МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
Рівненський державний гуманітарний університет

БІОЛОГІЧНА ХІМІЯ
КОНСПЕКТ ЛЕКЦІЙ

Для здобувачів вищої освіти першого (бакалаврського) рівня зі спеціальностей 091«Біологія» та 014 «Середня освіта (Біологія)» за освітньо-професійними програмами «Біологія» та «Середня освіта (Біологія)»

Рівне, 2020

Біологічна хімія. Конспект лекцій. Навчальний посібник для студентів спеціальностей 091«Біологія» та 014 «Середня освіта (Біологія)» за освітньо-професійними програмами «Біологія» та «Середня освіта (Біологія)»

Укладач: *В.В. Демчук – кандидат сільськогосподарських наук, доцент кафедри природничих наук та методики їх викладання*

Рецензенти:

В.О. Володимирець – кандидат біологічних наук, доцент кафедри агрохімії, ґрунтознавства та землеробства НУВГП;

Л.В. Ойцюсь - кандидат біологічних наук,доцент кафедри біології, фізичної терапії та здоров`я людини РДГУ.

Навчальний посібник складено у відповідності д галузевого стандарту вищої освіти та навчального плану для студентів спеціальностей 091«Біологія» та 014 «Середня освіта (Біологія)» за освітньо-професійними програмами «Біологія» та «Середня освіта (Біологія)»

Відповідальна за випуск Н.Б.Грицай, доктор педагогічних наук, професор, завідувачка кафедри природничих наук та медотики їх викладання.

Затверджено на засіданні кафедри природничих наук та методики їх викладання, протокол № від вересня 2020р.

Друкується за рішенням Вченої Ради РДГУ, протокол № від вересня 2020р.

ЗМІСТ

Лекція 1	Вступ. Хімічний склад живої матерії	4
Лекція 2	Амінокислоти	7
Лекція 3	Білки	13
Лекція 4	Вуглеводи. Моносахариди	19
Лекція 5	Складні вуглеводи	22
Лекція 6	Ліпіди. Прості ліпіди	26
Лекція 7	Складні ліпіди	28
Лекція 8	Нуклеотиди	33
Лекція 9	Нуклеїнові кислоти	36
Лекція 10	Біосинтез білків	42
Лекція 11	Вітаміни	47
Лекція 12	Вода. Мінеральні елементи	55
Лекція 13	Ферменти	58
Лекція 14	Кінетика ферментативних реакцій	62
Лекція 15	Регуляція ферментативних процесів	67
Лекція 16	Обмін речовин та енергії	71
Лекція 17	Етапи і стадії обміну речовин	74
Лекція 18	Цикл трикарбонових кислот	80
Лекція 19	Метаболізм вуглеводів. Аеробне окислення глюкози	86
Лекція 20	Гліколіз	88
Лекція 21	Пентозофосфатний шлях метаболізму глюкози	94
Лекція 22	Метаболізм ліпідів	100
Лекція 23	Метаболізм амінокислот	109
Лекція 24	Метаболізм нуклеотидів	116
Список використаної літератури		122

ЛЕКЦІЯ 1

ВСТУП. ХІМІЧНИЙ СКЛАД ЖИВОЇ МАТЕРІЇ

Загальні визначення. Біологічна хімія (біохімія) - наука, що вивчає хімічний склад живих організмів та хімічні реакції, які відбуваються в них і лежать в основі їх життєдіяльності, тобто виконання різноманітних фізіологічних функцій.

Об'єктами вивчення біохімії є живі організми, що знаходяться на різних ступенях еволюційного розвитку: віруси, бактерії та інші одноклітинні організми, рослини, тварини та організм людини.

Біосфера Землі налічує близько 1,2 млн видів тварин, включаючи людину як вид *Homo sapiens*, та 500 тис. видів рослин. Всі живі організми, тобто біологічні системи, відрізняються від неживих утворень, насамперед особливостями свого елементного складу, унікальністю молекул, що їх утворюють, та закономірностями просторово-часової організації їх взаємодії та функціонування.

Біохімічні перетворення, що їм підлягають сполуки у складі живих організмів, складають у сукупності обмін речовин, або метаболізм окремих клітин та цілісного багатоклітинного організму.

Розділи біохімії. У біохімії традиційно виділяють такі розділи.

Статична біохімія вивчає хімічний склад живих організмів та структуру біоорганічних молекул, що входять до їх складу: білків, амінокислот, нуклеїнових кислот, нуклеотидів, вуглеводів та їх похідних, ліпідів, вітамінів, гормонів тощо.

Динамічна біохімія вивчає хімічні (біохімічні) реакції, що складають у своїй сукупності обмін речовин, або *метаболізм* живих організмів. Головними своїми завданнями динамічна біохімія має вивчення перебігу та механізмів реакцій обміну речовин, зокрема перетворень у живих організмах таких молекул, як вуглеводи, ліпіди, білки, нуклеїнові кислоти. Прості біоорганічні молекули та їх похідні, які утворюються в процесі метаболізму (моносахариди, жирні кислоти, амінокислоти, нуклеотиди, низькомолекулярні карбонові кислоти, тощо), носять *назву метаболітів.*

Біоенергетика вивчає закономірності вивільнення, акумуляції та споживання енергії в біологічних системах.

Молекулярна біологія та *молекулярна генетика* розкривають закономірності збереження і реалізації генетичної інформації шляхом вивчення будови та функціонування нуклеїнових кислот ДНК та РНК.

