеинов на флавопротеины; 2 – при передаче электронов с цитохрома *в* на цитохром *c*₁; 3 – при передаче электронов цитохромоксидазой на кислород. Таким образом, в полной дыхательной цепи, начинающейся с включения в нее водорода в виде восстановленной нико-

тинзависимой дегидрогеназы (НАД·Н₂), в процессе окислительного фосфорилирования образуются 3 молекулы АТФ. А в дыхательной цепи, начинающейся с восстановленной флавинзависимой дегидрогеназы (ФАД·Н₂) – неполной дыхательной цепи, образуются 2 молекулы АТФ, так как одна точка сопряжения окислительного фосфорилирования и клеточного дыхания при передаче водорода с НАД·Н₂ на ФАД·Н₂ отсутствует. На других участках энергия превращается в тепловую.

В дыхательную цепь для окончательного окисления и получения энергии поступает водород в виде НАД·Н₂ и ФАД·Н₂ из различных процессов: гликолиз, ЦТК, окислительное декарбоксилирование пировиноградной кислоты, β-окисление жирных кислот и др.

9.5.4. Баланс энергии окисления глюкозы

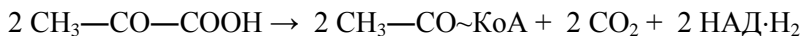
Баланс энергии биохимических процессов определяется количеством молекул АТФ, образованием которых он сопровождается.

Для расчета баланса энергии одной молекулы глюкозы необходимо суммировать количество АТФ, образующихся во всех процессах окислительного распада глюкозы до углекислого газа и воды. Следовательно, выход АТФ при полном окислении глюкозы до углекислого газа и воды рассчитывается следующим образом.

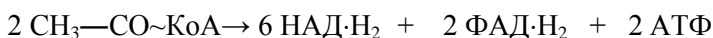
1. В гликолизе:



2. При окислительном декарбоксилировании ПВК:



3. В цикле Кребса:

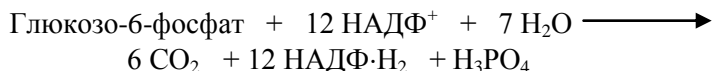


Таким образом, при аэробном распаде глюкозы в дыхательную цепь поступает 10 НАД·Н₂, каждый из которых, окисляясь до воды, выделяет энергию, достаточную для образования трех АТФ, следовательно, всего образуется 30 АТФ. Две молекулы ФАД·Н₂, окисля-

ясь в дыхательной цепи, обеспечивают образование 2 АТФ, следовательно, всего 4 АТФ. Кроме того, в гликолизе и ЦТК образуется по 2 АТФ в результате субстратного фосфорилирования. Всего при полном окислении глюкозы синтезируется 38 молекул АТФ.

9.6. Пентозофосфатный цикл

Пентозофосфатный цикл – последовательность ферментативных реакций окисления глюкозо-6-фосфата до углекислого газа и воды без предварительного расщепления до триоз, происходящих в цитоплазме и сопровождающихся образованием восстановленного НАДФ (НАДФ·Н₂). Суммарное уравнение полного окисления глюкозо-6-фосфата:



В цикл одновременно вступают шесть молекул глюкозо-6-фосфата. Первая группа реакций связана с прямым окислением и декарбоксилированием шести молекул глюкозо-6-фосфата, что сопровождается образованием фосфопентоз (рибулозо-5-фосфата), НАДФ·Н₂ и освобождением углекислого газа.

Во второй фазе пентозофосфатного цикла образовавшиеся фосфопентозы претерпевают реакции изомеризации и эпимеризации и участвуют в неокислительных реакциях (катализируются обычно транскетолазами и трансальдолазами), приводящих в конце к образованию пяти молекул глюкозо-6-фосфата. Одна молекула исключается из цикла, затрачиваясь на образование различных моносахаридов, необходимых для метаболизма.

Таким образом, пентозофосфатный путь цикличен по самой природе. Характерная особенность анаэробной фазы пентозофосфатного цикла – переход от продуктов гликолиза к образованию фосфопентоз, необходимых для синтеза нуклеотидов и нуклеиновых кислот, и наоборот, использование продуктов пентозного пути для перехода к гликолизу. Важнейшим соединением, обеспечивающим такой двусторонний переход, является эритрозо-4-фосфат, который будет предшественником в биосинтезе ароматических аминокислот у автотрофных организмов. Пентозофосфатный цикл не

является основным путем обмена глюкозы и обычно не используется клеткой для получения энергии.

Биологическое значение пентозофосфатного цикла заключается в снабжении клетки восстановленным НАДФ·Н₂ (за счет которого удовлетворяется до 50 % потребности клетки в водороде как восстановительном агенте), необходимым для биосинтеза жирных кислот, холестерина, стероидных гормонов, пуринов и других важнейших соединений, а также в обеспечении клетки необходимыми моносахаридами с различной длиной углеродного скелета от С₃ до С₇, в частности пентоз, рибозы и дезоксирибозы.

Ферменты пентозофосфатного цикла используются в темновой фазе фотосинтеза при образовании глюкозы из углекислого газа в цикле Кальвина. Пентозофосфатный путь широко представлен в природе и обнаружен у животных, растений и микроорганизмов.

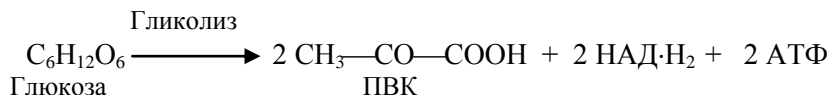
9.7. Брожение

Брожение – анаэробный ферментативный окислительно-восстановительный процесс превращения органических веществ, посредством которого организмы получают энергию, необходимую для жизнедеятельности. По сравнению с процессами, идущими в присутствии кислорода, брожение – эволюционно более ранняя и энергетически менее выгодная форма извлечения энергии из питательных веществ.

Брожение имеет место в организме животных, растений и многих микроорганизмов (некоторые бактерии, микроскопические грибы, простейшие растут только за счет энергии, получаемой при брожении). В брожение могут включаться спирты, органические кислоты, аминокислоты, пурины, пиримидины, но чаще всего углеводы. В зависимости от сбраживаемого субстрата и путей его метаболизма в результате брожения образуются спирты (этанол и др.), органические кислоты (молочная, масляная и др.), ацетон и некоторые другие органические соединения, углекислый газ, а при ряде брожений – молекулярный водород. По основным образуемым продуктам различают спиртовое, молочнокислое, маслянокислое и другие виды брожения.

Практически наиболее важным процессом брожения является *спиртовое брожение*, лежащее в основе целого ряда пищевых производств: виноделия, пивоварения, изготовления спирта. Спиртовое брожение осуществляется благодаря жизнедеятельности ряда микроорганизмов. Наиболее типичными организмами спиртового брожения являются дрожжи. Среди них наибольшее значение имеют истинные дрожжи – организмы, принадлежащие к роду *Saccharomyces*.

Спиртовое брожение происходит в два этапа. На первом этапе идет преобразование глюкозы по пути гликолиза до пировиноградной кислоты:

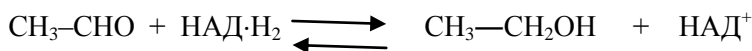


На втором этапе в анаэробных условиях под действием фермента пируватдекарбоксилазы пировиноградная кислота подвергается декарбоксилированию с образованием углекислого газа и уксусного альдегида:



В клетке эта реакция необратима.

Затем уксусный альдегид при участии фермента никотинзависимой алкогольдегидрогеназы восстанавливается до этанола:



Таким образом, суммарное уравнение спиртового брожения:



Кроме главных продуктов брожения этилового спирта и углекислого газа, образуются также некоторые другие вещества. В незначительных количествах всегда образуется янтарная кислота и так называемые сивушные масла – смесь амилового, изоамилового, бутилового и других спиртов; в ничтожных количествах обра-

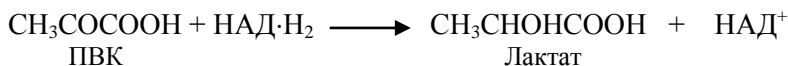
зуются также уксусный альдегид, глицерин и некоторые другие соединения, от которых зависит специфический аромат вина, пива и других спиртных напитков.

Разные сахара сбраживаются с различной скоростью. Наиболее легко подвергаются сбраживанию глюкоза и фруктоза, медленнее – манноза и еще медленнее – галактоза; пентозы дрожжами не сбраживаются; они могут сбраживаться лишь некоторыми плесневыми грибами из рода *Fusarium*. Из дисахаридов хорошим субстратом спиртового брожения являются сахароза и мальтоза. Однако оба эти сахара сбраживаются лишь после предварительного гидролиза на составляющие их моносахариды. Лактоза сбраживается лишь некоторыми особыми видами дрожжей, так называемыми лактозными дрожжами, содержащими β -галактозидазу и поэтому способными гидролизовать лактозу на глюкозу и галактозу.

В присутствии кислорода спиртовое брожение прекращается и дрожжи получают энергию, необходимую для их развития и жизнедеятельности, путем аэробного дыхания, расщепляя углеводы до углекислого газа и воды. При этом дрожжи тратят сахар значительно экономнее, чем в анаэробных условиях. Прекращение брожения под влиянием кислорода называется «эффектом Пастера».

Молочнокислое брожение – это процесс получения энергии молочнокислыми бактериями. Различают два вида молочнокислого брожения: *гомоферментативное* и *гетероферментативное*, которые осуществляются соответствующими группами молочнокислых бактерий.

При гомоферментативном молочнокислом брожении из глюкозы образуется молочная кислота под действием молочнокислых бактерий. Этот процесс идет также в две стадии и на первой стадии совпадает с гликолизом (до образования пировиноградной кислоты). Преобразование пирувата в молочную кислоту осуществляется при участии фермента лактатдегидрогеназы, роль переносчика водорода играет восстановленный НАД:



Суммарное уравнение гомоферментативного молочнокислого брожения:



Лактат, накапливаясь до рН 4,8–4,6, вызывает скисание молока. Этот процесс имеет место при квашении капусты, огурцов, помидор и других продуктов растительного происхождения, силосовании кормов для животных. Образующийся лактат предотвращает развитие гнилостных бактерий, плесневых грибов, т.е. служит консервантом.

Гетероферментативные бактерии (разнотипнобродящие) наряду с молочной кислотой образуют значительное количество других веществ: этанола, CO_2 , уксусной кислоты. Окисление углеводов молока гетероферментативными молочнокислыми бактериями осуществляется своеобразной ферментативной системой, в которой нет фермента альдолазы, но есть ферменты пентозофосфатного цикла и других типов брожения. После фосфорилирования гексоза окисляется дегидрогеназой и декарбоксилируется, превращаясь в пентозофосфат. Последний расщепляется на глицеральдегид-3-фосфат и ацетилфосфат. Глицеральдегид-3-фосфат, как и у гомоферментативных молочнокислых бактерий, окисляется до пирувата, который затем восстанавливается в лактат, а $НАД \cdot H_2$ окисляется в $НАД^+$. Ацетилфосфат дефосфорилируется и превращается в ацетат (уксусную кислоту), частично восстанавливается (через уксусный альдегид) в этанол. Таким образом, конечными акцепторами водорода в этом типе брожения служит пируват и уксусный альдегид.

Культуры гетероферментативных молочнокислых бактерий используют в производстве кефира, кумыса, курунги, мацони и других продуктов.

Третьим важнейшим видом брожения является *маслянокислое брожение*. Большинство микроорганизмов, вызывающих маслянокислое брожение, являются анаэробами. Некоторые из них принадлежат к группе облигатных анаэробов, то есть таких организмов, которые могут жить только в отсутствии кислорода и для которых последний является губительным ядом.

Суммарное уравнение маслянокислого брожения:



Наряду с масляной кислотой, углекислым газом и водородом при маслянокислом брожении могут образоваться этиловый спирт, а также молочная и уксусная кислоты.

Маслянокислое брожение в природных условиях происходит в гигантских масштабах на дне болот, в заболоченных почвах, в различного рода илах и всех тех местах, куда ограничен доступ кислорода и где благодаря деятельности маслянокислых бактерий разлагается огромное количество органических веществ.

Гомоферментативное молочнокислое, спиртовое и маслянокислое брожения являются основными типами брожений. Все другие виды брожений представляют собой комбинацию трех основных типов. Например, пропионовокислое брожение, играющее важную роль при производстве сыров и сопровождающееся накоплением пропионовой кислоты, уксусной кислоты и углекислого газа, может рассматриваться как комбинация гомоферментативного молочнокислого и спиртового брожений. *Ацетоноэтиловое брожение* является комбинацией спиртового и маслянокислого брожений. Сбраживание клетчатки и пектиновых веществ – разновидности маслянокислого брожения.

Таким образом, три главных типа брожения органически связаны между собой. Об этом свидетельствуют многочисленные экспериментальные данные, полученные при исследовании промежуточных продуктов брожений.

Глава 10. ОБМЕН ЛИПИДОВ

10.1. Роль липидов в животных и растительных организмах

Липиды широко распространены в природе, и их роль весьма разнообразна. Прежде всего фосфолипиды, гликолипиды и стероиды – важнейшие компоненты биологических мембран, окружающих протоплазму и содержащиеся в ней субклеточные структуры: ядро, митохондрии, пластиды, лизосомы.

Липиды служат также энергетическим материалом для организма. При окислении 1 г жира выделяется 9,3 ккал (39 кДж), в то время как при окислении 1 г углеводов и белков освобождается 4,1 ккал (17,22 кДж). Распадаясь в организме, жиры дают не только энергию, но и значительное количество воды.

Если при окислении 1 г белка образуется 0,41 г воды, при окислении 1 г углеводов – 0,55 г, то при окислении 1 г жира выделяется 1,07 г воды.

Образование воды является важной чертой обмена жиров, особенно у животных, живущих в засушливых районах, у которых жиры окисляются весьма интенсивно и организм успешно справляется с водной недостаточностью, используя воду, которая образуется в процессе обмена веществ.

Одновременно липиды являются запасными веществами, накапливающимися в значительных количествах в животном организме, некоторых плодах и семенах, в микроорганизмах. Запас жиров и их распад имеют большое значение при прорастании семян на сухих почвах. Например, семена масличных растений содержат мало углеводов, основными запасными веществами в них являются жиры, которые служат источником энергии и материалом для построения тканей развивающегося зародыша. За счет распада жиров прорастание семян масличных культур идет очень интенсивно.

В связи с хорошо выраженными термоизоляционными свойствами липиды сохраняют тепло в организме, особенно у морских и полярных животных, выполняя тем самым защитную функцию. В виде жировой прокладки предохраняют тело и органы животных

от механических повреждений, служат жировой смазкой для кожи. Восковой налет на листьях и плодах растений защищает от избыточного испарения и проникновения микроорганизмов. Липидные компоненты бактерий в значительной мере определяют их чувствительность или резистентность к антибиотикам. Некоторые из липидов имеют отношение к иммунитету (гликолипиды).

Регуляторной активностью обладают простагландины, полипrenoловые коферменты-переносчики. От свойств и структуры мембранных липидов во многом зависит активность мембраносвязанных ферментов, особенности протекания процессов окислительного фосфорилирования.

Для животных организмов липиды являются источником незаменимых жирных кислот (линолевая $C_{17}H_{31}COOH$ и линоленовая $C_{17}H_{29}COOH$). Эти кислоты в животном организме не синтезируются, поэтому должны поступать с пищей. Линолевая и линоленовая кислоты, поступающие с пищей, служат предшественником для синтеза арахидоновой кислоты. Полиненасыщенные жирные кислоты ускоряют окисление в организме животных насыщенных жирных кислот и таким образом принимают участие в обмене жиров.

Обмен липидов в живом организме складывается из их гидролиза, окисления продуктов гидролиза и синтеза липидов, характерных для данного организма.

В организме животных гидролиз липидов происходит в пищеварительном тракте и тканях. Гидролиз липидов в пищеварительном тракте называется перевариванием. Гидролиз липидов в растениях происходит в семенах, особенно при прорастании семян масличных.

10.2. Гидролиз липидов

10.2.1. Превращение липидов в пищеварительном тракте

Липиды – важнейшая составная часть пищи. Человеку необходимы как животные, так и растительные жиры. В составе животных жиров в организм поступают жирорастворимые витамины А, D, Е и К; растительные жиры богаты непредельными жирными кислотами (витамин F).

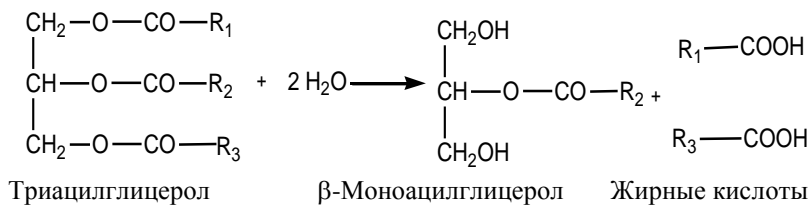
Переваривание жира начинается в желудке, где на него действует фермент липаза. Но она расщепляет только эмульгированный жир. Из пищевых жиров такими являются жиры молока и желтка яиц птицы, поэтому этот процесс имеет значение главным образом у детей грудного возраста.

Основным местом переваривания жиров является начальная часть тонкого отдела кишечника, где имеются все необходимые условия: слабощелочная среда рН 7,5–8,5; перемешивание пищи с пищеварительными соками; наличие эмульгаторов.