Функціональна біохімія вивчає біохімічні реакції, які лежать в основі певних фізіологічних функцій: перетравлювання поживних речовин у шлунково-кишковому тракті, м'язове скорочення, генерація і проведення нервового імпульсу, дихальна функція крові, регуляція кислотно-основного стану в організмі, детоксикаційна функція печінки, видільна функція нирок, захисна функція імунної системи тощо.

Головний об'єкт дослідження в *медичній біохімії*- організм людини. *Біохімія людини,* або *медична біохімія* вивчає закономірності обміну речовин та їх порушення як в умовах нормального функціонування людського організму, так і при виникненні патологічних процесів різного генезу, зокрема, спричинених дією на організм ушкоджуючих факторів біологічного, хімічного, фізичного походження.

Клінічна біохімія вивчає біохімічні процеси, які відбуваються в організмі хворої людини і дослідження яких можуть бути використані у діагностиці ураження певних органів, тканин та клітинних структур.

Сучасний розвиток біохімії спрямований на вирішення наступних задач:

- створення фармацевтичних препаратів (гормонів, ферментів), регуляторів росту рослин, засобів боротьби з шкідниками, харчових добавок біотехнологічними методами;
- розробка нових методів і засобів діагностики, лікування спадкових захворювань, канцерогенезу, природи онкогенів та онкобілків;
- розробка методів генної та клітинної інженерії для отримання принципово нових порід тварин і форм рослин з більш цінними ознаками;
- вивчення молекулярних основ пам'яті, психіки, біоенергетики, харчування та ін.

Елементний склад живих організмів. Біосфера Землі налічує близько 1,2 млн видів тварин, включаючи людину, та 500 тис. видів рослин.

В живих організмах у складі біоорганічних сполук та у вільному стані виявлено близько 40 різних хімічних елементів, що знаходяться також у складі літосфери та атмосфери, зокрема:

C, N, H, O, S, P, Na, K, Ca, Mg, Zn, Fe, Mn, Cu, Co, Mo, B, V, I, Cl.

З перших шести елементів побудовані найважливіші сполуки, що складають основу живої матерії – білки, нуклеїнові кислоти, вуглеводи, ліпіди та ін. Наступні 10 елементів – метали життя – дуже важливі для підтримання структури і функціональної активності біополімерів. B, V дуже важливі для рослин і тварин відповідно, Cl утворює найбільш розповсюджений аніон.

За кількісним вмістом у живій речовині елементи розділяють на групи:

1) макроелементи – концентрація перевищує 10^{-3}% (C, N, H, O, S, P, Na, Ca, Mg, Fe, Cl);
2) мікроелементи – концентрація становить 10^{-6}-10^{-3}% (Mn, Cu, Co, Mo, B, Zn);
3) ультрамікроелементи – концентрація становить менше 10^{-6}% (Hg, Au, U, Ra та ін.).

З мікроелементів в найбільшій кількості у біомасі містяться C, N, H, O,Ca.

Вважають, що C, N, H, O, P, що складають разом понад 99% живої речовини, відіграють велику роль в явищі життя завдяки наявності особливих якостей:

– здатність утворювати кратні зв'язки. Внаслідок цього збільшується кількість і різноманіття можливих сполук, що володіють унікальними властивостями;
– атоми зазначених елементів відрізняються малими розмірами, тому утворюють щільні молекули з мінімальними міжатомними відстанями. Такі молекули більш стійкі до дії тих чи інших хімічних агентів;
– на основі елементів N, S, P утворюються специфічні сполуки, при розщепленні яких виділяється збільшена кількість енергії, що використовується для процесів життєдіяльності.

В кількісному відношенні перше місце серед хімічних сполук у живих організмах посідає вода - в організмі людини близько 60% маси. У вигляді водних розчинів - іонних та колоїдних - у багатоклітинних тваринних організмах знаходиться значна частина макро- та мікроелементів, у багатьох випадках - у комплексі з біоорганічними сполуками.

Хімічний склад живих організмів. Для прикладу наведено хімічний склад клітини кишкової палички (%): вода – 70; неорганічні іони – 1; вуглеводи та їх попередники – 3; амінокислоти та їх попередники – 0,4; нуклеотиди та їх попередники – 0,4; ліпіди та їх попередники – 2; низькомолекулярні сполуки – 0,2; білки – 15; ДНК – 1; РНК – 6.

В живій матерії розрізняють наступні види речовин:
- пластичні речовини – виступають будівельним матеріалом при формуванні внутріклітинних структур, клітин, тканин (білки, нуклеїнові кислоти, ліпіди);
- енергетичні речовини – виконують роль поставників енергії для процесів життєдіяльності, розкладаються при цьому до двоокису вуглецю і води (жири, вуглеводи).

Біоорганічні сполуки. Біоорганічні сполуки - речовини, що входять до складу живих організмів та є спеціалізованими для утворення клітинних структур і участі в біохімічних реакціях, які становлять сутність обміну речовин і виконання будь-якою живою клітиною та багатоклітинним організмом притаманних їм фізіологічних функцій.

Окрім суто хімічних перетворень, що супроводжуються змінами ковалентної будови біомолекул, істотну роль в біохімічних процесах відіграють численні нековалентні взаємодії (водневі, йонні, диполь-дипольні, гідрофобні). Слабкі фізико-хімічні сили, що діють за цих умов, становлять основу міжмолекулярних взаємодій як між окремими біомолекулами - білками, нуклеїновими кислотами, полісахаридами, ліпідами, так і при зв'язуванні останніми низькомолекулярних лігандів, у тому числі неорганічних речовин. Такі нековалентні взаємодії беруть участь в утворенні надмолекулярних комплексів та біоструктур (мембран, рибосом, ядерного хроматину тощо), ферментативному каталізі, зв'язуванні гормонів, медіаторів, лікарських сполук з клітинними рецепторами, імуноглобулінів (антитіл) з комплементарними структурами на поверхні лімфоцитів та макрофагів, міжклітиному "пізнаванні" тощо.

Функції біоорганічних сполук в живих організмах:

а) участь в біохімічних реакціях обміну речовин у ролі проміжних продуктів (метаболітів). Прикладами є моносахариди та їх фосфорні ефіри, жирні кислоти та продукти їх окислення, амінокислоти та ін.;

б) участь в утворенні інших, складніших молекул: білків, нуклеїнових кислот, полісахаридів, ліпідів (амінокислоти, нуклеотиди, моносахариди, вищі жирні кислоти тощо) або біологічних структур (мембран, рибосом, ядерного хроматину та ін.);

в) участь в регуляції біохімічних процесів та фізіологічних функцій окремих клітин та цілісного організму (вітаміни, гормони та гормоноподібні сполуки).

Головні класи біоорганічних сполук, що складають основу структури та функцій живих організмів: білки, вуглеводи, ліпіди, нуклеїнові кислоти, вітаміни (табл. 1.1).

Таблиця 1.1

Загальний хімічний склад організму людини масою 65-70 кг

Біохімічний компонент	Вміст, % маси тіла	Маса, кг
Білки	18	11–14
Нуклеїнові кислоти	1	0,7–1,0
Вуглеводи	1	0,7–1,0
Ліпіди (жири)	14	9–10
Вода	61	40–42
Мінеральні сполуки	5	3,5–4,0

Контрольні питання

1. Перелічте основні розділи біохімії
2. Охарактеризуйте вміст неорганічних елементів в живих організмах.
3. Назвіть основні класи біоорганічних сполук.
4. Нпведіть дані з середнього хімічного складу організму людини.
5. Які функції виконують біоорганічні сполуки в живих організмах?

ЛЕКЦІЯ 2

АМІНОКИСЛОТИ

Загальна характеристика. При гідролізі природних білків та пептидів вивільнюється близько 20 різних α-L-амінокислот, розміщення кожної з яких у поліпептидному ланцюгу кодується триплетом нуклеотидів у ДНК геному.

Амінокислоти, що входять до складу природних білків та пептидів (протеїногенні амінокислоти), мають загальну хімічну структуру:

Структурні особливості протеїногенних амінокислот:

1) аміногрупа, іон водню та бічний ланцюг (R-група) зв'язані з атомом вуглецю, що міститься в α-положенні відносно карбоксильної групи, тобто природні амінокислоти є α-амінокислотами; деякі амінокислоти (лізин, аргінін) мають додаткову аміногрупу, що розташована в кінцевому положенні радикала R;

2) за своєю абсолютною конфігурацією протеїногенні амінокислоти є стереоізомерами L-ряду (L-амінокислотами). D-амінокислоти до складу білків організму людини не входять; вони зустрічаються в деяких бактеріальних та рослинних об'єктах, у складі окремих антибіотиків (граміцидин, актиноміцин D). Оптичні ізомери амінокислот диференціюються за смаком (L - гіркі або без смаку, D - солодкі), що свідчить про стереоспецифічність смакових рецепторів.

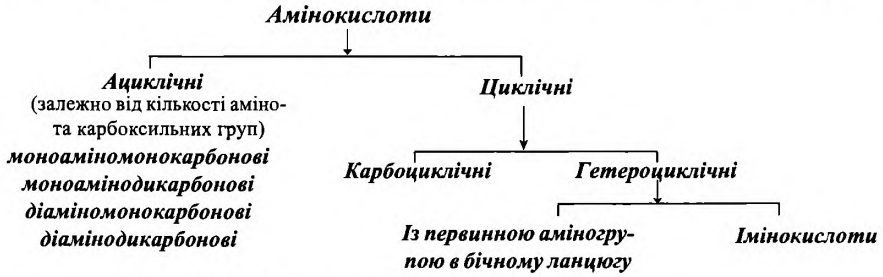


Рис. 2.1 Класифікація амінокислот

Природні α-амінокислоти можуть поділятися на класи залежно від хімічної будови бічного радикала R. Сучасна раціональна класифікація, що базується на полярності та заряді радикала R, передбачає чотири класи амінокислот:

I - амінокислоти з неполярними (гідрофобними) R-групами;

II - амінокислоти з полярними (гідрофільними) незарядженими R-групами;

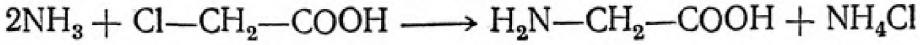
III - амінокислоти з негативно зарядженими R-групами (кислі амінокислоти);

IV - амінокислоти з позитивно зарядженими R-групами (основні амінокислоти).

У складі деяких білків виявлено похідні амінокислот, зокрема 4-гідроксипролін, 5-гідроксилізин, N-метиллізин, 3-метилгістидин, фосфосерин, фосфотреонін, дийодтирозин. Хімічна модифікація (гідроксилування, фосфорилування, йодування) відповідних амінокислот відбувається вже після їх включення в поліпептидні ланцюги (посттрансляційна модифікація білків).