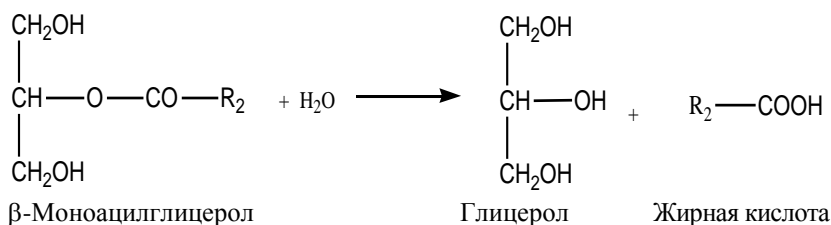
Из эмульгаторов в кишечнике человека важную роль играют желчные кислоты: холевая, дезоксихолевая, литохолевая, хенодезоксихолевая, таурохолевая и гликохолевая. Они вырабатываются клетками печени и поступают в кишечник с желчью. Эти кислоты являются производными холановой кислоты и различаются между собой числом и местом расположения гидроксильных групп. В желчи человека преобладает холевая кислота. Наиболее часто она соединена с глицином или таурином. Связь образуется между карбоксильной группой желчной кислоты и аминной группой глицина или таурина. Соединение желчных кислот с глицином или таурином называют *парными соединениями*. Соли парных соединений желчных кислот облегчают эмульгирование. Кроме желчных кислот и их парных соединений, для образования эмульсии жира необходимы ненасыщенные жирные кислоты и моноацилглицеролы, которые всегда есть в кишечнике.

Таким образом, в результате взаимодействия жиров, желчных кислот и их солей, ненасыщенных жирных кислот, моноацилглицеролов образуется очень тонкая жировая эмульсия с диаметром частиц менее 0,5 мкм, которая способна проходить через стенку кишечника.

Основная масса липидов пищи представлена триацилглицеролами, меньше – фосфолипидами и стероидами. Гидролиз жиров в кишечнике осуществляет липаза, поступающая туда с соком поджелудочной железы. Наряду с эмульгирующими свойствами желчные кислоты являются активаторами липазы поджелудочной железы. Гидролиз триацилглицеролов липазой идет постепенно. Присоединяясь к капелькам эмульсии, она катализирует отщепление сначала крайних жирных кислот. В результате образуются жирные кислоты и β -моноацилглицеролы:

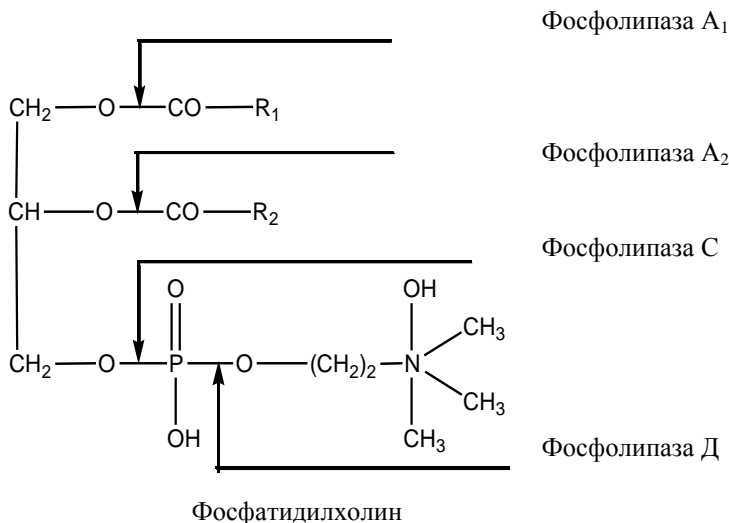


Эту реакцию осуществляют липазы, специфичные в отношении 1,3-эфирных связей. Связи во втором положении гидролизуют другие липазы:



Таким образом, практически основными продуктами, образующимися в кишечнике при расщеплении жиров, являются жирные кислоты, β-моноацилглицеролы и глицерол.

Наряду с жирами в составе пищи в организм поступают глицерофосфолипиды. Гидролиз глицерофосфолипидов в пищеварительном тракте осуществляется при участии ряда ферментов: фосфолипаз А₁, А₂, С и Д. Схема действия следующая: фосфолипаза А₁ гидролизует связь в первом положении, фосфолипаза А₂ отщепляет жирную кислоту во втором положении. Фосфолипаза С вызывает гидролиз связи между фосфорной кислотой и глицеролом, а фосфолипаза Д отщепляет спиртоаминопроизводное соединение по схеме:



Подобно действуют фосфолипазы тканей растений, животных и микроорганизмов. В результате действия фосфолипаз глицерофосфолипиды расщепляются с образованием глицерола, жирных кислот, азотистого основания и фосфорной кислоты.

Стериды, подвергаясь действию гидролитических ферментов типа холестеролэстеразы, расщепляются в кишечнике с образованием спирта холестерола или эргостерола и соответствующей жирной кислоты. Эти ферменты продуцируются поджелудочной железой и активны только в присутствии солей желчных кислот.

10.2.2. Всасывание продуктов гидролиза липидов

Около 40 % жиров пищи гидролизуются полностью до глицерина и жирных кислот, 3–10 % всасываются без гидролиза в форме триацилглицеролов, а остальные гидролизуются частично, главным образом до β-моноацилглицеролов. Глицерол и жирные кислоты с числом углеродных атомов десять и менее свободно растворяются в воде и легко всасываются в чистом виде через стенку тонкого кишечника. Поступают в кровь и из нее в печень. Каким-либо превращениям в стенке кишечника они не подвергаются.

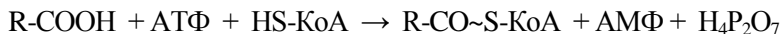
Для всасывания жирных кислот с длинной цепью (более десяти углеродных атомов) необходимы желчные кислоты. Их способность транспортировать жирные кислоты через слизистую оболочку кишечника связана с их поверхностно-активными свойствами и способностью к мицеллообразованию с моноацилглицеролами и мылами. Такие мицеллы могут проходить через водный слой, имеющийся на поверхности слизистой оболочки кишечника. Особую роль при этом играют желчные кислоты: таурохолевая и гликохолевая. Соединяясь с жирными кислотами, они образуют растворимые комплексы – холеиновые кислоты, которые легко всасываются в эпителий кишечника.

Фосфорная кислота, образующаяся при гидролизе фосфолипидов, всасывается в виде солей, а азотистые основания – холин, этаноламин и серин – всасываются при участии нуклеотидов (ЦДФ).

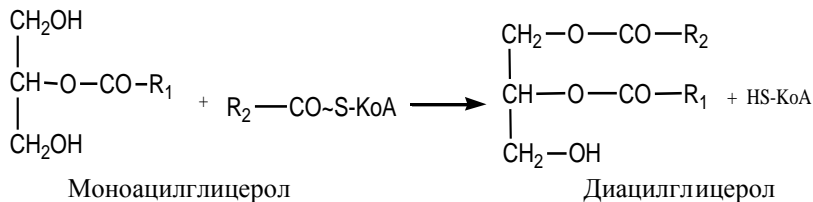
Среди основных стероидов пищи только холестерол легко проникает через стенки кишечника. Также легко всасываются витамин D и некоторые стероидные гормоны.

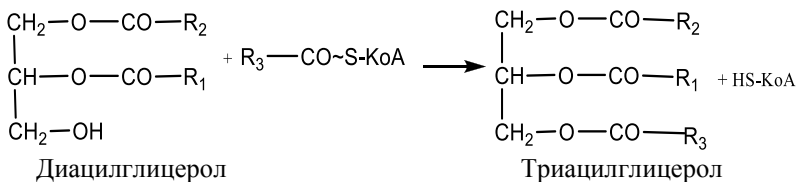
10.2.3. Ресинтез жиров в стенках кишечника

Механизм ресинтеза (повторный синтез) триацилглицеролов в стенках кишечника сводится к следующему: вначале жирная кислота активируется при участии фермента ацил-КоА-синтетаза:



После этого происходит ацилирование моноацилглицеролов активированной жирной кислотой с образованием диацилглицеролов, а затем триацилглицеролов:





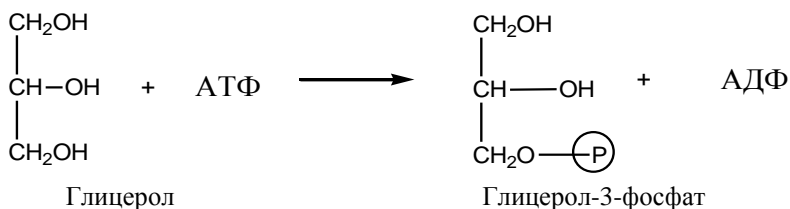
В реакциях участвуют ферменты ацилтрансферазы. Такой путь ресинтеза называют *моноглицеридным*.

Ресинтезированный в стенке кишечника жир соединяется с небольшим количеством белка, образуя комплексную частицу – *хиломикрон* (ХМ). Это частица больших размеров (100–5000 нм). В кровеносные капилляры хиломикроны проникать не могут, а проникают в лимфатические сосуды, а из них поступают в кровь и переносятся в жировую ткань жировых депо, где откладываются в виде запасов резервного жира. Резервный жир имеет специфические особенности, характерные для вида животных.

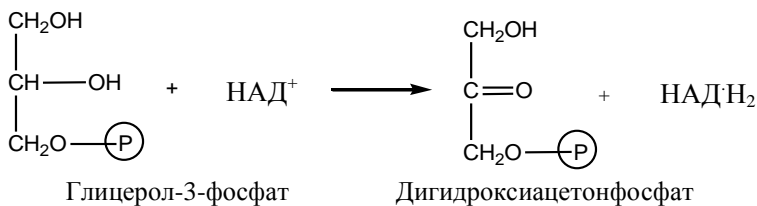
10.3. Окисление липидов в тканях

10.3.1. Окисление глицерола

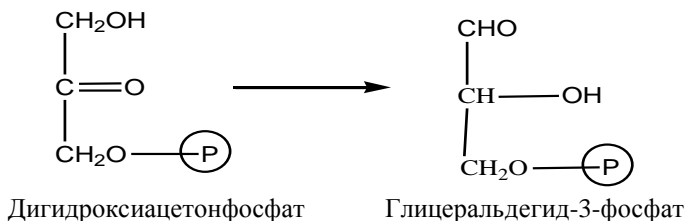
Образовавшийся в процессе гидролиза глицерол может подвергаться различным превращениям. Обмен глицерола начинается с его фосфорилирования с участием фермента глицеролкиназы, катализирующего перенос фосфатного остатка от АТФ на глицерол:



В случае окислительного распада глицерол-3-фосфат подвергается окислению под действием фермента глицеролфосфатдегидрогеназы, образуя дигидроксиацетонфосфат (ДГАФ):



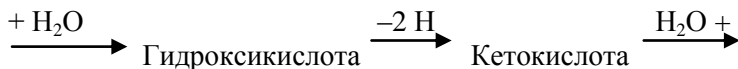
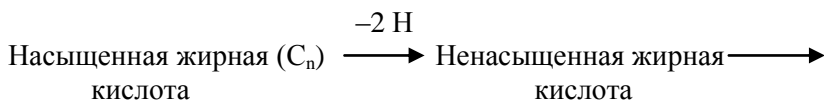
Дигидроксиацетонфосфат изомеризуется в глицеральдегид-3-фосфат при участии фермента триозофосфатизомеразы:



Глицеральдегид-3-фосфат образуется также в процессе обмена углеводов при распаде фруктозо-1,6-дифосфата в гликолизе. Следовательно, глицеральдегид-3-фосфат является связующим звеном углеводного и липидного обмена и может далее окисляться по пути гликолиза до пировиноградной кислоты. Образовавшаяся пировиноградная кислота подвергается окислительному декарбоксилированию и в форме ацетил-КоА вовлекается затем в цикл трикарбоновых кислот и окисляется до углекислого газа и воды с выделением энергии. В растениях глицеральдегид-3-фосфат может идти на синтез углеводов.

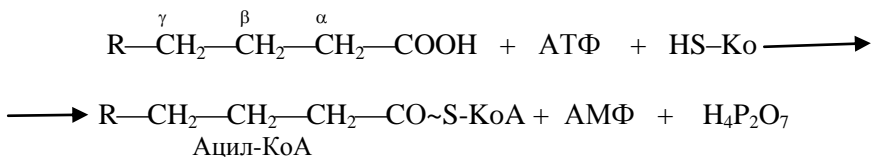
10.3.2. Окисление жирных кислот

Окисление жирных кислот протекает в матриксе митохондрий. В основе механизма окисления жирных кислот лежит теория, предложенная в 1904 г. Ф. Кнопом, который экспериментально доказал, что молекулы жирной кислоты распадаются постепенно, укорачиваясь на два углеродных атома. Эта теория получила название теории β -окисления, потому что окислению всегда подвергается второй от карбоксила углеродный атом по схеме:



Ацетил + Насыщенная жирная кислота (C_{n-2})

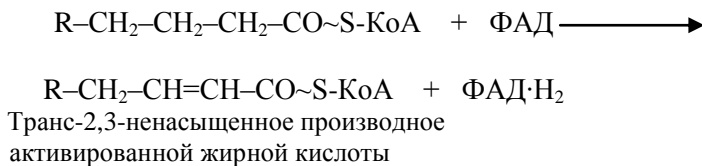
Современные данные подтвердили теорию Ф. Кнопа. Первоначально жирная кислота активируется при участии АТФ и кофермента А ферментом ацил-КоА-синтетаза:



Образовавшиеся активированные жирные кислоты вступают в четыре последовательные реакции.

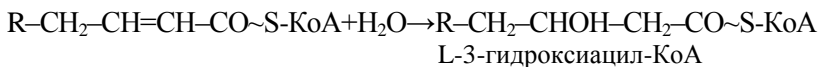
1. Первая реакция дегидрирования.

Дегидрирование, катализируемое ферментом ацил-КоА-дегидрогеназой, простетической группой которого является ФАД:



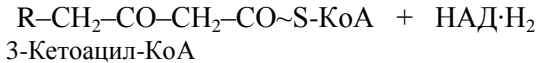
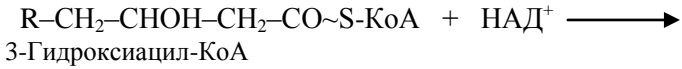
2. Реакция гидратации.

Гидратация двойной связи при участии фермента еноил-КоА-гидратаза с образованием L-3-гидроксиацил-КоА:



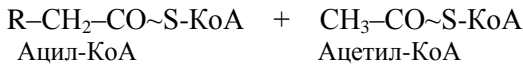
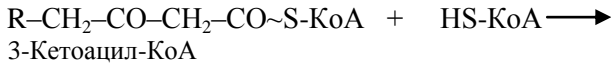
3. Вторая реакция дегидрирования.

Дегидрирование, катализируемое ферментом L-3-гидроксиацил-КоА-дегидрогеназой, активной группой которого служит НАД⁺:



4. Реакция тиолиза.

Взаимодействие 3-кетоацил-КоА с другой молекулой кофермента А, сопровождаемое образованием ацетил-КоА и ацил-КоА, укороченного на два углеродных атома, под действием фермента 3-кетотиолазы:



Образовавшийся ацетил-КоА подвергается окислению в цикле Кребса или расходуется на процесс синтеза. Ацил-КоА снова проходит весь путь β-окисления, укоротившись еще на два атома углерода, за счет которых образуется еще одна молекула ацетил-КоА и т.д.

Таким образом, последовательное повторение этих четырех реакций приводит к полному распаду жирной кислоты с четным числом углеродных атомов до ацетил-КоА. Жирные кислоты с нечетным числом атомов углерода распадаются до соответствующего числа молекул ацетил-КоА и одной молекулы пропионил-КоА, образующегося в последнем цикле β-окисления. Образовавшийся пропионил-КоА карбоксилируется, превращаясь в метилмалоновую кислоту, последняя изомеризуется, образуя активированную янтарную кислоту (сукцинил-КоА), являющуюся метаболитом

ЦТК, и соответственно включается в этот процесс, распадаясь до CO_2 и H_2O .

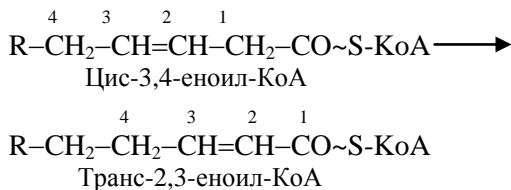
При окислении жирных кислот до конечных продуктов выделяется большое количество энергии. В процессе β -окисления жирная кислота распадается на $n/2$ молекул ацетил-КоА, где n – число углеродных атомов в жирной кислоте. В результате дегидрирования жирной кислоты образуется: $(n/2 - 1)$ НАД·Н₂ и $(n/2 - 1)$ ФАД·Н₂. Например, в результате β -окисления пальмитиновой кислоты ($\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{14}-\text{COOH}$) получаем $16 : 2 = 8$ ацетил-КоА; $(16 : 2 - 1) = 7$ НАД·Н₂; $(16 : 2 - 1) = 7$ ФАД·Н₂. Восемь ацетил-КоА направляются в цикл Кребса для окончательного окисления до CO_2 и водородных потенциалов, в результате получаем 8×3 НАД·Н₂ = 24 НАД·Н₂ и 8×1 ФАД·Н₂ = 8 ФАД·Н₂, а также 8 АТФ. Весь водород, полученный при окислении пальмитиновой кислоты, направляется в дыхательную цепь для окончательного окисления с участием кислорода и выделением энергии, которая расходуется на образование АТФ. При поступлении водорода в дыхательную цепь с НАД-зависимых дегидрогеназ при полном окислении получают 3 АТФ, а при вступлении водорода в цепь биологического окисления с флавопротеинов образуется 2 АТФ.

Таким образом, в дыхательную цепь поступают $(24+7)$ НАД·Н₂ и $(8+7)$ ФАД·Н₂. В результате окислительного фосфорилирования образуется 31×3 АТФ и 15×2 АТФ, всего 123 АТФ. При окислении каждого ацетил-КоА в цикле Кребса также получается энергия в виде 1 АТФ и всего 8 АТФ. Итого при полном окислении пальмитиновой кислоты (C_{16}) выделяется 131 АТФ, из них 1 АТФ расходуется на первой стадии при активировании жирной кислоты.