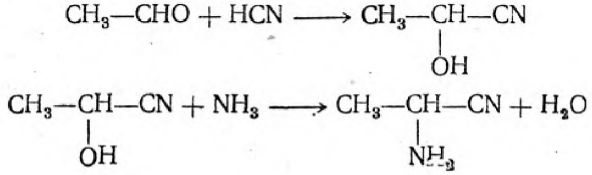
Способи отримання амінокислот

1. Дія аміаку на галогенвмісні жирні кислоти:



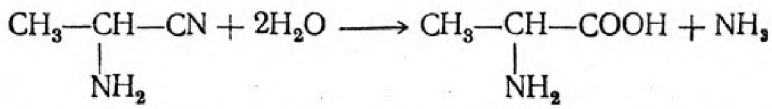
$$2NH_3 + Cl{-}CH_2{-}COOH \longrightarrow H_2N{-}CH_2{-}COOH + NH_4Cl$$

2. Циангідринний метод: дія аміаку на циангідрини альдегідів і кетонів з наступним гідролізом амінонітрилу:



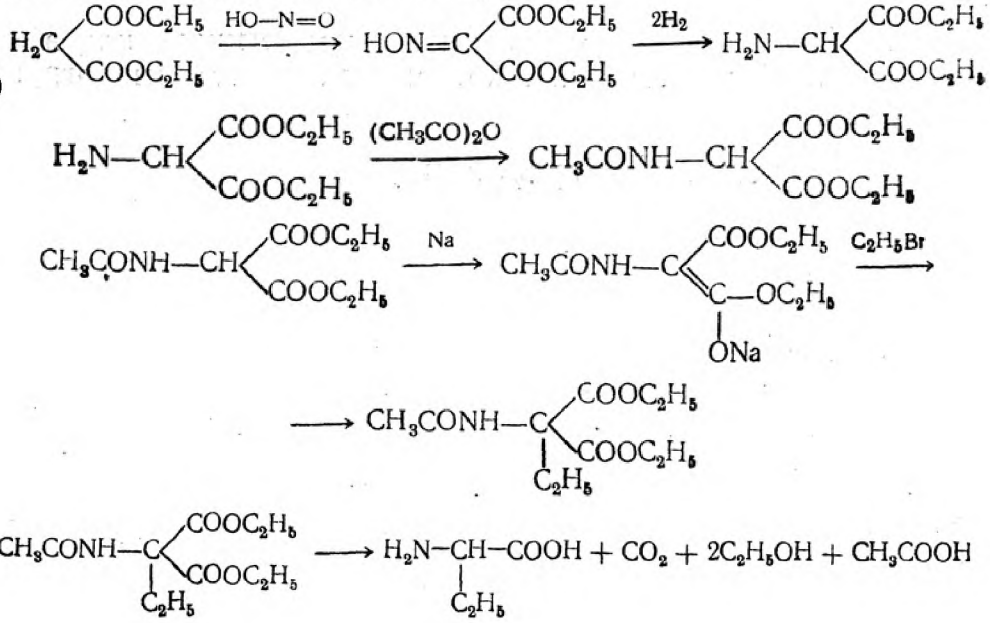
$$CH_3{-}CHO + HCN \longrightarrow CH_3{-}\underset{\displaystyle OH}{\underset{|}{CH}}{-}CN$$

$$CH_3{-}\underset{\displaystyle OH}{\underset{|}{CH}}{-}CN + NH_3 \longrightarrow CH_3{-}\underset{\displaystyle NH_2}{\underset{|}{CH}}{-}CN + H_2O$$

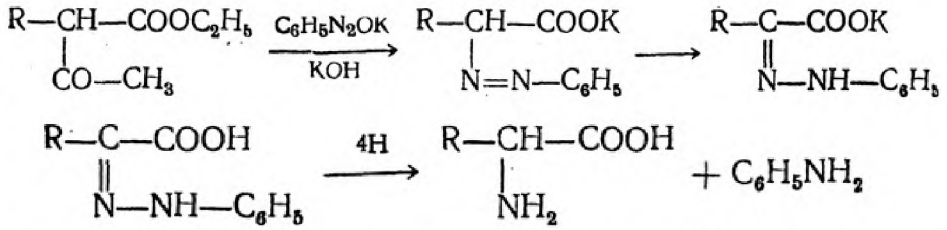


3. Синтези зі складних ефірів, що містять рухливий атом водню (малоновий, цианоцтовий, ацетооцтовий ефіри):

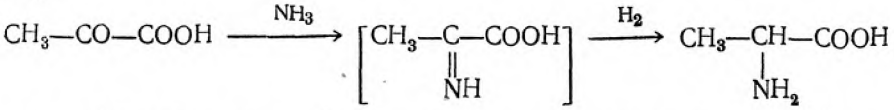
а)



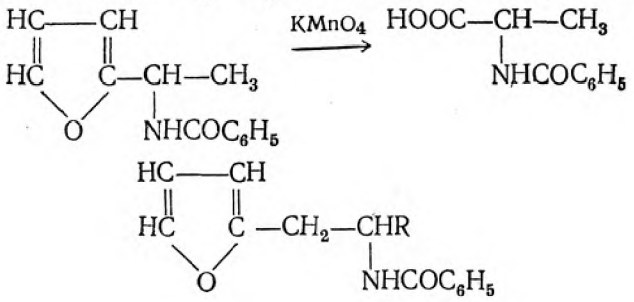
б)

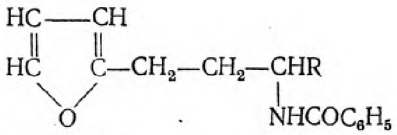


4. Взаємодія кетокислоти з воднем та аміаком в присутності каталізатору (паладій, платина):

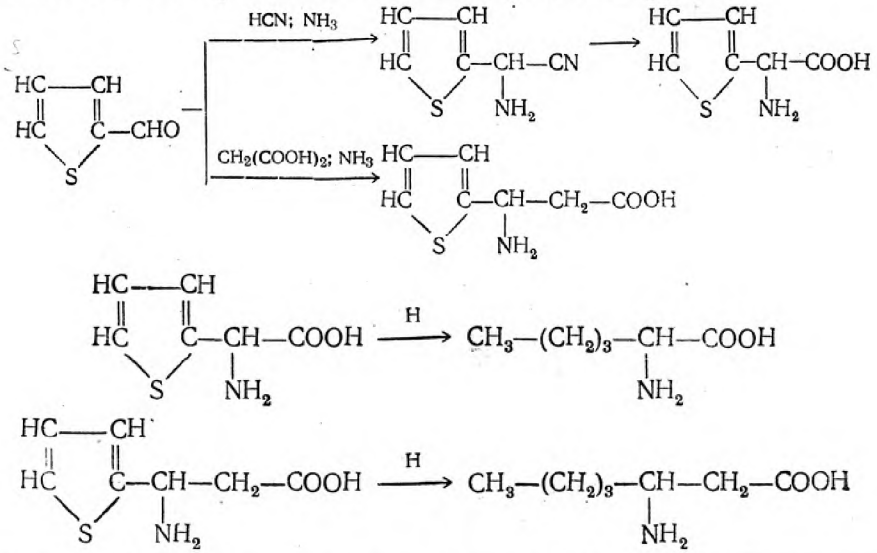


5. Синтези амінокислот з фуранових похідних засновані на легкості окислення фуранового кільця перманганатом з утворенням карбоксильної групи. Якщо в бічному ланцюзі у фуранового кільця є аміногрупа (зазвичай захищена бензоїльною групою), то в результаті окислення утворюється бензоїламінокислота, а після омилення - сама амінокислота. В залежності від положення аміногрупи в ланцюзі отримують α-, β-, γ- і т. д. кислоти:

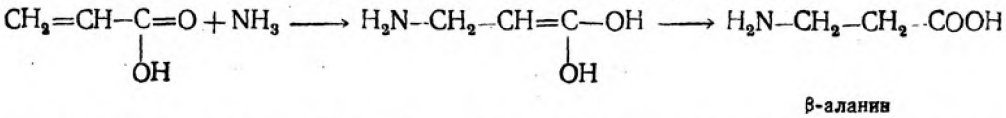




6. Синтези з похідних тіофену засновані на відновлювальному десульфуванню похідних тіофену або його гомологів воднем скелетного нікелевого каталізатора. Залежно від взятого похідного де сульфування призводить до амінокислот з різним положенням аміногрупи:

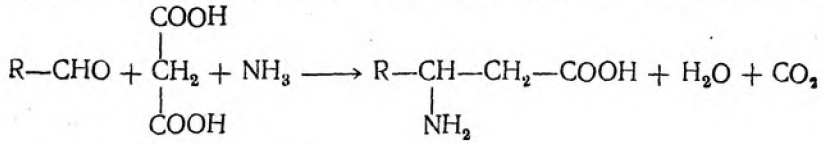


7. Приєднання аміаку до ненасичених кислот: при дії аміаку в спиртовому розчині на α, β-ненасичені кислоти або їх ефіри аміногрупа вступає в β-положення (приєднання проти правила Марковнікова):



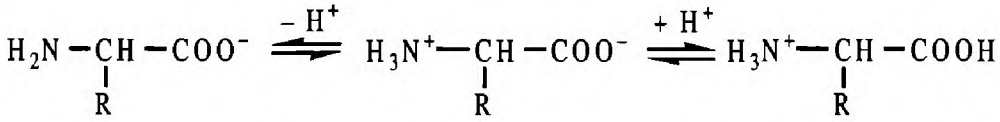
β-аланин

8. Конденсація альдегідів з малоновою кислотою в пристуності спиртового розчину аміаку є загальним методом отримання β-амінокислот:



Хімічні властивості амінокислот

1. Кислотно-основні властивості: амінокислоти є амфотерними електролітами, що можуть дисоціювати з утворенням іонних форм - аніона або катіона. У водному середовищі амінокислоти існують у вигляді рівноважної суміші, що складається з аніонної, катіонної форм та біполярного іона (цвіттер-іона):



Деякі амінокислоти мають бічні ланцюги R, що містять додаткові функціональні групи, здатні до дисоціації:

– кислотні групи: Asp, Glu;
– основні групи: Lys, Arg, His.

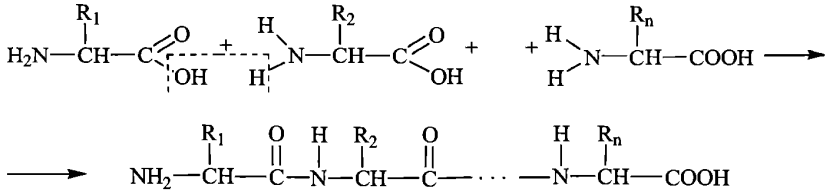
Виходячи з цього, сумарний заряд молекул амінокислот (та, відповідно, білків і пептидів, до складу яких вони входять) визначається взаємовідношенням між кількістю вільних кислотних та основних груп, ступенем їх дисоціації (pKa) та pH середовища.

У кислих розчинах переважає катіонна форма амінокислот (молекули заряджені позитивно), в лужних розчинах - аніонна (амінокислоти заряджені негативно). Ці фізико-хімічні властивості амінокислот визначають їх здатність до електрофорезу - розділення у високовольтному постійному електричному полі. При рівновазі позитивних та негативних зарядів молекула амінокислоти перебуває в ізоелектричному стані.