Следовательно, баланс энергии при полном окислении пальмитиновой кислоты составил 130 АТФ.

10.3.3. Окисление ненасыщенных жирных кислот

Окисление ненасыщенных жирных кислот в принципе происходит аналогично окислению насыщенных жирных кислот. Особенность состоит в том, что последовательное удаление двух углеродных фрагментов при окислении ненасыщенных жирных кислот дает промежуточное соединение, называемое Δ -3,4-ацил-КоА:



Фермент Δ-3,4-цис-Δ-2,3-транс-еноил-КоА-изомераза катализирует перемещение двойной связи из положения 3,4 в положение 2,3 и изменение конфигурации этой связи из цис- в транс-положение. В результате образуется субстрат, который может в дальнейшем окисляться путем последовательного удаления ацетил-КоА.

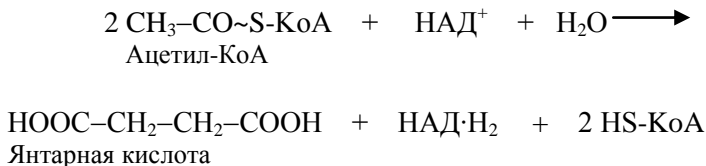
Таким образом, наличие изомеразы обеспечивает возможность полного окисления всех ненасыщенных жирных кислот, содержащихся в природных липидах.

10.3.4. Глиоксилатный цикл

Часть ацетил-КоА, образовавшегося при β-окислении жирных кислот, используется для синтеза углеводов и некоторых других соединений. При биосинтезе углеводов ацетил-КоА включается в глиоксилатный цикл (рис. 10.1).

Глиоксилатный цикл – это видоизмененный цикл трикарбоновых кислот, который характерен для высших растений, плесневых грибов, некоторых бактерий. Цикл открыт Г. Кребсом в 1957 г. Как видно из схемы, главным продуктом цикла является янтарная кислота, которая расходуется растениями для синтеза глюкозы.

Суммарное уравнение глиоксилатного цикла следующее:



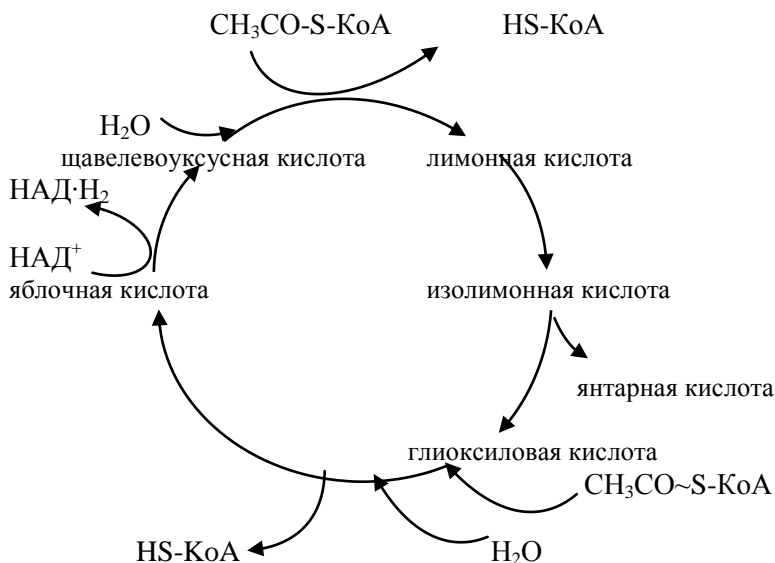


Рис. 10.1. Схема реакций глиоксилатного цикла

При каждом обороте глиоксилатного цикла в него включают две молекулы ацетил-КоА, образуя молекулу янтарной кислоты, которая может вступить в реакции глюконеогенеза (ресинтез углеводов), другие процессы биосинтеза либо в ЦТК. В результате глиоксилатного цикла 2 атома водорода поступают в дыхательную цепь, образуя 3 молекулы АТФ. Это важно для организмов, использующих ацетильные и другие двууглеродные соединения в качестве источников энергии – субстратов окисления.

Кроме того, биологическая роль глиоксилатного цикла заключается в том, что в его реакции синтезируется глиоксилатная кислота – исходное соединение для образования аминокислоты глицина. Кроме того, глиоксилатная кислота, декарбоксилируясь, превращается в муравьиную кислоту и муравьиный альдегид, принимающие участие в ряде процессов обмена веществ. Однако главная роль глиоксилатного цикла состоит в том, что в нем образуется янтарная кислота, т.е. становится возможным процесс превращения жирных кислот в углеводы. Особенно активно этот процесс осуществляется в прорастающих семенах масличных растений. Запас-

ные триацилглицеролы расщепляются, при окислении входящих в их состав жирных кислот образуется ацетил-КоА, который вступает в реакции глиоксилатного цикла, образуя янтарную кислоту, последняя превращается в углеводы в результате реакций ЦТК и глюконеогенеза. Ферменты глиоксилатного цикла локализируются у растений в микротельцах, называемых глиоксисомами.

Таким образом, благодаря глиоксилатному циклу значительно расширяются возможные взаимосвязи между обменом жиров, углеводов, органических кислот, аминокислот и других соединений в растениях.

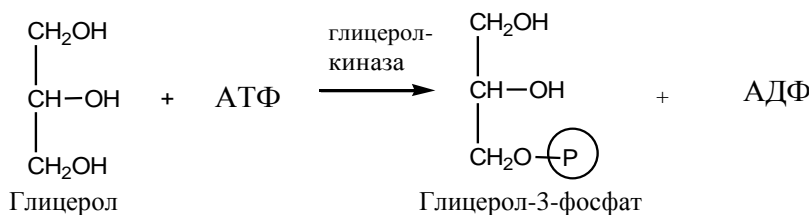
10.4. Биосинтез липидов в тканях

10.4.1. Биосинтез жиров (ацилглицеролов)

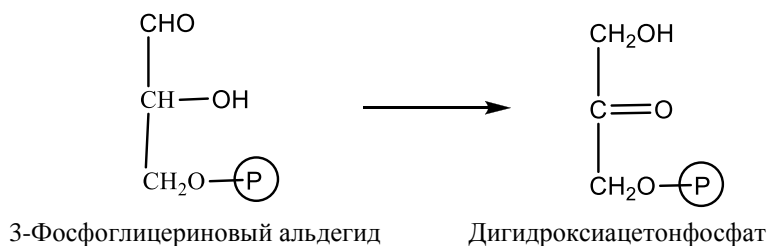
У большинства организмов биосинтез липидов – важное звено обмена веществ. В виде триацилглицеролов и жирных кислот в организме животных запасается в больших количествах энергетический материал. В семенах растений также накапливается много триацилглицеролов, которые при прорастании используются как энергетический, так и пластический материал. Процесс биосинтеза жиров осуществляется в три стадии: 1) биосинтез глицерол-3-фосфата; 2) биосинтез жирных кислот; 3) присоединение жирных кислот к глицерол-3-фосфату (собственно синтез ацилглицеролов).

Биосинтез глицерол-3-фосфата

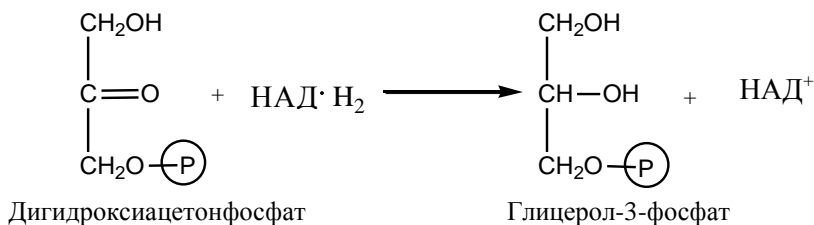
При биосинтезе жиров жирные кислоты соединяются не со свободным глицеролом, а с его фосфорилированным производным – глицерол-3-фосфатом, который у животных организмов может образовываться при восстановлении 3-фосфоглицеринового альдегида и дигидроксиацетонфосфата, являющихся метаболитами гликолиза, а также из глицерола, освободившегося при гидролизе жиров путем его фосфорилирования по схеме:



У растений глицерол-3-фосфат может образовываться только из 3-фосфоглицеринового альдегида и дигидроксиацетонфосфата при участии фермента триозофосфатизомеразы:



Дигидроксиацетонфосфат восстанавливается под действием фермента глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы до глицерол-3-фосфата:

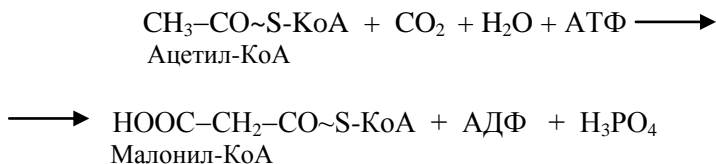


Биосинтез насыщенных жирных кислот

Основным местом синтеза жирных кислот является цитоплазма. В некотором количестве жирные кислоты синтезируются также с участием ферментов, локализованных в мембранах эндоплазматической сети. Исходным материалом для синтеза жирных

кислот служат ацетил-КоА, который образуется из глюкозы, не использованной на энергетические нужды, сохраняемых в резерве полисахаридов и аминокислот, не требующихся для других процессов. В качестве восстановителя в биосинтезе жирных кислот расходуется НАДФ·Н₂, образующийся в пентозофосфатном цикле. Другим источником НАДФ·Н₂ служит окисление малата до пировата и СО₂ малатдегидрогеназой.

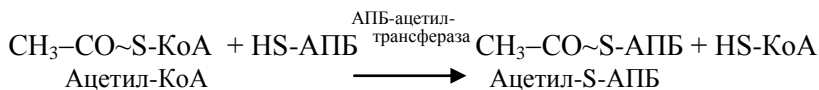
Ключевым промежуточным продуктом синтеза жирных кислот является малонил-КоА, который образуется путем карбоксилирования ацетил-КоА при участии АТФ и фермента ацетил-КоА-карбоксилазы:

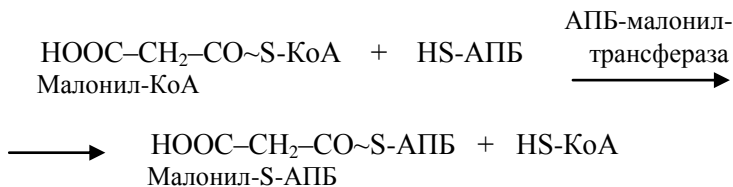


Ацетил-КоА-карбоксилаза – двухкомпонентный фермент, в состав которого входит витамин Н (биотин).

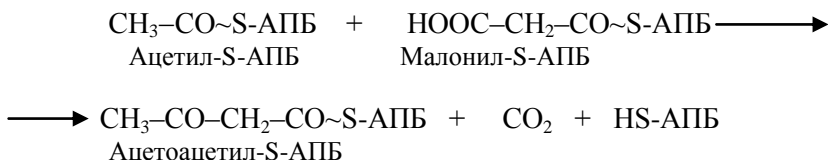
Синтез жирных кислот из ацетил-КоА и малонил-КоА катализирует многоферментный комплекс, который называется *синтаза жирных кислот*. У высших растений, животных и микроорганизмов этот комплекс состоит из 7 ферментов и кофермента, называемого *ацилпереносящим белком* (сокращенно HS-АПБ). Этот белок термостабилен, имеет свободную сульфгидрильную группу HS- и участвует практически на всех этапах синтеза жирных кислот.

Последовательность реакций, в которых образуется насыщенная жирная кислота, следующая: вначале ацетил-КоА и малонил-КоА вступают во взаимодействие с HS-АПБ с образованием ацетил-S-АПБ и малонил-S-АПБ:

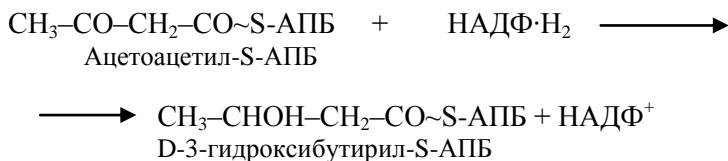




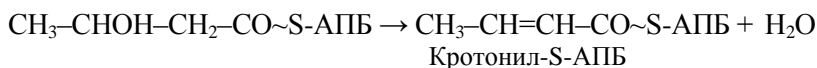
Двууглеродные и трехуглеродные фрагменты при участии фермента 3-оксоацил-АПБ-синтазы взаимодействуют между собой. В результате образуется соединение ацетоацетил-АПБ:



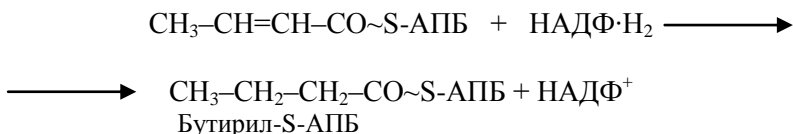
Затем происходит восстановление четырехуглеродного соединения с образованием D-3-гидроксибутирил-АПБ под действием фермента НАДФ зависимой 3-кетоацил-АПБ-редуктазы:



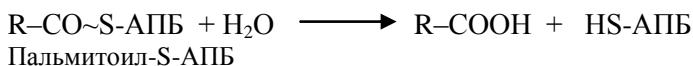
Далее в результате дегидратации образуется кротоноил-S-АПБ с участием фермента 3-гидроксиацил-АПБ-дегидратаза:



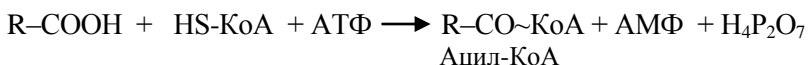
После этого происходит второе восстановление с образованием бутирил-S-АПБ при участии фермента еноил-АПБ-редуктаза:



В результате последовательных реакций за один цикл образуется четырехуглеродный фрагмент – бутирил-S-АПБ, который в свою очередь взаимодействует с новой молекулой малонил-S-АПБ и образует капронил-S-АПБ (шестиуглеродное соединение), и так идет повторение до синтеза кислоты нужной длины. После того как образуется конечный продукт, например, пальмитоил-S-АПБ под действием гидролитического фермента деацилазы, синтезированная молекула пальмитиновой кислоты отщепляется от ацилпереносящего белка:

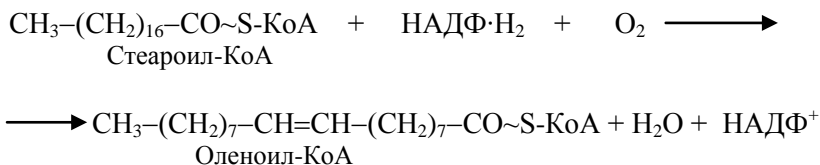


Образовавшаяся жирная кислота взаимодействует с коферментом А при участии фермента ацил-КоА-синтетаза и АТФ, превращаясь в активированную форму (ацил-КоА):

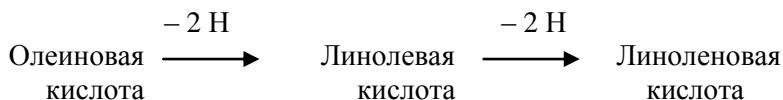


Биосинтез ненасыщенных жирных кислот

Ненасыщенные жирные кислоты синтезируются из насыщенных кислот. Образование двойной связи в молекуле жирной кислоты происходит в результате реакции окисления, катализируемой ферментом ацетил-КоА-оксигеназой:



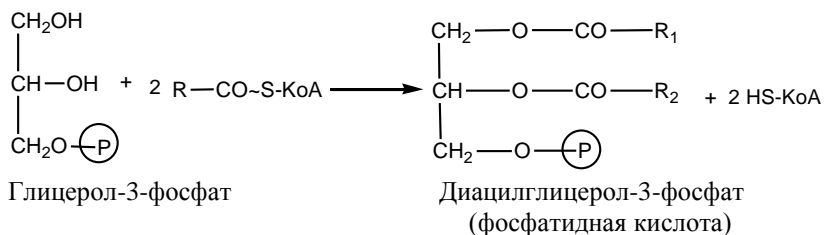
Олеиновая кислота в растениях служит предшественником линолевой, а последняя – предшественником линоленовой кислоты. Реакции идут под действием ферментов оксигеназ по схеме:



Человек и животные не способны синтезировать линолевую и линоленовую кислоты, поэтому их называют незаменимыми жирными кислотами и они поступают в организм с растительной пищей. Поступившая с пищей линолевая кислота служит предшественником для синтеза арахидоновой кислоты.

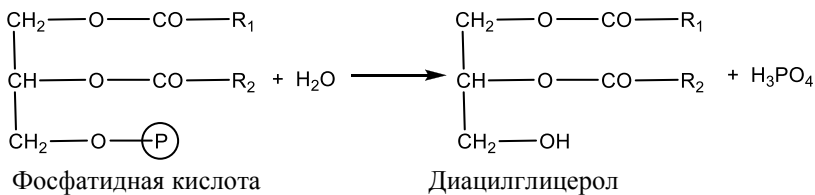
*Присоединение жирных кислот к глицерол-3-фосфату
(собственно синтез ацилглицеролов)*

На первом этапе синтеза триацилглицеролов происходит ацилирование двух свободных гидроксильных групп глицерол-3-фосфата двумя молекулами активированной жирной кислоты (ацил-КоА) при участии фермента глицерол-3-фосфат-ацилтрансфераза с образованием диацилглицерол-3-фосфата или фосфатидной кислоты:

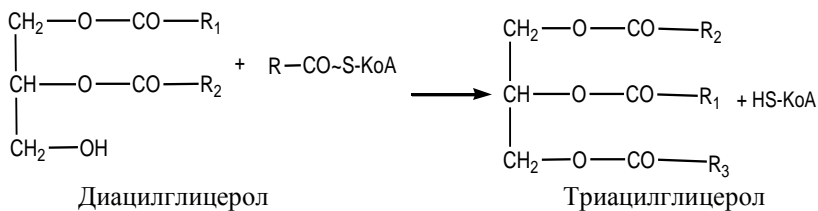


Фосфатидная кислота в клетке не накапливается, но служит важным промежуточным продуктом для синтеза жиров и глицерофосфолипидов.