Характерне для кожної амінокислоти значення pH, при якому амінокислота має сумарний нульовий заряд, називається pH ізоелектричної точки (pI).

2. Полярність молекул амінокислот: залежно від полярності бічних радикалів R, амінокислоти в більшій або меншій мірі взаємодіють із диполями води, тобто проявляють гідрофільні або гідрофобні властивості. Полярність бічних радикалів амінокислот та їх кислотно-основні властивості визначають особливості просторової будови, більшість фізико-хімічних та, відповідно, біологічних властивостей білків, що синтезуються з цих амінокислот.

3. Здатність до утворення кислотно-амідних зв'язків: характерною хімічною особливістю амінокислот є здатність їх α-амінної та α-карбоксильної груп утворювати кислото-амідний (пептидний) зв'язок за рахунок відщеплення елементів молекули води, тобто вступати в реакцію поліконденсації:

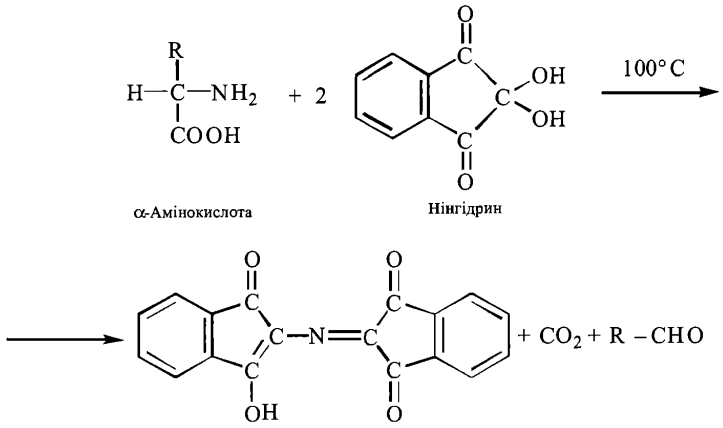


Поліаміди, що утворюються в зазначених реакціях, отримали назву пептидів (дипептидів, трипептидів олігопептидів поліпептидів, відповідно).

Чотири атоми, що входять до складу пептидної групи (-CO-NH-), розміщені в одній геометричній площині, тобто є компланарними. Кисень карбонільної групи та водень амідної розташовані в транс-положенні. Довжина зв'язку між атомами вуглецю групи CO та азоту групи -NH дорівнює 0,132 нм, тобто цей зв'язок коротший звичайного одинарного зв'язку C-N (0,147 нм) і є приблизно на 50 % подвійним.

Якісні реакції на амінокислоти

Нінгідринова реакція: нінгідрин (трикетогідринденгідрат) при нагріванні з α-амінокислотами спричиняє їх декарбоксилування з утворенням NH_3, CO_2 та альдегіду - продукту окислювального декарбоксилування амінокислоти. У подальшому аміак, що вивільнився, реагує з відновленим нінгідрином, утворюючи комплекс синьо-фіолетового кольору з максимумом поглинання при 570 нм. За допомогою нінгідринової реакції можна детектувати 1 нмоль амінокислоти:



Флуорескамінова реакція: флуорескамін утворює з амінокислотами флуоресціюючі комплекси. Флуорескамінова реакція більш чутлива, ніж нінгідринова, і дозволяє визначати амінокислоти в кількостях 10-50 пмоль.

Спектрофотометричне або спектрофлуорометричне вимірювання комплексів амінокислот із нінгідрином або флуорескаміном дозволяє кількісно визначати амінокислоти не тільки як вільні метаболіти, а й у складі білкових гідролізатів після їх хроматографічного розділення, що використовується в аналізі первинної структури білків та пептидів.

Ксантопротеїнова реакція характерна для бензольного ядра циклічних амінокислот (фенілаланіну, тирозину, триптофану), яке нітрується при дії концентрованої азотної кислоти з утворенням нітросполук жовтого кольору.

Реакція Мілона - специфічна реакція на тирозин (амінокислоту, що містить фенольний гідроксил). В умовах нагрівання фенолів та їх похідних із реактивом Мілона (суміш нітратів ртуті) утворюються ртутні похідні цегляно-червоного кольору.

Реакція Сакагучі застосовується для ідентифікації гуанідинової групи аргініну. При взаємодії гуанідину з α-нафтолом та гіпохлоритом натрію в лужних умовах утворюються сполуки з червоним забарвленням.

Реакція Ерліха застосовується для виявлення індольного кільця триптофану, яке при реакції з n-диметиламінобензальдегідом у кислому середовищі дає сполуки з фіолетовим забарвленням.

Реакція Фоля характерна для сірковмісних амінокислот. При кип'ятінні розчину білка або відповідних амінокислот із луґом у присутності плюмбіту натрію утворюється чорно-бурий осад сульфіду свинцю.

Контрольні питання

1. Наведіть класифікацію амінокислот за хімічною будовою молекул.
2. Наведіть приклади незамінних та замінних амінокислот
3. Напишіть рівняння хімічних реакцій. що ілюструють основні способи отримання амінокислот.
4. Охарактеризуйте фізико-хімічні властивості амінокислот.
5. Назвіть якісні реакції на амінокислоти.

ЛЕКЦІЯ 3

БІЛКИ

Білки та їх функції. Білки - біоорганічні високомолекулярні сполуки, молекули яких побудовані із залишків амінокислот, об'єднаних кислото-амідними (пептидними) зв'язками (-CO-NH-).