При биосинтезе триацилглицеролов от фосфатидной кислоты под действием фермента фосфатазы отщепляется фосфорная кислота и образуется диацилглицерол:



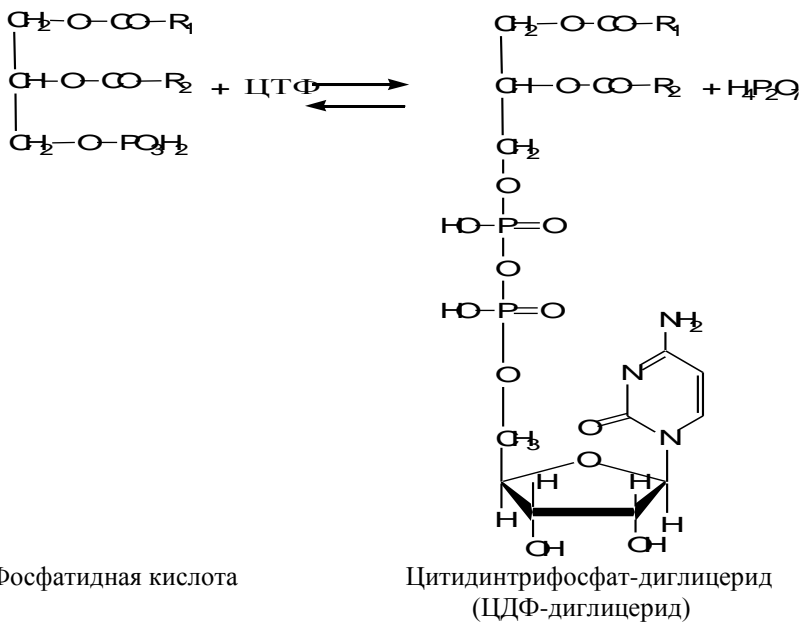
Диацилглицерол взаимодействует с новой молекулой активированной жирной кислоты и образуется триацилглицерол:



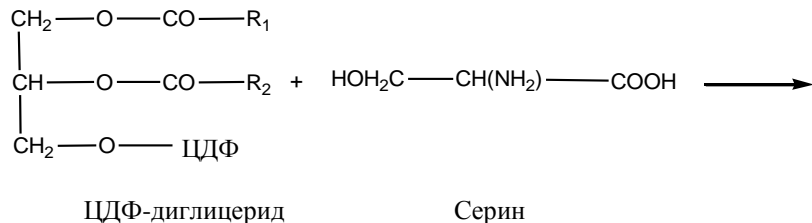
Такой путь синтеза жиров называют *глицерофосфатным*.

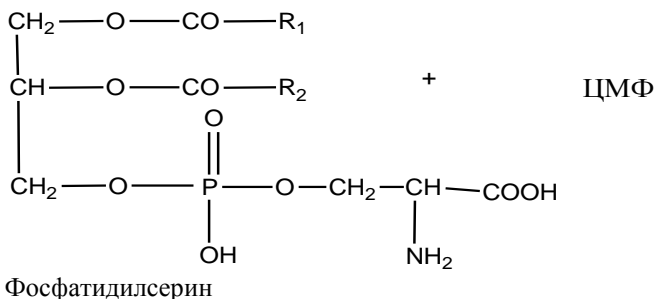
10.4.2. Биосинтез глицерофосфолипидов

Синтез наиболее важных глицерофосфолипидов локализован главным образом в эндоплазматической сети клетки. Сначала фосфатидная кислота в результате обратимой реакции с цитидинтрифосфатом (ЦТФ) превращается в цитидинтрифосфатдиглицерид (ЦДФ-диглицерид):

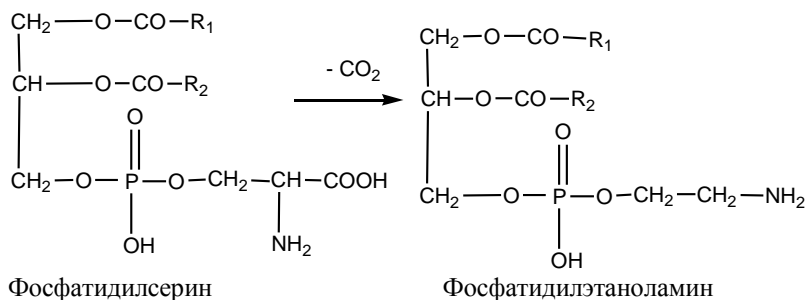


Затем в последующих реакциях, каждая из которых катализируется соответствующим ферментом, цитидинмонофосфат вытесняется из молекулы ЦДФ-диглицерида одним из двух соединений – серином или инозитом, образуя фосфатидилсерин или фосфатидинозит. В качестве примера приводим образование фосфатидилсерина:

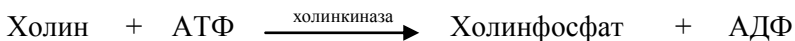




В свою очередь, фосфатидилсерин может декарбоксилироваться с образованием фосфатидилэтаноламина:



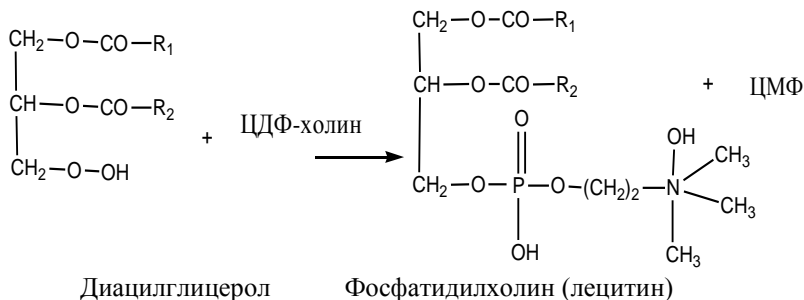
Существует еще один путь синтеза фосфатидилэтаноламина и фосфатидилхолина в клетках животных. В этом пути также используется ЦТФ в качестве переносчика, но не фосфатидной кислоты, а фосфорилхолина или фосфорилэтаноламина. Схема реакций следующая:



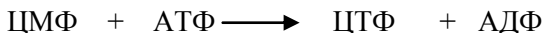
На следующей стадии холинфосфат реагирует с цитидинтрифосфатом с образованием цитидиндифосфатхолина и минеральной пиродифосфорной кислоты. Реакция катализируется ферментом холинфосфатцитидилтрансферазой:



Затем фермент холинфосфотрансфераза катализирует соединение диацилглицерола с цитидиндифосфатхолином с образованием фосфатидилхолина (лецитина) и свободной цитидиловой кислоты (ЦМФ):



ЦМФ вновь фосфорилируется под действием АТФ и может принимать участие в биосинтезе новых молекул фосфатидилхолина:



10.5. Накопление и использование липидов в масличных культурах

Растительные жиры, или масла, широко распространены в растениях. Содержатся в любой растительной клетке и в значительном количестве могут накапливаться в семенах и плодах. Жиры – главный запасной продукт семян масличных растений. Растения, возделываемые человеком ради получения семян с большим количеством масла, называют масличными культурами.

Основные процессы в период созревания семян масличных культур – синтез жиров из углеводов и белков из аминокислот.

Процесс биосинтеза и накопления жира в семенах идет со времени оплодотворения до полного созревания семян. Однако интенсивность его на разных стадиях развития семян различна. Сразу же после цветения в основном наблюдается образование новых клеток, рост ткани семени, а интенсивность накопления жира в семенах в этот период относительно невысока. Вскоре после цветения в них отмечается высокое содержание полисахаридов,

растворимых углеводов и белковых веществ, а количество жира остается на низком уровне. Позднее, после окончания роста семенных тканей, синтез белков несколько ослабевает, и одновременно возрастает интенсивность превращения углеводов в жиры. В этот период семена масличных культур характеризуются очень высоким дыхательным коэффициентом (например, для созревающих семян клеверины он равняется 4,7). Объясняется это тем, что углеводы, из которых образуются жиры, содержат больше кислорода, чем жиры. Синтез жиров продолжается до полного созревания семян, но в последний период его интенсивность значительно снижается.

Кроме изменения общего содержания жиров в семенах масличных культур при их созревании, довольно резко меняется и качественный их состав. В массе незрелых семян много свободных жирных кислот, благодаря чему кислотное число такого масла довольно высокое. Во время созревания уменьшается количество свободных жирных кислот в масле и снижается кислотное число.

Наряду с изменением кислотного числа при созревании семян изменяются и другие показатели масла: первое время после цветения в маслах содержится много насыщенных жирных кислот, а непредельных кислот довольно мало. По мере созревания количество насыщенных кислот уменьшается.

Процесс расщепления жира в растительном организме происходит особенно энергично при прорастании семян масличных культур. Он начинается с гидролитического распада жиров, происходящего под действием липазы, и сопровождается накоплением глицерина и свободных жирных кислот. Образующиеся глицерин и жирные кислоты чрезвычайно быстро используются для различных синтезов, происходящих в развивающемся ростке. При этом главным продуктом, возникающим в результате превращения жиров, является сахар. Необходимо отметить, что при прорастании богатых жиром семян образуются не только гексозы, но и пентозы. Этот факт указывает на то, что во время прорастания семян жир расщепляется до низкомолекулярных соединений. Путем конденсации этих низкомолекулярных соединений образуются затем различные моносахариды и другие вещества.

Дыхательный коэффициент прорастающих масличных семян весьма низок и может достигать величин, близких к 0,3. Это объ-

ясняется тем, что при прорастании семян бедные кислородом жирные кислоты превращаются в богатые им сахара. Вследствие этого кислород потребляется не только для осуществления самого процесса дыхания прорастающих семян, но и для предварительного превращения жира в сахар. Если при созревании масличных семян в первую очередь образуются насыщенные кислоты и они служат материалом для дальнейшего образования ненасыщенных жирных кислот, то прорастание масличных семян сопровождается обычно понижением йодного числа, что свидетельствует о преимущественном потреблении и превращении ненасыщенных кислот. Накопление свободных жирных кислот происходит при прорастании семян вследствие гидролиза жира под действием липазы. Также понижается йодное число, что свидетельствует о быстром расходовании ненасыщенных жирных кислот.

Глава 11. ОБМЕН БЕЛКОВЫХ ВЕЩЕСТВ (азотистый обмен)

11.1. Роль белков в обмене и питании

Организм человека нуждается в постоянном поступлении с пищей белковых веществ, которые используются организмом как пластический материал для построения тканевых белков. Белки являются важнейшей составной частью пищи. Исключение белков из рациона даже на короткий срок приводит к серьезным нарушениям, а иногда и к необратимым явлениям. Особенно чувствительна к белковому голоданию центральная нервная система, в первую очередь кора головного мозга. Даже при полном голодании человека мозг и сердце долго не теряют в массе, обновляют свои белки за счет их распада в мышцах и печени.

Состояние обмена белков в организме животных определяют по балансу азота. Это связано с тем, что основная масса азота пищи представлена белками. Большинство выделяемых конечных азотистых продуктов образуется при распаде белков.

Баланс азота – это разница между количеством азота, поступающего с пищей, и азота, выделяемого из организма с конечными продуктами обмена. Различают положительный баланс азота, отрицательный баланс азота и азотистое равновесие. *Положительный баланс* – количество поступившего с пищей азота превышает количество выделяемого азота с конечными продуктами обмена. Он наблюдается у растущих организмов, у беременных, после голодания и при заболеваниях. *Отрицательный баланс* – количество поступившего с пищей азота меньше количества выделенного азота. Наблюдается при голодании, болезнях и у пожилых людей. *Азотистое равновесие* – масса поступившего с пищей азота и масса азота конечных продуктов одинаковы. Состояние азотистого равновесия характерно для физиологии здорового человека, находящегося на полноценной диете с нормальным суточным потреблением азота. Масса белка, которая поддерживает азотистое равновесие, получила название «физиологический минимум белка». Суточная потребность для взрослого человека умственного труда и труда средней физической тяжести при затрате энергии 2,5 тыс. ккал в сутки со-

ставляет 100–120 г белка. Рабочие, выполняющие тяжелую физическую нагрузку, должны получать 130–150 г белка в сутки. В молодом возрасте потребность в белках на 1 кг массы тела значительно больше и составляет 5–6 г, в то время как у взрослых – 1,5–2 г. В пищу человек употребляет белки животного и растительного происхождения, важно соблюдать определенное соотношение между ними. На долю животных белков должно приходиться не менее 60 %. Как указывалось выше, полноценность белков определяется наличием в них незаменимых аминокислот. Для человека незаменимыми аминокислотами являются: валин, изолейцин, лейцин, лизин, метионин, треонин, триптофан, фенилаланин.

11.2. Переваривание белков в пищеварительном тракте

Белки, поступая с пищей в пищеварительный тракт, в результате последовательного воздействия на них группы протеолитических ферментов расщепляются до низкомолекулярных полипептидов и аминокислот. Последние всасываются в кровь и принимают участие в обновлении белков разных тканей и в биосинтезе активных веществ белковой природы (гормонов, ферментов).

Переваривание белков носит гидролитический характер и заключается в расщеплении пептидных связей. Этот процесс начинается в желудке под влиянием желудочного сока. Желудочный сок, выделяемый железами слизистой оболочки стенок желудка, содержит до 99 % воды, свободную соляную кислоту (0,4–0,5 %) и протеолитический фермент – пепсин. У молодых животных желудочный сок содержит еще один протеолитический фермент – химозин (ренин).

Пепсин быстро катализирует гидролиз белков яиц, молока, мышц. Труднее расщепляются белки соединительной ткани – коллаген и эластин. Не расщепляются протамины и кератины. Важную роль в гидролизе белков в желудке выполняет соляная кислота. Она активизирует ферменты желудочного сока, создает соответствующий рН 1,5–2,5, обеспечивающий набухание белков и распад третичной структуры, дезинфицирует пищу.

Действие пепсина на пептидные связи отличается абсолютной специфичностью в отношении оптической конфигурации аминокислотных остатков по обе стороны от гидролизуемой связи.

Особенно благоприятствует действию пепсина наличие ароматического кольца в боковой цепи одной из аминокислот. При действии пепсина происходит разрыв внутренних пептидных связей белковой молекулы. В результате гидролиза белков пепсином образуется смесь полипептидов.

Следующим местом расщепления белков является начальная часть тонкого отдела кишечника, где белки пищи подвергаются воздействию пептидгидролаз кишечного сока, вырабатываемых в поджелудочной железе. Ферменты сока поджелудочной железы – трипсин и химотрипсин – гидролизуют белки и пептиды, перешедшие из желудка, до более простых пептидов и некоторых количеств аминокислот.

Трипсин и химотрипсин изначально вырабатываются в неактивной форме в виде трипсиногена и химотрипсиногена. Под действием фермента энтерокиназы трипсиноген превращается в активный фермент трипсин. Химотрипсиноген переходит в активную форму – химотрипсин – под действием трипсина. Оптимум действия этих протеолитических ферментов лежит в слабощелочной среде с рН 7,8. Синтез ферментов в неактивной форме имеет большое биологическое значение. Лишенные ферментативной активности, они не способны гидролизовать белки ткани, в которой сами образовались, и белковую основу других ферментов, вырабатываемых поджелудочной железой (амилаза, липаза).

Все протеолитические ферменты по химической природе являются полипептидами или белками. Неактивные их формы отличаются большой молекулярной массой за счет содержания полипептидов-ингибиторов, в отщеплении которых и заключается процесс активирования.

Расщепление пептидов до аминокислот завершают пептидазы: карбоксипептидазы, аминопептидазы и дипептидазы. Карбоксипептидазы расщепляют полипептид со стороны свободной карбоксильной группы; аминопептидазы – со стороны свободной аминогруппы. Образовавшиеся в результате гидролиза короткие пептиды и дипептиды распадаются под влиянием дипептидаз до свободных аминокислот.

Таким образом, пищевой белок по мере его продвижения в желудочно-кишечном тракте подвергается ферментативному гидролизу и распадается на аминокислоты, которые всасываются

стенками кишечника, поступают в кровь и принимают участие в обмене веществ. Чистый белок в кровь не поступает.

11.3. Гниение белков в толстом кишечнике

В ротовой полости, желудке и тонком кишечнике в норме нет условий для развития гнилостных бактерий. В толстом кишечнике часть аминокислот используется микробами как источник питания. Этот процесс называется *гниением белков* и заключается в разнообразных биохимических превращениях аминокислот под воздействием ферментов, вырабатываемых микрофлорой толстой кишки.

При декарбоксилировании аминокислот образуются амины, иногда ядовитые: из орнитина образуется путресцин, из лизина – кадаверин. При их дезаминировании под воздействием дезаминаксида образуются различные продукты: насыщенные и ненасыщенные кислоты, оксикислоты, кетокислоты.

При бактериальном разрушении цистина, цистеина и метионина образуются сероводород (H_2S), метилмеркаптан (CH_3SH) и другие серосодержащие соединения. Эти токсические соединения не проникают через стенку кишечника и выводятся наружу. Из тирозина, фенилаланина путем постоянного укорочения его боковой цепи образуются токсичные крезол и фенол. Эти вещества после всасывания через систему воротной вены попадают в печень. Обезвреживание их происходит путем образования парных сложноэфирных соединений с серной или глюкуроновой кислотами. Такие парные соединения не токсичны, выделяются с мочой.

Из аминокислоты триптофана при гниении белков образуются индол и скатол, которые также обезвреживаются в печени путем соединения с серной или глюкуроновой кислотами, предварительно окисляясь в соединения, содержащие гидроксильные группы (индоксил и скатоксил), за счет которых они и образуют парные нетоксичные сложноэфирные соединения.

11.4. Распад белков в тканях животных организмов

В животных организмах распад белков происходит не только в пищеварительном тракте, но и в тканях, где имеется сложная система пептидгидролаз. Пептидгидролазы животных тканей вместе с другими гидролазами сосредоточены в основном в специальных органеллах клетки, называемых *лизосомами*. Внутриклеточные протеиназы, гидролизующие белки в слабокислой области рН, называются *катепсинами*. Лизосомные пептидгидролазы осуществляют гидролиз тканевых белков до аминокислот.

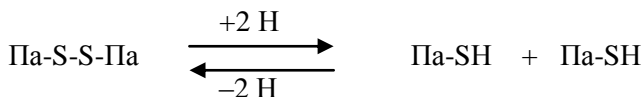
Таким образом, в тканях находятся аминокислоты, поступившие из пищеварительного тракта, и аминокислоты, освобожденные при распаде устаревших тканевых белков. Эти аминокислоты расходуются для нужд организма, в том числе и для синтеза. Особенно активно происходит гидролиз белков в тканях с нарушенной жизнедеятельностью (нарушено питание, кровообращение). Такие ткани быстро «расплавляются» при участии тканевых пептидгидролаз, т.е. подвергаются самоперевариванию. Процесс самопереваривания и растворения тканей называют *автолизом*.

Автолитические изменения происходят в мясе, где частично расплавляются не только белки, но и липиды и нуклеиновые кислоты. Эти процессы лежат в основе созревания мяса. Распад белков при участии пептидгидролаз происходит и в процессе хранения молока, созревания сыров. Источником пептидгидролаз являются микроорганизмы молока и заквасок. Пептидгидролазы могут поступать в молоко из крови. Например, при хранении молока γ -казеин образуется при расщеплении β -казеина пептидгидролазами молока.

11.5. Распад белков в растениях

Распад белков может происходить и в тканях растений. Катализируют этот процесс пептидгидролазы, среди которых выделяют протеиназы и пептидазы. Среди протеиназ растений наиболее распространенными являются папаиназы (или тиоловые протеиназы). Свое название они получили в связи с тем, что по строению похожи на растительную протеиназу папаин. Папаин имеет молекулярную массу 20 700, содержит 212 аминокислотных остат-

ков, имеет три дисульфидные связи и одну сульфгидрильную группу, которая вместе с радикалом гистидина входит в активный центр фермента. Характерной особенностью папаина и папаиназа является то, что они при участии сероводорода, цистеина, восстановленного глутатиона и других соединений, содержащих сульфгидрильные группы, переходят в активное состояние:



Образуется равновесная система. Под действием окислителей папаин инактивируется, так как его сульфгидрильные группы превращаются в дисульфидную связь.

Распад белков может происходить как в муке при изготовлении теста, так и в растениях при их росте. Присутствие в муке пептидгидролаз приводит к разрушению клейковинных белков и ухудшению хлебопекарных качеств. В результате тесто расплывается, разжижается, что снижает качество хлеба.

В растениях распад белков происходит в молодом возрасте особенно интенсивно. В результате белки обновляются, перераспределяются по растению. На более поздних фазах роста интенсивность обновления белка ослабевает.

11.6. Метаболизм аминокислот в клетках

В клетках тканей аминокислоты, полученные при переваривании белков пищи или расщеплении устаревших белков, используются для синтеза тканевых белков, полипептидов, пептидов, гормонов, ферментов и других соединений. Свободные аминокислоты подвергаются внутриклеточным превращениям. Аминокислоты могут синтезироваться в клетках живых организмов из простых предшественников. В растениях и большинстве микроорганизмов синтезируются все протеиногенные аминокислоты, в организме человека синтезируются двенадцать из них.

Аминокислоты в организме используются как источник энергии, распадаясь до конечных продуктов обмена: углекислого газа, воды, мочевины, аммиака.

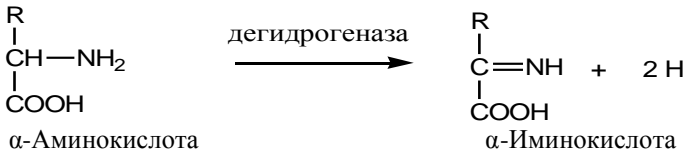
11.6.1. Дезаминирование аминокислот

В силу уникального строения радикалов протеиногенных аминокислот каждая из них характеризуется специфическими путями метаболизма (катаболические и анаболические реакции). Однако все аминокислоты имеют одинаковые фрагменты строения молекулы. Это обеспечивает существование в организме общих реакций распада и синтеза.

Все α -аминокислоты в процессе обмена включаются в реакции дезаминирования, декарбоксилирования и трансаминирования. Последняя реакция имеет место как при распаде аминокислот, так и при их синтезе. К реакциям синтеза, кроме того, относится восстановительное и прямое аминирование.

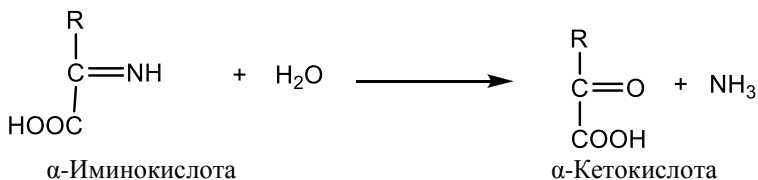
Превращение аминокислот имеет место за счет наличия в их молекуле α -аминогруппы. Дезаминирование – процесс отщепления α -аминогруппы в виде аммиака, в результате чего аминокислота превращается в соответствующую органическую кислоту. Существует несколько типов дезаминирования в зависимости от химического агента, под воздействием которого оно происходит (H_2 , H_2O и др.). В организме животных, растений, большинства микроорганизмов преобладающим типом является окислительное дезаминирование. Продуктами будут кетокислоты и аммиак. Реакция идет в две стадии.

1. Дегидрирование.



Из дегидрогеназ у животных, растений и микроорганизмов наиболее активна глутаматдегидрогеназа, функционирующая с $НАД^+$ или $НАДФ^+$.

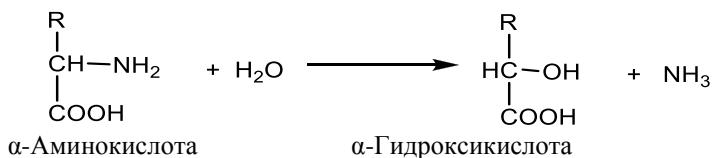
2. Превращение иминокислоты в кетокислоту.



Аммиак в организме обезвреживается. Одним из путей является образование мочевины. Образовавшиеся при дезаминировании α -кетокислоты подвергаются в тканях животных различным превращениям. Прежде всего α -кетокислоты могут подвергаться восстановительному аминированию с образованием соответствующей аминокислоты. Кроме того, существуют пути, ведущие к образованию глюкозы, жирных кислот, компонентов цикла трикарбоновых кислот с последующим окислением и получением энергии (рис. 11.1).

У бактерий, иногда у растений, встречаются другие три типа дезаминирования.

1. Гидролитическое.



2. Восстановительное.



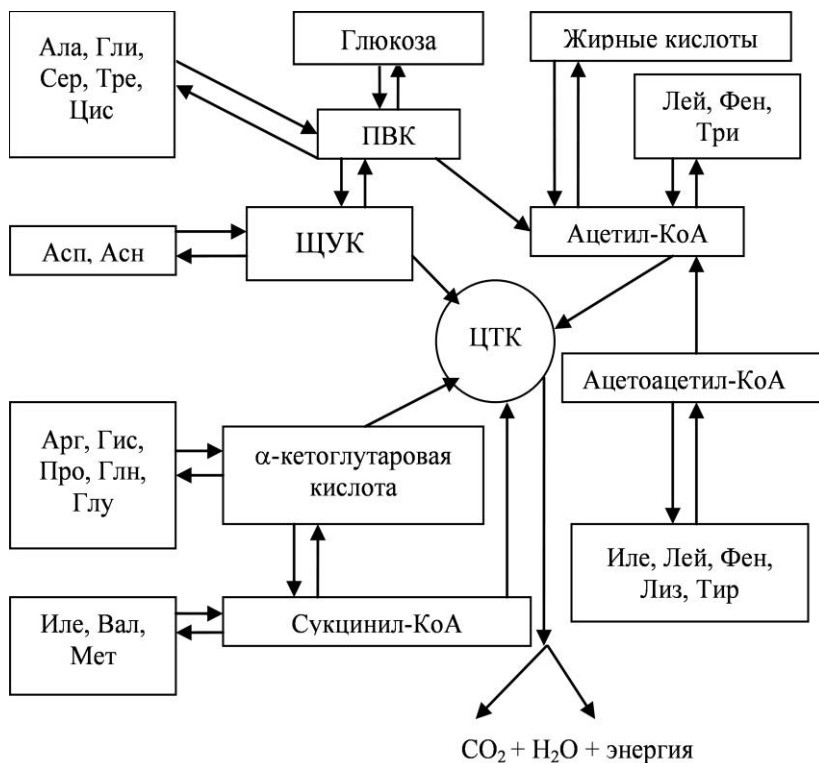
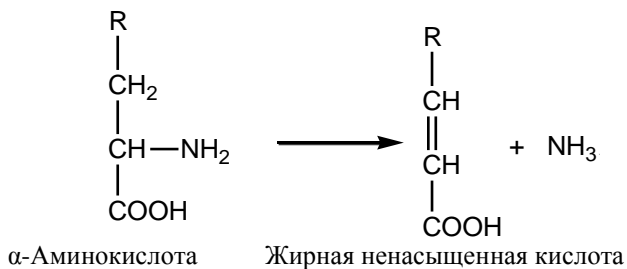
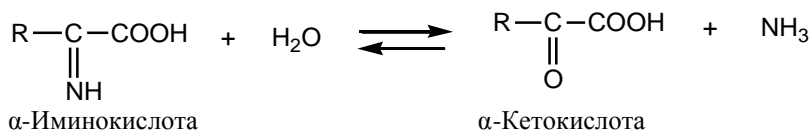
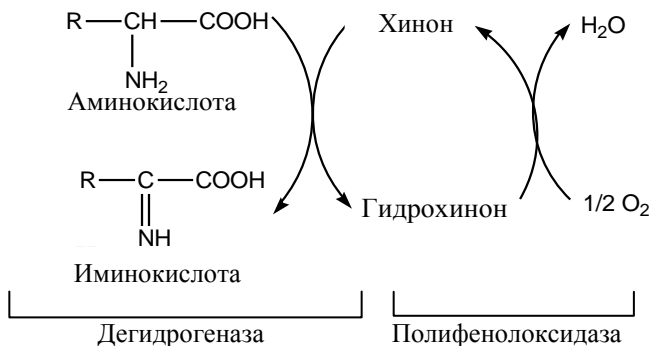


Рис. 11.1. Пути преобразования аминокислот в клетке

3. Внутримолекулярное.



В отличие от организмов животных, бактерий и грибов дезаминирование аминокислот в растениях происходит при участии дегидрогеназы и полифенолоксидазы по следующим схемам:



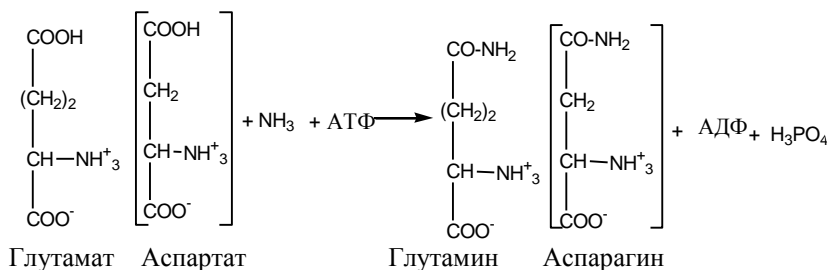
Дезаминирование аминокислот дрожжами

В дрожжах и плесневых грибах содержатся активные пептидгидролазы, под действием которых происходит гидролиз белков и пептидов клетками дрожжей до аминокислот. Образующиеся в результате гидролиза аминокислоты могут подвергаться целому ряду превращений, одним из которых является дезаминирование.

Процесс дезаминирования аминокислот дрожжами имеет важное значение в ряде бродильных производств, основанных на спиртовом брожении. При дезаминировании аминокислот дрожжами образуются сивушные масла, которые придают неприятный запах и вкус этанолу, вину, пиву. Под сивушными маслами понимают смесь различных одноатомных спиртов, альдегидов и кислот с числом углеродных атомов от одного до трех. Обычно это изо-спирты.

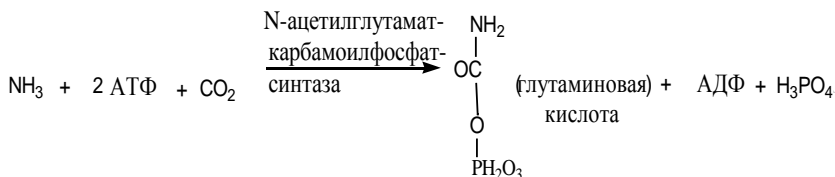
вреживается путем синтеза мочевины, которая выводится с мочой в качестве главного конечного продукта белкового обмена в организме человека и животных. Рассмотрим два основных пути связывания аммиака в клетках: синтез амидов и образование мочевины.

Синтез амидов требует затрат энергии в виде АТФ и присутствия глутаминовой или аспарагиновой кислот, свободного аммиака и катализируется специфическими ферментами глутамин- и аспарагинсинтетазами в соответствии с уравнением реакции:



Поскольку глутамин и аспарагин с мочой выделяются в небольшом количестве, было высказано предположение, что они выполняют, скорее, транспортную функцию.

Основным механизмом обезвреживания аммиака в организме является биосинтез мочевины, которая выводится с мочой в качестве главного конечного продукта белкового обмена (рис. 11.2). На первом этапе из CO_2 и NH_3 (или глутамина в качестве донора аммиака) синтезируется высокоэнергетическое соединение карбамоилфосфат. Этот синтез требует участия двух молекул АТФ:



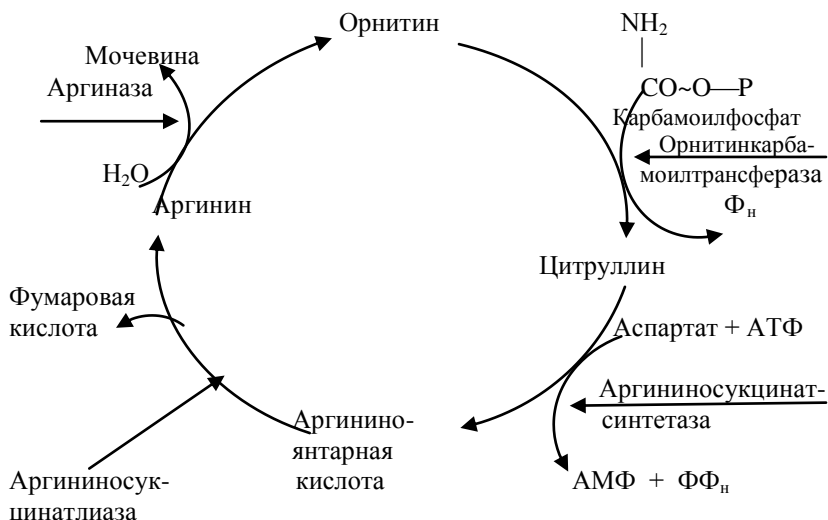
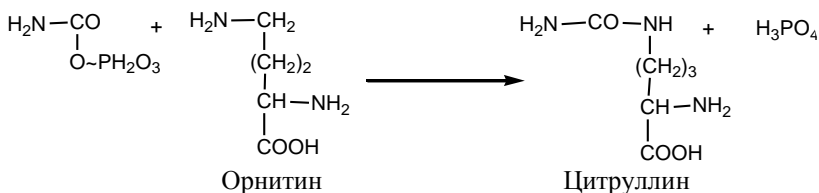


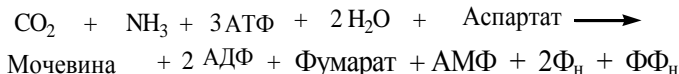
Рис. 11.2. Цикл мочевинообразования

На втором этапе – реакция конденсации карбамоилфосфата и орнитина с образованием цитруллина. Эту реакцию катализируют орнитинкарбамоилтрансфераза:



В следующей стадии цитруллин превращается в аргинин в результате двух последовательно протекающих реакций. На последнем этапе аргинин расщепляется на мочевину и орнитин под действием фермента аргиназы.

Суммарная реакция синтеза мочевины без учета промежуточных продуктов:



Таким образом, в процессе орнитинового цикла мочевинообразования утилизируются две молекулы аммиака. Одна из них включается в цикл через образование карбамоилфосфата, а вторая – через синтез аспарагиновой кислоты (аспартат), которая ресинтезируется из освобождающейся в процессе основного цикла фумаровой кислоты. Последняя под воздействием фермента фумаратгидратазы превращается в молочную кислоту (малат), которая окисляется до оксалоацетата (ЩУК), подвергающегося восстановительному аминированию (+NH₃), с образованием аспарагиновой кислоты, включающейся в основной цикл мочевинообразования.

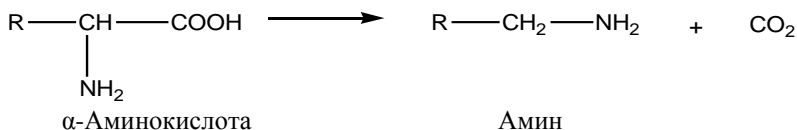
Эта цепь последовательных реакций образует вспомогательный цикл к циклу мочевинообразования и характеризуется следующей схемой:



Вышеописанные пути связывания аммиака в клетках обнаружены во всех видах живых организмов: животные, человек, растения, микроорганизмы.