Білки є найбільш розповсюдженими з усіх класів біомолекул; вони входять до складу всіх клітинних компонентів мікроорганізмів, рослин, тварин та міжклітинних структур. Білковий склад живих клітин ускладнюється пропорційно ступеню складності геному та етапу еволюційного розвитку організму. Кількість різних білків у прокаріотичній клітині ***E. coїi*** - близько 3 000, в організмі людини приблизно 5 000 000; всього в різних видах організмів, що складають біосферу Землі, - 10^{10}—10^{12} різних білків.

Біологічні функції білків і пептидів

1. *Ферментативна (каталітична) функція*: усі ферменти (біокаталізатори) є білками або комплексами білків із низькомолекулярними небілковими сполуками.
2. *Структурна функція*: білки входять до структури біомембран, становлять основу цитоскелета, міжклітинного матриксу та певних спеціалізованих тканин.
3. *Регуляторна функція*: білкову та пептидну природу мають численні біорегулятори - гормони, медіатори та модулятори, що виробляються в ендокринній системі, нейронах головного мозку, імунній системі: прості білки (інсулін, глюкагон тощо), глікопротеїни (тропні гормони гіпофіза тощо), низькомолекулярні пептиди (окситоцин, вазопресин).
4. *Рецепторна функція*: білкову природу мають мембранні рецептори, що приймають хімічний сигнал від гормонів, нейромедіаторів (адренорецептори, холінорецептори, гістамінові рецептори тощо) та інших фізіологічно активних сполук.
5. *Транспортна функція*: білки зв'язують та здійснюють міжклітинний та внутрішньоклітинний транспорт різних лігандів - біомолекул, іонів металів, чужорідних хімічних сполук (ксенобіотиків). Транспортними білками крові людини є сироваткові альбуміни (переносять жирні кислоти, білірубін, лікарські та токсичні сполуки), гемоглобін еритроцитів (транспортує кисень), ліпопротеїни (транспортують ліпіди), трансферин (транспортує залізо).
6. *Скорочувальна функція*: білки реалізують скорочувальну функцію м'язів (актин, міозин), джгутиків (тубуліни, динеїни) тощо.
7. *Захисна функція*: білки виконують функцію імунного захисту (імуноглобуліни, цитокіни, інтерферони тощо), протидіють кровотечі та внутрішньо судинному тромбоутворенню (білки згортальної, антикоагулянтної та фібринолітичної систем крові).

Будова білків. Індивідуальні білки побудовані з декількох сотень амінокислотних залишків.

Білки можуть складатися з одного або декількох окремих поліпептидних ланцюгів, що об'єднані ковалентними (дисульфідними) та нековалентними зв'язками. Білки, в яких є один поліпептидний ланцюг, мають молекулярну масу від ~ 5-6 до ~ 50 кДа; білки з більшою м.м. складаються, як правило, з декількох поліпептидних ланцюгів, що утворюють протомери (субодиниці) - мультиланцюгові (олігомерні) білки.

Пептиди (олігопептиди, поліпептиди) відрізняються від власне *білків* молекулярною масою (меншою 5-6 кДа) та відповідними властивостями.

Поліпептидні ланцюги, що лежать в основі білкових молекул, здатні до формування впорядкованих конформацій, які стабілізуються водневими та іншими слабкими фізико-хімічними зв'язками. Ці високовпорядковані конформації створюють *рівні структурної організації білків*, що відображується в різних формах будови білкових молекул.

Усі білки та пептиди мають унікальну тривимірну просторову організацію (конформацію), що є структурною основою їх специфічної біологічної функції. Високовпорядковані конформації білкових молекул створюються на основі поліпептидних ланцюгів, з певною ковалентою будовою, та стабілізуються за рахунок утворення між амінокислотними залишками окремих пептидних ділянок слабких фізико-хімічних зв'язків і взаємодій. Типи зв'язків у білкових молекулах є наступними.

1. Ковалентні зв 'язки

1.1. Пептидні зв'язки - виникають внаслідок взаємодії а-карбоксильних та а-аміногруп амінокислот, що утворюють пептидний ланцюг.

1.2. Дисульфідні зв'язки (-S-S-) - утворюються між залишками молекул цистеїну, що входять до одного або різних пептидних ланцюгів.

2. Нековалентні зв'язки та слабкі взаємодії беруть участь у взаємодії як певних ділянок одного пептидного ланцюга, так і різних, близько розташованих ланцюгів,

2.1. Водневі зв'язки - виникають між двома електронегативними атомами за рахунок атома водню, ковалентно зв'язаного з одним із електронегативних атомів. Вони найчастіше утворюються між воднем, що входить до складу груп =NH, -OH, -SH, та сусіднім атомом кисню.

Іонні зв'язки - зв'язують між собою іонізовані амінні та карбоксильні групи.

2.2. Дипольні зв'язки - електростатичні взаємодії постійних чи індукованих диполів, які можуть утворюватися між радикалами полярних амінокислот (серину, треоніну, цистеїну, тирозину тощо), що входять до складу білкових молекул.

2.3. Гідрофобні взаємодії - слабкі взаємодії, що виникають між бічними радикалами таких амінокислот, як валін, лейцин, ізолейцин, фенілаланін тощо за рахунок їх "виштовхування" з полярної (зазвичай водної) фази.

Рівні структурної організації білків

Під первинною структурою білків розуміють пептидний (поліпептидний) ланцюг, побудований із залишків L-амінокислот. У поняття первинної

структури білка або пептиду входять його якісний та кількісний амінокислотний склад та порядок чергування (послідовність) окремих амінокислотних залишків. Крім пептидних зв'язків, первинну структуру білків створюють також дисульфідні зв'язки, що з'єднують певні ділянки поліпептидного ланцюга або окремі пептиди.