11.6.3. Декарбоксилирование аминокислот

Процесс отщепления карбоксильной группы аминокислот в виде CO_2 получил название *декарбоксилирования*, при этом образуются биологически активные вещества, называемые *биогенными аминами*, так как обладают сильным фармакологическим действием на разнообразные физиологические функции организма человека и животных. Некоторые из них нашли широкое применение в качестве лекарственных средств. В растениях и у микроорганизмов также обнаружено декарбоксилирование некоторых аминокислот. Общая схема процесса декарбоксилирования аминокислот выглядит следующим образом:

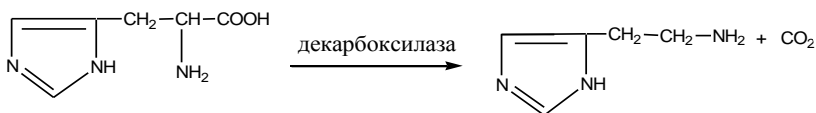


Реакции декарбоксилирования в отличие от других процессов промежуточного обмена аминокислот являются необратимыми. Они катализируются специфическими ферментами – декарбоксилазами аминокислот, которые состоят из белковой части, обеспечивающей специфичность действия, и протетической группы, представленной пиридоксальфосфатом (фосфорилированный витамин B_6).

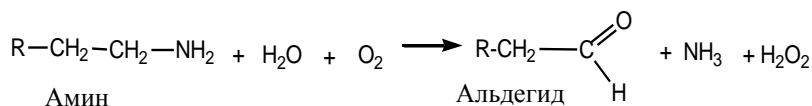
Декарбоксилазы подвергают декарбоксилированию только α -аминокислоты (стереохимическая специфичность). Если декарбоксилированию подвергается моноаминодикарбоновая кислота, то в результате реакции образуется соответствующая моноаминомонокарбоновая кислота:



При декарбоксилировании диаминомонокарбоновых аминокислот образуются соответствующие диамины. Например, при декарбоксилировании гистидина образуется гистамин:



В организмах амины не накапливаются и подвергаются окислению при участии ферментов, называемых моноаминоксидазами:



Альдегиды окисляются до кислот. Кислоты включаются в цикл Кребса. При неблагоприятных условиях в растениях амины могут накапливаться. В ряде растений из аминов синтезируются некоторые гетероциклические соединения. Например, алкалоиды (никотин, эфедрин, атропин и др.), являющиеся ядовитыми веществами.

11.6.4. Биосинтез аминокислот

Растения и микроорганизмы способны синтезировать весь набор аминокислот, входящий в состав белков, тогда как в организме человека образуется лишь половина из них, а остальные должны поступать с пищей. Аминокислоты, которые должны попадать в организм с пищей, называются незаменимыми, а остальные — заменимыми.

Пути биосинтеза аминокислот разнообразны. Однако они обладают одним важным свойством: углеродный скелет аминокислот происходит из промежуточных продуктов гликолиза, пентозофосфатного пути или цикла трикарбоновых кислот. Кроме того, все аминокислоты подразделяются на шесть биосинтетических семейств (рис. 11.3).

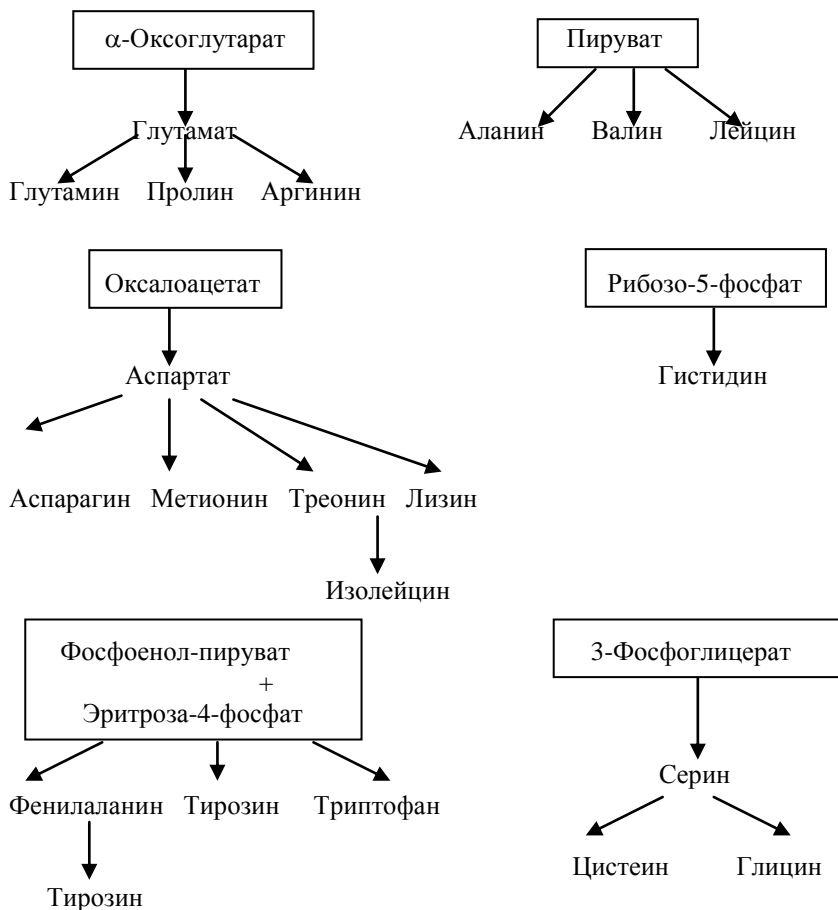


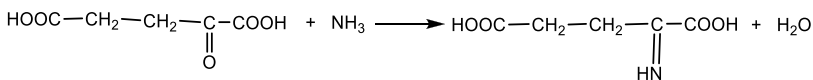
Рис. 11.3. Биологические семейства аминокислот

Биосинтез аминокислот может происходить посредством следующих реакций: восстановительного аминирования α -кетокислот или прямого аминирования ненасыщенных органических кислот, а также реакций трансаминирования (переаминирования) α -кетокислот.

Наиболее распространенным путем синтеза аминокислот является восстановительное аминирование α -кетокислот. Этот

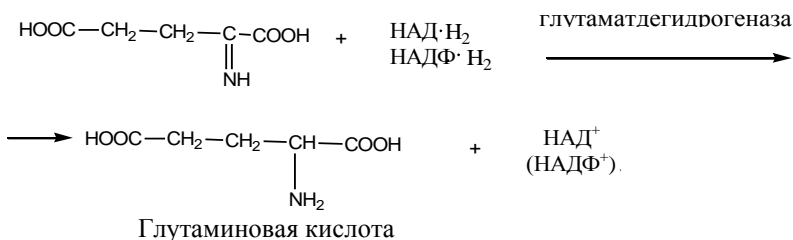
процесс является обратимым процессу окислительного дезаминирования и осуществляется в клетках животных, растений и микроорганизмах.

Посредством аминирования синтезируются две аминокислоты: глутаминовая кислота и аланин. Схема синтеза глутаминовой кислоты:

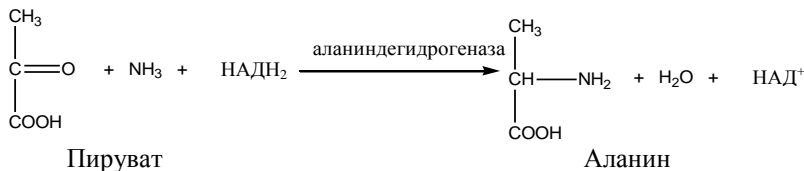


α-Кетоглутаровая кислота

Иминоглутаровая кислота

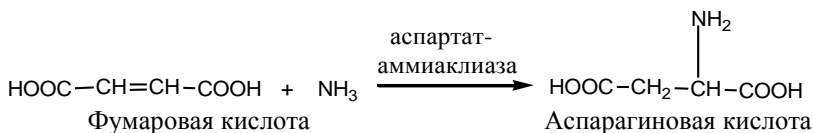


Аналогично синтезируется аланин путем присоединения к пировиноградной кислоте аммиака. Суммарное уравнение:



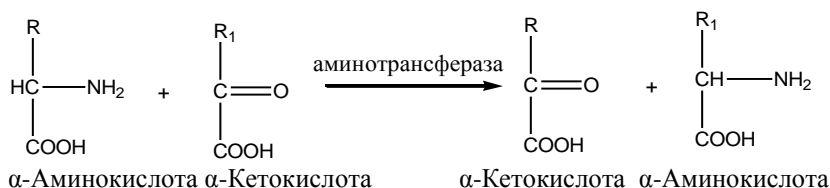
Восстановительное аминирование возможно для любой α-кетокислоты, но из всех дегидрогеназ наиболее активными являются глутаматдегидрогеназа и аланиндегидрогеназа.

Прямое аминирование непредельных кислот свойственно в основном бактериям и растениям. Хорошо изучено прямое аминирование fumarовой кислоты:



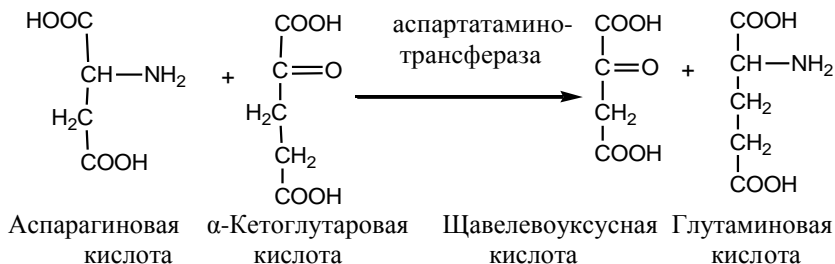
Аланин, аспарагиновая и глутаминовая кислоты называются *первичными* аминокислотами, так как они образуются в результате прямого аминирования. Остальные аминокислоты называются *вторичными*.

Суть реакций переаминирования (трансаминирования или непрямого аминирования) состоит в том, что происходит перенос аминогруппы с аминокислоты на α -кетокислоту. Процесс катализируют ферменты, называемые аминотрансферазами или трансаминазами. Это двухкомпонентные ферменты, коферментом которых служит фосфопиридоксаль (фосфорилированное производное витамина В₆), который является переносчиком аминогрупп:



Эта реакция имеет место как при биосинтезе, так и при распаде аминокислот.

В результате трансаминирования в основном образуется глутаминовая кислота, так как в большинстве случаев акцептором аминогрупп является α -кетоглутаровая кислота:



В реакцию могут вступать любые α -амино- и α -кетокислоты, но легче она протекает, если хотя бы одна из них является двухосновной.

11.6.5. Источники азота для биосинтеза аминокислот

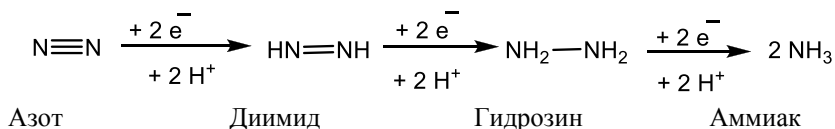
Для синтеза аминокислот и нуклеиновых кислот нужен азот. Количество азота огромно, но большинство организмов могут использовать азот только в определенной форме. Например, в виде аммиака, нитратов, аминокислот и других соединений.

Растительные организмы в основном усваивают азот из окружающей среды в виде аммиака, нитратов и нитритов, которые образуются при распаде азотистых соединений из почвенного раствора и при фиксации молекулярного азота из воздуха. Распад азотистых органических соединений, которые поступают в почву (остатки растений, животных), осуществляется при участии микроорганизмов, называемых *аммонификаторами*.

Фиксация молекулярного азота воздуха осуществляется растительными организмами за счет клубеньковых бактерий, паразитирующих на корневой системе растений (симбиоз) (бобовые, ольха, облепиха), и некоторыми микроорганизмами (почвенные микробы) при участии ферментной системы, называемой *нитрогеназным комплексом*. Этот комплекс содержит два различных белка, атомы молибдена, железа, серы и сульфгидрильную группу.

Конечным продуктом фиксации молекулярного азота является аммиак. Для восстановления азота до аммиака требуется 6 электронов, 6 протонов и энергия. Источником энергии является АТФ, источником электронов или протонов – НАДФ·Н₂.

Расход электронов и протонов происходит в три этапа согласно уравнению:



Нитраты поступают в почву с азотистыми удобрениями, а также образуются в ней путем окисления аммиака нитрифицирующими бактериями. Из почвы нитраты через корни растений поступают в ткани растений. В тканях они превращаются в аммиак. Процесс превращения нитратов в аммиак осуществляется при участии нитратредуктазы и нитритредуктазы. Схема восстановления нитратов нитратредуктазой:



Источником электронов и протонов является НАДФ·H₂ (или НАД·H₂).

Нитритредуктаза восстанавливает нитриты до аммиака. Донором электронов и протонов является НАДФ·H₂ или НАД·H₂:



В восстановлении нитратов важную роль играют ионы металлов молибдена, меди, железа, магния, марганца. Ионы этих металлов являются активаторами ферментов нитратвосстанавливающей системы. При недостатке ионов металлов восстановление нитратов резко замедляется, они накапливаются в растениях, синтез органических веществ замедляется. Накопление нитратов в растениях может происходить также при внесении избыточных доз нитратных удобрений.

Аммиак, поглощенный растениями из почвы, а также образовавшийся в результате усвоения молекулярного азота или восстановления нитратов и нитритов, чаще всего расходуется для биосинтеза аминокислот.

11.7. Синтез белка

Белки и нуклеиновые кислоты являются молекулами, в синтезе которых реализуются два основополагающих принципа: матричный и комплементарности.

Матрица (ДНК и иРНК) по принципу комплементарности осуществляет подбор компонентов (аминокислот) для синтеза со-

единений (белков) на своей основе. Эту закономерность можно представить в виде следующей схемы: ДНК – иРНК – Белок.

Хранителем информации о последовательности аминокислотных остатков в молекулах белков клетки служит ДНК. В ней информация закодирована посредством троек нуклеотидов (триплетов), называемых *кодогенами*. На основе ДНК синтезируется иРНК, триплеты которой, называемые *кодонами*, комплементарны кодирующей цепи ДНК. В свою очередь, кодоны иРНК определяют последовательность аминокислот в полипептидной цепи белка.

Система «записей» наследственной информации в молекулах нуклеиновых кислот в виде последовательности нуклеотидов называется *генетическим кодом*.

В настоящее время код расшифрован. Его кодоны ничем не отделены друг от друга. Всего имеется 64 триплета.

Код универсален, т.е. у всех организмов животных, растений, микроорганизмов одни и те же аминокислоты закодированы одними и теми же триплетами. Например, лейцин, серин и аргинин имеют по 6 кодонов; глицин, валин, треонин, пролин и аланин – по 4 кодона. Для многих других аминокислот имеется по 2 кодона. Например, фенилаланину соответствует УУУ, УУЦ; изолейцину – АУЦ, АУА, АУУ; треонину – АЦА, АЦГ, АЦУ, АЦЦ. Две аминокислоты имеют по одному кодону: триптофан – УГГ и метионин – АУГ.

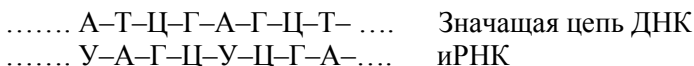
Из 64 триплетов (кодонов) 61 имеет смысл, т.е. кодирует включение в полипептидную цепь какой-либо аминокислоты. Триплеты УАГ, УАА, УГА называют *терминирующими кодонами*. Они не кодируют какую-либо аминокислоту, а определяют длину полипептидной цепи, т.е. запускают и прекращают биосинтез белка. Как только синтез дойдет до одного из этих триплетов иРНК, присоединение аминокислот прекращается и полипептидная цепь обрывается.

Реализация генетического кода в процессе синтеза белка в клетке происходит в два этапа: транскрипция и трансляция.

Транскрипция – синтез иРНК на участке матричной ДНК. *Трансляция* – это синтез белка, при котором последовательность нуклеотидов иРНК переводится в соответствующую им последовательность аминокислот в полипептидной цепи.

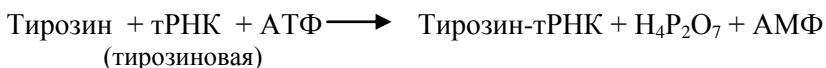
Синтез молекулы иРНК на участке ДНК происходит при участии фермента РНК-полимеразы. Исходными веществами для синтеза иРНК служат нуклеозидтрифосфаты: АТФ, ГТФ, ЦТФ,

УТФ. При матричном синтезе иРНК на участке молекулы ДНК копируется только одна из двух цепей, называемая *значащей*. Фермент РНК-полимераза, соединяясь с ДНК и продвигаясь вдоль ее спирали, катализирует соединение между собой соответствующих нуклеозидтрифосфатов с образованием на значащей цепи ДНК комплементарной ей цепи иРНК. Например:

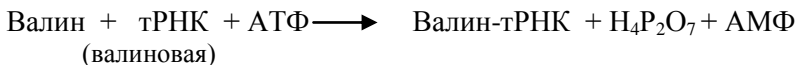


В процессе трансляции происходит ферментативный синтез белка на матрице иРНК. Расстановка аминокислот происходит по принципу комплементарности. Главными этапами процесса трансляции являются: активирование аминокислот, инициация, элонгация, терминация.

1. *Активирование аминокислот* происходит в цитоплазме. Заключается в ацилировании тРНК соответствующими аминокислотами. Реакцию катализируют ферменты класса лигаз, называемые аминоксил-тРНК-синтетазами, которые обладают абсолютной специфичностью как в отношении аминокислот, так и в отношении тРНК. Например, тирозил-тРНК-синтетаза катализирует образование комплекса тирозин-тРНК:



Валил-тРНК-синтетаза катализирует образование комплекса валин-тРНК:



Остальные этапы трансляции (инициация, элонгация и терминация) происходят на рибосомах. Рибосомы, содержащиеся в цитоплазме клеток животных и растений, имеют коэффициент седиментации 80 S (сведбергов) и молекулярную массу $4,3 \cdot 10^6$. В каждой клетке имеются многие тысячи рибосом. Каждая рибосома состоит из двух субчастиц: большой и малой. В поддержании структуры рибосом участвуют ионы магния. Структурную основу

рибосом составляет рРНК, с которой соединены несколько десятков белков.

2. *Инициация* – начало синтеза полипептидной цепи. На этом этапе образуется иницирующий комплекс, который состоит из рибосомы, прикрепленной к малой частице рибосомы, и иницирующей аминокислоты (обычно это метионин). Образование иницирующего комплекса происходит при участии специфических белков. Энергия поставляется ГТФ.

3. *Элонгация* – удлинение полипептидной цепи. Происходит за счет присоединения доставляемых на рибосому тРНК аминокислот. Образование пептидной связи происходит при участии ферментов пептидилтрансфераз. После образования пептидной связи рибосома передвигается вдоль иРНК на один триплет. В результате этого передвижения тРНК высвобождаются.

4. *Терминация* – окончание синтеза полипептидной цепи. Как только рибосома, передвигаясь вдоль иРНК, дойдет до одного из терминирующих кодонов (УАА, УАГ, УГА), синтез полипептидной цепи прекращается и полипептидная цепь покидает рибосому.

Вторичная, третичная и четвертичная структуры образуются в цитоплазме.

Глава 12. ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ ОБМЕНАМИ БЕЛКОВ, ЛИПИДОВ И УГЛЕВОДОВ

Обмен веществ в живом организме протекает не хаотично, а «тонко настроен». Все превращения органических веществ, процессы анаболизма и катаболизма тесно связаны друг с другом. В частности, процессы синтеза и распада взаимосвязаны, координированы и регулируются нейрогуморальными механизмами, придающими химическим процессам нужное направление. В организме человека, как и в живой природе, не существует самостоятельного обмена белков, жиров, углеводов и нуклеиновых кислот. Все они объединены в единый процесс метаболизма, подчиняющийся диалектическим закономерностям взаимозависимости и взаимообусловленности, основанным на взаимопревращении между отдельными классами органических веществ.

Основные пути взаимопревращения белков, жиров и углеводов схематически представлены на рис. 12.1.

12.1. Взаимосвязь белкового и углеводного обменов

Связующим звеном белкового и углеводного обменов является ЦТК. Продукты гликолиза и окислительного расщепления углеводов (ПВК, α -кетоглутаровая кислота, ЩУК) в результате аминирования и переаминирования образуют аминокислоты, которые используются для синтеза белков.

Переход от белков к углеводам начинается с гидролиза белков до аминокислот, которые затем дезаминируются, а выделившиеся кетокислоты (ПВК, α -кетоглутаровая кислота, ЩУК) вступают в ЦТК и через ПВК включаются в реакции *глюконеогенеза* (анаболический процесс, при котором из двух молекул ПВК образуется одна молекула глюкозы) с образованием углеводов. Белки по сравнению с углеводами являются для живого организма более ценными соединениями, составляющими основу всех клеточных структур, поэтому их превращение в углеводы происходит в небольших количествах.

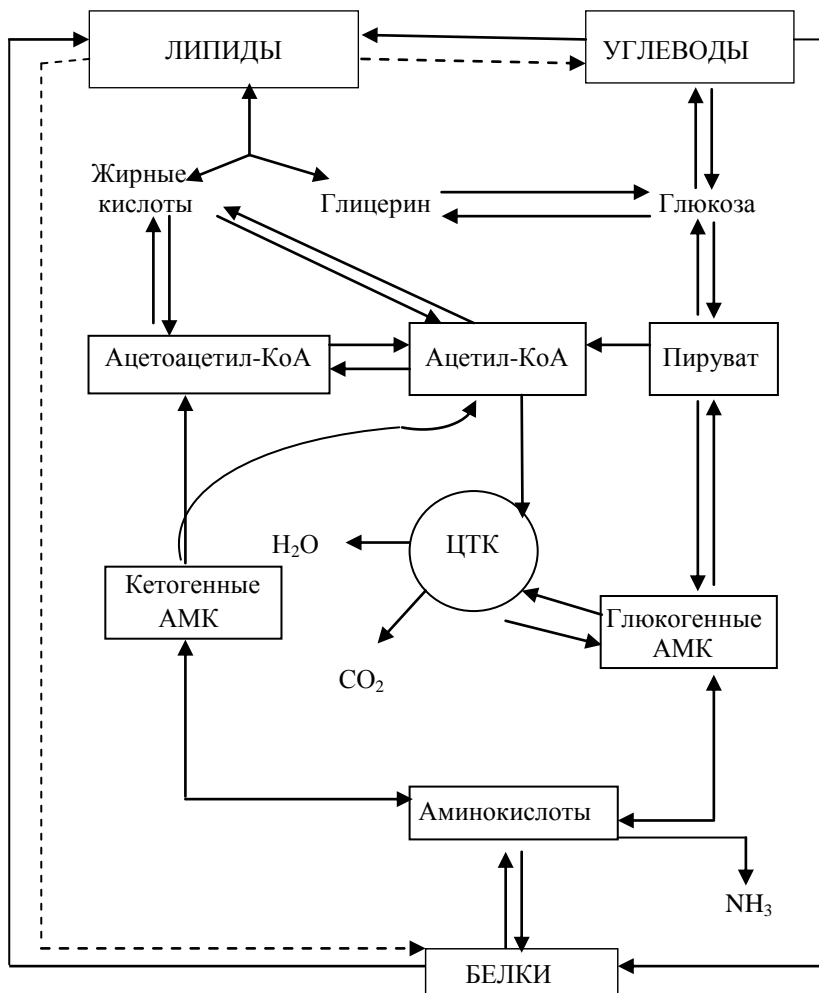


Рис. 12.1. Пути взаимопревращения белков, жиров и углеводов

Использование белков в процессе дыхания также наблюдается крайне редко, только при длительном углеводном дефиците.

На биосинтез белков в большом количестве расходуется энергия, которая высвобождается при расщеплении углеводов в процессе дыхания. Одновременно любая реакция углеводного обмена катализируется ферментами, которые являются белками.

Другой путь взаимодействия белков и углеводов выражается в образовании гликопротеинов.

12.2. Взаимосвязь обмена углеводов и липидов

Избыточное употребление в пищу углеводов (мучные и крупяные изделия) приводит к отложению жиров в организме.

Обратный процесс превращения жиров в углеводы наблюдается у животных, находящихся в зимней спячке (медведи, сурки, ежи). За зиму у них полностью исчезают жировые запасы, однако уровень содержания гликогена в печени длительное время остается достаточно высоким. В процессе превращения жиров в углеводы усиливается потребление кислорода, поскольку в жирах кислорода мало, а в углеводах его значительно больше. У растений активное превращение масел в углеводы идет при прорастании семян. Связующим звеном в превращении углеводов в липиды является *ацетил-КоА*. Он образуется из ПВК – конечного продукта гликолиза углеводов и представляет собой исходное соединение для синтеза высших жирных кислот, стеролов.

Глицерин, необходимый для образования многих липидов, получается в результате восстановления промежуточных продуктов гликолиза глицеральдегид-3-фосфата и дигидроксиацетонфосфата с последующим отщеплением фосфорной кислоты.

Вместе с тем один из основных продуктов расщепления липидов – глицерин – используется в синтезе углеводов через образование глицеральдегид-3-фосфата и его вступление в глюконеогенез. У растений и микроорганизмов на синтез углеводов используется важный продукт расщепления липидов – ацетил-КоА через глиоксилатный цикл.

12.3. Взаимосвязь белкового и липидного обменов

Взаимосвязи «белки ↔ углеводы» и «углеводы ↔ липиды» дают основание для объединения их в единую цепь «белки ↔ углеводы ↔ липиды», в которой углеводы являются связующим звеном между белками и липидами. Так может происходить в природе, однако существуют и более короткие пути взаимосвязи белков и липидов. Один из ос-

новых продуктов расщепления липидов – *ацетил-КоА*, включаясь в ЦТК, образует кетоислоты, аминирование которых дает аминокислоты.

Другой важный продукт гидролиза липидов – *глицерин* – в результате длинной цепи превращений через глицеральдегид-3-фосфат в шикимовую кислоту участвует в биосинтезе циклических аминокислот. В известной мере возможен процесс синтеза липидов за счет распадающихся белков. Продукты дезаминирования аминокислот через ЦТК и другие метаболические процессы образуют ПВК, при окислительном декарбоксилировании которого образуется *ацетил-КоА* – исходное соединение для синтеза жирных кислот и других компонентов липидов.

Взаимосвязь белков и липидов выражается в образовании различных комплексов *липопротеинов*. Биосинтез белков и их функционирование (например, в качестве ферментов) всегда тесно связаны со структурой и свойствами клеточных мембран, в которых липиды играют важнейшую роль. С другой стороны, в обмене липидов, как и любых других соединений, первостепенное значение имеют белки (например, ферменты, HS-АПБ).

Таким образом, преобладание распада одних питательных веществ и биосинтеза других прежде всего определяется физиологическим состоянием и потребностями организма в энергии и метаболитах. Этими факторами в значительной степени может быть объяснено постоянное динамическое состояние химических компонентов организма как единого целого.

СПИСОК РЕКОМЕНДУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Березов, Т.Т. Биологическая химия: учебник / Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин. – М.: Медицина, 1983. – 749 с.
2. Биологический энциклопедический словарь. – М.: Сов. энцикл., 1989. – 864 с.
3. Бохински, Р. Современные воззрения в биохимии / Р. Бохински; пер. с англ. – М.: Мир, 1987. – 543 с.
4. Бышевский, А.Ш. Биохимия для врача / А.Ш. Бышевский, О.А. Терсенов. – Екатеринбург: Издательско-полиграфическое предприятие «Уральский рабочий», 1994. – 383 с.
5. Геннис, Р. Биомембраны: Молекулярная структура и функции / пер. с англ. – М.: Мир, 1997. – 624 с.
6. Грин, С. Биология: в 3 т. / С. Грин, У. Стаут, Д. Тейлор; под ред. Р. Сопер; пер. с англ. – М.: Мир, 1993.
7. Диксон, М. Ферменты: в 3 т. / М. Диксон, Э. Уэбб; пер. с англ. – М.: Мир, 1982.
8. Дузу, П. Криобиохимия / пер. с англ.; под ред. Г.Б. Сергеева. – М.: Мир, 1980. – 283 с.
9. Зайцев, С.Ю. Биохимия животных. Фундаментальные и клинические аспекты: учебник / С.Ю. Зайцев, Ю.В. Конопатов. – СПб.: Изд-во «Лань», 2001. – 384 с.
10. Калоус, В. Биофизическая химия / В. Калоус, З. Павличек; пер. с чешск. – М.: Мир, 1985. – 446 с.
11. Кретович, В.Л. Биохимия растений: учебник. – М.: Высшая школа, 1980. – 445 с.
12. Кнорре, Д.Г. Биологическая химия: учебник / Д.Г. Кнорре, С.Д. Мызина. – М.: Высшая школа, 1998. – 479 с.
13. Кольман, Я. Наглядная биохимия [Электронный ресурс]: справочное издание / Я. Кольман, К.-Г. Рем; пер. с англ. – М.: Мир, 2004. – 469 с. (<http://biochemistru.vov.ru/nagl-bio/index.htm>)
14. Комов, В.П. Биохимия: учебник / В.П. Комов, В.Н. Шведов. – М.: Дрофа, 2004. – 640 с.
15. Ленинджер, А. Основы биохимии: в 3 т. / пер. с англ. – М.: Мир, 1985.
16. Малер, Г. Основы биологической химии / Г. Малер, Ю. Кордекс; пер. с англ. – М.: Мир, 1970. – 567 с.

17. Метревели, Т.В. Биохимия животных / под ред. И.С. Шевелева. – СПб.: Изд-во «Лань», 2005. – 296 с.
18. Мецлер, Д. Биохимия: в 3 т. / пер. с англ. – М.: Мир, 1980.
19. Основы биохимии: в 3 т. / А. Уайт, Ф. Хендлер, Э. Смит [и др.]; пер. с англ. – М.: Мир, 1981.
20. Нечаев, А.П. Органическая химия: учебник / А.П. Нечаев, Т.В. Еременко. – М.: Высшая школа, 1985. – 463 с.
21. Проблема белка: Пространственное строение белка / Е.М. Попов, В.В. Демин [и др.]; отв. ред. В.Т. Иванов; ред. Т.И. Соркина. – М.: Наука, 1996.
22. Попов, Е.М. Проблема белка: Структурная организация белка / отв. ред. В.Т. Иванов; ред. Т.И. Соркина. – М.: Наука, 1997. – 604 с.
23. Проблема белка: Химическое строение белка / Е.М. Попов, П.Д. Решетов, В.М. Липкин [и др.]. – М.: Наука, 1995.
24. Филиппович, Ю.Б. Основы биохимии: учебник. – М.: Высшая школа, 1999. – 512 с.
25. Эллиот, В. Биохимия и молекулярная биология / В. Эллиот, Д. Эллиот. – М.: Изд-во НИИ биомедицинской химии РАМН, 2000. – 372 с.
26. Löfler, G. Physiologische Chemie / G. Löfler, P.E. Petrides. – Berlin: Springer-Verlag, 1997.

ОБЩЕПРИНЯТЫЕ СОКРАЩЕНИЯ

А – аденин
АДФ – аденозиндифосфат
АМК – аминокислоты
АМФ – аденозинмонофосфат
АТФ – аденозинтрифосфат
Г – гуанин
ГТФ – гуанозинтрифосфат
дАМФ – дезоксиаденозинмонофосфат
дАДФ – дезоксиаденозиндифосфат
дАТФ – дезоксиаденозинтрифосфат
ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
ДНП – дезоксирибонуклеопротеины
 K_m – константа Михаэлиса – Ментен
мРНК – матричная рибонуклеиновая кислота
НАД – никотинамидадениндинуклеотид
НАД·Н₂ – никотинамидадениндинуклеотид восстановленный
НАДФ – никотинамидадениндинуклеотидфосфат
НАДФ·Н₂ – никотинамидадениндинуклеотидфосфат восстановленный
НДФ – нуклеозиддифосфат
НТФ – нуклеозидтрифосфат
ПВК – пируват, пировиноградная кислота
РНК – рибонуклеиновая кислота
РНП – рибонуклеопротеины
рРНК – рибосомная рибонуклеиновая кислота
Т – тимин
тРНК – транспортная рибонуклеиновая кислота
У – урацил
УДФ – уридиндифосфат
УМФ – уридинмонофосфат
УТФ – уридинтрифосфат
УФ – ультрафиолетовый свет
ФАД – флавинадениндинуклеотид
ФАДН₂ – флавинадениндинуклеотид восстановленный
ФМН – флавинмоноклеотид

Ф_н – фосфат неорганический
ФФ_н – пирофосфат
ХМ – хиломикрон
Ц – цитозин
цГМФ – циклогуанозинмонофосфат
ЦДФ – цитидиндифосфат
ЦМФ – цитидинмонофосфат
ЦТК – цикл трикарбоновых кислот
ЦТФ – цитидинтрифосфат
ЩУК – щавелевоуксусная кислота
ЭР – эндоплазматический ретикулум
НС-АПБ – ацилпереносящий белок
НС-КоА – кофермент А

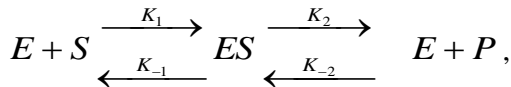
Зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата

На рис. 4.5 показана кривая, характеризующая зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата. По этой кривой (которая только приближается к точке, соответствующей максимальной скорости реакции (V_{max}), но никогда ее не достигает) трудно определить точно, при какой концентрации субстрата устанавливается V_{max} . Поэтому исследователи Л. Михаэлиса и М. Ментен в 1913 г. определили константу K_m , при помощи которой удобно выразить точное соотношение между концентрацией субстрата и скоростью ферментативной реакции, используя уравнение

$$V_o = \frac{V_{max} \cdot [S]}{K_m + [S]},$$

где V_o – начальная скорость реакции при концентрации субстрата $[S]$; V_{max} – максимальная скорость реакции; K_m – константа Михаэлиса для данного фермента, соответствующая определенному субстрату.

Если известны значения K_m и V_{max} , то по уравнению Михаэлиса – Ментен можно рассчитать скорость ферментативной реакции при любой заданной концентрации субстрата. Основные реакции образования и распада фермент-субстратного комплекса (ES) осуществляются по уравнению



где K_1 , K_{-1} , K_2 , K_{-2} – константы скоростей соответствующих прямых и обратных реакций.

Введем следующие обозначения: $[E]$ – общая концентрация фермента (суммарное количество свободного и связанного фер-

мента); $[ES]$ – концентрация фермент-субстратного комплекса; $([E]-[ES])$ – концентрация свободного (несвязанного) фермента.

Поскольку обычно концентрация субстрата гораздо выше концентрации фермента, количество субстрата, связанного с ферментом, можно считать ничтожно малым по сравнению с обычным количеством субстрата.

Рассмотрим основные этапы выведения уравнения Михаэлиса – Ментен.

Скорость образования фермент-субстратного комплекса (V_1) равна:

$$V_1 = K_1 \cdot ([E] - [ES]) \cdot [S].$$

Скорость образования ES из E и P обратной реакцией очень мала по сравнению со скоростью прямой реакции, поэтому ею можно пренебречь.

Скорость распада ES (V_2) равна:

$$V_2 = K_{-1} [ES] + K_2 [ES].$$

В стационарном состоянии, когда скорость образования комплекса ES равна скорости его распада, получаем

$$V_1 = V_2,$$

или $K_1([E] - [ES])[S] = K_{-1}[ES] + K_2[ES].$ (П₁)

Разделим константы скоростей. Преобразование левой части уравнения (П₁) дает $K_1[E][S] - K_1[ES][S].$

При упрощении правой части уравнения (П₁) получаем

$$(K_{-1} + K_2)[ES].$$

Следовательно:

$$K_1[E][S] - K_1[ES][S] = (K_{-1} + K_2)[ES].$$
 (П₂)

Если перенести член $K_1[ES][S]$ в правую часть уравнения (П₂), получим

$$K_1[E][S] = K_1[ES][S] + (K_{-1} + K_2)[ES].$$

Дальнейшему упрощению соответствует

$$K_1[E][S] + (K_1[S] + K_1 + K_2)[ES].$$

Теперь полученное уравнение можно решить относительно $[ES]$:

$$[ES] = \frac{K_1[E][S]}{K_1[S] + K_1 + K_2}. \quad (\text{П}_3)$$

Уравнение (П₃) можно упростить, объединив константы скоростей:

$$[ES] = \frac{[E][S]}{[S] + (K_2 + K_{-1})/K_1}. \quad (\text{П}_4)$$

Определим начальную скорость реакции $[ES]$. Согласно теории Михаэлиса – Ментен начальная скорость определяется как скорость реакции распада фермент-субстратного комплекса: $ES \rightarrow E + S$, константа скорости которой равна K_2 :

$$V_0 = K_2[ES].$$

С учетом уравнения (П₄) получаем

$$V_0 = \frac{K_2[E][S]}{[S] + (K_2 + K_{-1})/K_1}. \quad (\text{П}_5)$$

Уравнение (П₅) можно упростить, если величину $K_2[E]$ принять равной максимальной скорости реакции (когда весь фермент находится в форме ES) и ввести константу Михаэлиса:

$$K_m = \frac{K_2 + K_{-1}}{K_1}.$$

Подставив эти две величины в уравнение (П₅), получаем уравнение Михаэлиса – Ментен:

$$V_0 = \frac{V_{max} [S]}{[S] + K_m}. \quad (\text{П}_6)$$

Уравнение Михаэлиса – Ментен – это уравнение скорости ферментативной односубстратной реакции. Оно выражает количественное соотношение между величинами V_0 , V_{max} и исходной концентрацией субстрата $[S]$, связанными через константу Михаэлиса.

При $V_0 = 0,5V_{max}$ получаем

$$\frac{V_{max}}{2} = \frac{V_{max} [S]}{K_m + [S]}.$$

Если разделить обе части этого уравнения на V_{max} , будем иметь

$$\frac{1}{2} = \frac{[S]}{K_m + [S]}.$$

Решая уравнение относительно константы K_m , находим

$$K_m + [S] = 2[S], \text{ или } K_m = [S]$$

(при условии, что $V_0 = 0,5V_{max}$).

Уравнение Михаэлиса – Ментен является основой для анализа кинетики всех ферментативных реакций.

Номенклатура органических кислот

Название кислот (тривиальное)	Химическая формула	Название кислотного остатка
Аспарагиновая кислота	$\text{HOOC}-\text{CH}_2-\underset{\substack{ \\ \text{NH}_2}}{\text{CH}}-\text{COOH}$	Аспаргат
Пировиноградная кислота	$\text{CH}_3-\underset{\substack{ \\ \text{O}}}{\text{C}}-\text{COOH}$	Пируват
Щавелевоуксусная кислота	$\text{HOOC}-\underset{\substack{ \\ \text{O}}}{\text{C}}-\text{CH}_2-\text{COOH}$	Оксалоацетат
А-Кетоглутаровая кислота	$\text{HOOC}-\underset{\substack{ \\ \text{O}}}{\text{C}}-(\text{CH}_2)_2-\text{COOH}$	А-Кетоглутарат
Янтарная кислота	$\text{HOOC}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH}$	Сукцинат
Яблочная кислота	$\text{HOOC}-\underset{\substack{ \\ \text{OH}}}{\text{CH}}-\text{CH}_2-\text{COOH}$	Малат
Молочная кислота	$\text{HOOC}-\underset{\substack{ \\ \text{OH}}}{\text{CH}}-\text{CH}_3$	Лактат
Гликолевая кислота	$\text{HO}-\text{CH}_2-\text{COOH}$	Гликолат
Фумаровая кислота	$\text{HOOC}-\text{CH}=\text{CH}-\text{COOH}$	Фумарат
Лимонная кислота	$\text{HOOC}-\text{CH}_2-\underset{\substack{ \\ \text{COOH}}}{\overset{\substack{ \text{OH}}{\text{C}}}}-\text{CH}_2-\text{COOH}$	Цитрат

Обозначения и наименования витаминов и их роль

Буквенное обозначение и наименование витамина	Коферментная (или активная) форма	Тип катализируемой реакции или функция
Витамины, растворимые в жирах		
А (ретинол)	Ретиналь	Зрительный процесс
D (кальциферол)	1,25-Дигидрокси-холекальциферол	Регуляция обмена кальция и фосфора
Е (токоферол)	Не известна	Защита мембранных липидов от окисления
К (филлохинон)	Не известна	Карбоксилирование в γ -положении остатков глутамата в белках
Витамины, растворимые в воде		
B ₁ (тиамин)	Тиаминпирофосфат	Декарбоксилирование α -кетокислот
B ₂ (рибофлавин)	ФМН, ФАД	Окислительно-восстановительные реакции
B ₃ (пантотеновая кислота)	Кофермент А	Перенос ацильных групп
B ₅ (никотиновая кислота и ее амид, витамин РР)	НАД, НАДФ	Окислительно-восстановительные реакции
B ₆ (пиридоксин)	Пиридоксальфосфат	Перенос аминогрупп, декарбоксилирование аминокислот
B ₁₂ (кобаламин)	Метилкобаламин, дезоксиаденозилкобаламин	Перенос метильных групп и связанного с углеродом атома водорода на соседний атом углерода
H (биотин)	Биоцитин	Перенос CO ₂ , реакции карбоксилирования и транскарбоксилирования
С (аскорбиновая кислота)	Не известна	Реакции гидроксирования

Природные жирные кислоты

Тривиальные названия	Структура	Температура плавления, °С
Насыщенные		
Масляная	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$	-7,9
Каприловая	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$	-3,9
Лауриновая	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$	44,2
Миристиновая	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$	53,9
Пальмитиновая	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$	64,0
Стеариновая	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$	69,4
Ненасыщенные		
Пальмитоолеиновая	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	-0,5
Олеиновая	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	13,4
Линолевая	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3(\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH})_2(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	-5,0
α -Линоленовая	$\text{CH}_3(\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH})_3-(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	-11,0
Арахидоновая	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH})_4(\text{CH}_2)_3\text{COOH}$	-49,5

Температура плавления некоторых жиров и масел

Жир, масло	Температура плавления, °С
Молочный	28–33
Гусиный	26–34
Свиной	28–40
Говяжий	40–50
Бараний	44–45
Хлопковое	-1...-6
Оливковое	-1...-6
Подсолнечное	-16...-19
Конопляное	-17...-25
Льняное	-17...-27

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
СТАТИЧЕСКАЯ БИОХИМИЯ.....	6
Глава 1. ОБЩИЙ ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ЖИВЫХ ОРГАНИЗМОВ. СТРОЕНИЕ КЛЕТКИ.....	6
Глава 2. БЕЛКИ.....	12
2.1. Общая характеристика	12
2.2. Аминокислоты – структурные элементы белков	15
2.2.1. Гидролиз белков – метод определения их аминокислотного состава.....	15
2.2.2. Определение и стереохимия аминокислот.....	16
2.2.3. Физико-химические свойства аминокислот.....	18
2.2.4. Строение и классификации аминокислот.....	21
2.2.4.1. Нестандартные (редкие) аминокислоты.....	30
2.2.4.2. Небелковые аминокислоты.....	30
2.3. Строение и пространственная структура белков.....	31
2.3.1. Химические связи в молекуле белка.....	31
2.3.2. Пептиды.....	34
2.3.3. Полипептидная теория строения белков	37
2.3.4. Пространственная структура белковой молекулы.....	39
2.4. Физико-химические свойства белков.....	46
2.4.1. Молекулярная масса белков. Размер молекул белка.....	46
2.4.2. Амфотерные свойства и изоэлектрическая точка белков.....	49
2.4.3. Растворимость и осаждаемость белков.....	51
2.4.4. Коллоидные свойства белков.....	54
2.4.5. Денатурация белков.....	55
2.4.6. Химические реакции, характерные для белков. Оптические свойства белков.....	58
2.5. Выделение белков из биологических объектов. Очистка белков.....	60
2.6. Номенклатура и классификация белков.....	63
2.6.1. Простые белки.....	65
2.6.2. Сложные белки	69
Глава 3. НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ.....	74
3.1. Химический состав нуклеиновых кислот.....	74

	3.2. Структурные компоненты нуклеиновых кислот.	
	Полинуклеотиды.....	76
	3.3. Строение и биологическая роль ДНК.....	80
	3.4. Строение и биологическая роль РНК.....	84
	3.5. Свободные нуклеотиды и их производные.	
	Динуклеотиды.....	87
Глава	4. ФЕРМЕНТЫ.....	91
	4.1. Общее понятие о ферментах.	
	Иммобилизованные ферменты.....	91
	4.2. Химическая природа и строение ферментов.	
	Активный центр ферментов.....	95
	4.3. Механизм ферментативного катализа.....	99
	4.4. Обратимость действия ферментов.....	102
	4.5. Специфичность ферментов.....	104
	4.6. Кинетика ферментативных реакций.....	106
	4.6.1. Измерение скорости ферментативных реакций.....	107
	4.6.2. Единицы активности ферментов.....	108
	4.6.3. Влияние концентрации субстрата на скорость ферментативной реакции.....	109
	4.6.4. Влияние концентрации фермента на скорость ферментативной реакции.....	111
	4.6.5. Влияние температуры на скорость ферментативной реакции.....	112
	4.6.6. Влияние pH на скорость ферментативной реакции.....	113
	4.6.7. Влияние ингибиторов и активаторов на каталитическую активность ферментов.....	114
	4.7. Номенклатура и классификация ферментов.....	118
	4.8. Классы ферментов и их отдельные представители.....	121
	4.8.1. Оксидоредуктазы (1).....	121
	4.8.2. Трансферазы (2).....	132
	4.8.3. Гидролазы (3).....	138
	4.8.4. Лиазы (4).....	149
	4.8.5. Изомеразы (5).....	152
	4.8.6. Лигазы, или синтетазы (6).....	154
	4.9. Изоферменты. Мультиферментные системы.....	156
	4.10. Применение ферментов в биотехнологии.....	159
Глава	5. ВИТАМИНЫ.....	161
	5.1. История открытия витаминов.....	161

5.2. Номенклатура и классификация витаминов.....	163
5.3. Жирорастворимые витамины.....	164
5.3.1. Витамины группы А	164
5.3.2. Витамины группы D (кальциферолы, антирахитичный).....	166
5.3.3. Витамины группы E (токоферолы, антистерильный).....	168
5.3.4. Витамины группы K (антигеморрагический)	170
5.4. Водорастворимые витамины.....	171
5.4.1. Витамин В ₁ (тиамин, аневрин)	171
5.4.2. Витамин В ₂ (рибофлавин)	172
5.4.3. Витамин В ₃ (пантотеновая кислота, антидерматитный)	174
5.4.4. Витамин В ₅ (витамин РР, ниацин, никотиновая кислота, никотинамид, антипеллагрический)	176
5.4.5. Витамин В ₆ (пиридоксин, адермин)	177
5.4.6. Витамин В ₁₂ (кобаламин, антианемический).....	179
5.4.7. Витамин Н (биотин, антисеборейный)	181
5.4.8. Витамин С (аскорбиновая кислота, антискорбутный).....	183
5.5. Витаминоподобные вещества	186
5.6. Антивитамины	189
Глава 6. УГЛЕВОДЫ.....	190
6.1. Моносахариды.....	190
6.1.1. Химические свойства моносахаридов.....	191
6.1.2. Отдельные представители моносахаридов.....	195
6.2. Олигосахариды.....	197
6.2.1. Отдельные представители олигосахаридов.....	198
6.3. Полисахариды.....	202
6.3.1. Отдельные представители полисахаридов	202
Глава 7. ЛИПИДЫ.....	211
7.1. Жиры (ацилглицеролы).....	212
7.2. Воски	217
7.3. Стероиды.....	219
7.3.1. Стеролы	219
7.3.2. Стериды	222
7.3.3. Желчные кислоты	223
7.4. Фосфолипиды	226
7.4.1. Глицерофосфолипиды	227
7.4.2. Сфингофосфолипиды	231

7.5. Гликолипиды	232
7.5.1. Гликозилдиацилглицеролы	232
7.5.2. Гликосфинголипиды	233
ДИНАМИЧЕСКАЯ БИОХИМИЯ.....	237
Глава 8. ВВЕДЕНИЕ В ОБМЕН ВЕЩЕСТВ И ЭНЕРГИИ.....	237
8.1. Общие понятия об обмене веществ и энергии	237
8.2. Термодинамика (энергетика) биохимических процессов.....	241
8.2.1. Предмет и терминология.....	241
8.2.2. Первый закон (начало) термодинамики.....	244
8.2.3. Второй закон (начало) термодинамики.....	247
8.2.4. Принципы расчетов изменения свободной энергии	251
8.3. Биологическое окисление	254
Глава 9. ОБМЕН УГЛЕВОДОВ.....	259
9.1. Роль углеводов в обмене и питании	259
9.2. Первичный синтез углеводов (фотосинтез и хемосинтез)	260
9.3. Взаимопревращение углеводов в тканях	265
9.3.1. Ферментативные взаимодействия моносахаридов.....	265
9.3.2. Биосинтез олигосахаридов и полисахаридов (сахарозы, лактозы, крахмала и гликогена)	267
9.4. Превращение углеводов в процессе пищеварения	271
9.5. Окисление углеводов в тканях	273
9.5.1. Анаэробное окисление углеводов. Гликолиз	273
9.5.2. Включение крахмала, гликогена и других углеводов в процесс гликолиза	278
9.5.3. Аэробное окисление углеводов	281
9.5.4. Баланс энергии окисления глюкозы	287
9.6. Пентозофосфатный цикл	288
9.7. Брожение	289
Глава 10. ОБМЕН ЛИПИДОВ.....	294
10.1. Роль липидов в животных и растительных организмах	294
10.2. Гидролиз липидов	295
10.2.1. Превращение липидов в пищеварительном тракте	295
10.2.2. Всасывание продуктов гидролиза липидов	298

10.2.3. Ресинтез жиров в стенках кишечника	299
10.3. Окисление липидов в тканях	300
10.3.1. Окисление глицерола.....	300
10.3.2. Окисление жирных кислот	301
10.3.3. Окисление ненасыщенных жирных кислот	304
10.3.4. Глиоксилатный цикл	305
10.4. Биосинтез липидов в тканях	307
10.4.1. Биосинтез жиров (ацилглицеролов)	307
10.4.2. Биосинтез глицерофосфолипидов	313
10.5. Накопление и использование липидов в масличных культурах	316
Глава 11. ОБМЕН БЕЛКОВЫХ ВЕЩЕСТВ (азотистый обмен).....	319
11.1. Роль белков в обмене и питании	319
11.2. Переваривание белков в пищеварительном тракте.....	320
11.3. Гниение белков в толстом кишечнике	322
11.4. Распад белков в тканях животных организмов	323
11.5. Распад белков в растениях	323
11.6. Метаболизм аминокислот в клетках	324
11.6.1. Дезаминирование аминокислот	325
11.6.2. Обезвреживание аммиака в организме	329
11.6.3. Декарбоксилирование аминокислот	333
11.6.4. Биосинтез аминокислот	334
11.6.5. Источники азота для биосинтеза аминокислот	338
11.7. Синтез белка	339
Глава 12. ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ ОБМЕНАМИ БЕЛКОВ, ЛИПИДОВ И УГЛЕВОДОВ.....	343
12.1. Взаимосвязь белкового и углеводного обменов	343
12.2. Взаимосвязь обмена углеводов и липидов	345
12.3. Взаимосвязь белкового и липидного обменов	345
СПИСОК РЕКОМЕНДУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....	347
ОБЩЕПРИНЯТЫЕ СОКРАЩЕНИЯ.....	349
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	351

УЧЕБНОЕ ИЗДАНИЕ

Пинчук Людмила Григорьевна
Зинкевич Елена Павловна
Гридина Светлана Борисовна

БИОХИМИЯ

Учебное пособие

Для студентов вузов

Нач. редакции *А.С. Обвинцева*
Редактор *А.В. Дюмина*
Технический редактор *Е.В. Кадочникова*
Художественный редактор *О.В. Оскорбина*

ЛР № 020524 от 02.06.97
Подписано в печать 28.12.2011. Формат 60×84^{1/16}
Бумага типографская. Гарнитура Times
Уч.-изд. л. 22,75. Тираж 400 экз.
Заказ № 22

Оригинал-макет изготовлен в редакционно-издательском центре
Кемеровского технологического института пищевой промышленности
650056, г. Кемерово, б-р Строителей, 47

ПЛД № 44-09 от 10.10.99
Отпечатано в редакционно-издательском центре
Кемеровского технологического института пищевой промышленности
650010, г. Кемерово, ул. Красноармейская, 52