У зв'язку із здатністю окремих функціональних груп пептидного ланцюга до внутрішньоланцюгових взаємодій, пептидний ланцюг набуває певної просторової структури (конформації). Розрізняють два рівні конформації пептидного ланцюга (та, відповідно, білкової молекули, що утворюється на його основі) - вторинну та третинну структури. Вторинну, третинну та четвертинну структури називають разом вищими рівнями структурної організації білкових молекул.

Вторинна структура білків - це ряд конформацій, утворення яких зумовлене головним чином водневими зв'язками між окремими ділянками (переважно пептидними групами) пептидного ланцюга або різними пептидними ланцюгами.

Розрізняють два основних типи впорядкованої вторинної структури білкових молекул: α-спіраль та β-структуру.

α-спіраль - конформація, яка утворюється при просторовому скручуванні поліпептидного ланцюга за рахунок водневих зв'язків, що виникають між C=0 та NH-групами поліпептидного ланцюга, віддаленими одна від одної на чотири амінокислотних залишки. Водневі зв'язки в α-спіралі спрямовані паралельно до осі молекули. α-Спіраль можна уявити собі у вигляді лінії, що йде по боковій поверхні уявного циліндра. На один оберт α-спіралі припадає 3,6 амінокислотних залишків. Напрямок обертання поліпептидного ланцюга в природних білках - правий («права» α-спіраль).

Геометричні параметри α-спіралі (рис. 3.1): радіус - 0,25 нм; крок (період ідентичності) - 0,54 нм; висота зсунення на один амінокислотний залишок - 0,15 нм; на один оберт α-спіралі припадає 3,6 амінокислотних залишків.

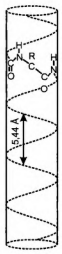


Рис. 3.1 Вторинnaa структура поліпептидного ланцюга у вигляді α-спіралі

α-спіраль є молекулярною структурою, яка утворюється за умов певних стеричних взаємовідносин між амінокислотними залишками, і її формування залежить від амінокислотного складу поліпептидного ланцюга. Окремі амінокислоти (Pro, Gly, Glu, Asp, Arg тощо) протидіють утворенню α-спіралі або дестабілізують її. У зв'язку з цим можливе виникнення спіральних структур, що за своїми геометричними параметрами відрізняються від α-спіралі.

Декілька білкових молекул із вторинною структурою у вигляді спіралей

можуть взаємодіяти одна з одною, утворюючи міжмолекулярні комплекси, що являють собою суперспіралізовані («супервторинні») структури.

β-структура - структура типу складчастого шару, утворюється із зигзагоподібно розгорнутих поліпептидних ланцюгів, що розташовані поряд (двох або більшої кількості, рис. 3.2).

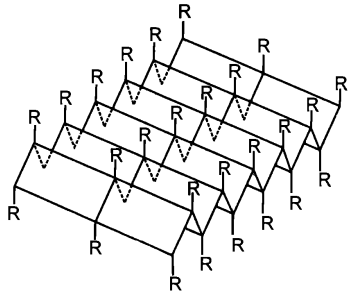


Рис. 3.2 Конформація поліпептидного ланцюга типу складчастого шару

β-структури формуються за рахунок міжланцюгових водневих зв'язків, що з'єднують групи C=O та NH сусідніх поліпептидів.

β-конформацію мають білки β-кератини, які складаються з зигзагоподібних, антипаралельно орієнтованих поліпептидних ланцюгів. Представником β-кератинів є фіброїн - фібрилярний нерозчинний білок шовку та павутиння.

Крім упорядкованих типів (α-спіралі та β-структури), вторинна структура може являти собою нерегулярну, невпорядковану (хаотичну) конформацію.

У багатьох природних білках вздовж одного поліпептидного ланцюга, що становить первинну структуру даного білка, присутні як α-спіралізовані ділянки, так і зони, що становлять складчастий шар (β- структури) або мають нерегулярну конформацію.

Третинна структура білків являє собою спосіб укладання в тривимірному просторі поліпептидного ланцюга з певною вторинною структурою. В утворенні та стабілізації третинної структури беруть участь водневі, іонні, дипольні та гідрофобні зв'язки.

Залежно від форми та особливостей тримірної просторової організації, виділяють глобулярні та фібрилярні білки.

Глобулярні білки — білки, що мають округлу (кулясту або еліпсоїдну) форму. Це альбумін сироватки крові, міоглобін м'язів, гемоглобін, більшість ферментних білків.

Глобулярні білки побудовані з одного або декількох зв'язаних дисульфідними місточками поліпептидних ланцюгів, що згорнуті в щільні кулясті форми. Стабілізація компактної глобули реалізується за рахунок водневих та інших слабких зв'язків між бічними радикалами амінокислотних залишків, які фіксують відносно один одного певні частини поліпептидного ланцюга (або ланцюгів, з'єднаних S-S-зв'язками).

У більшості глобулярних білків полярні (гідрофільні) залишки розміщені на поверхні глобули, де вони контактують із водною фазою, тоді як неполярні радикали занурені у внутрішню (гідрофобну) фазу молекули.

Фібрилярні білки — білки, структурною особливістю яких є витягнута

форма молекул. Вони схильні до утворення ниткоподібних комплексів - фібрил, що складаються з декількох паралельних поліпептидних ланцюгів.

Фібрилярні білки є структурними компонентами сполучної та інших опорних тканин організму. Прикладами структурних фібрилярних білків є: *колаген* - найбільш розповсюджений білок організму людини, що становить до 30% загальної кількості тканинних білків; *еластин* сполучної тканини, а-*кератин* покривних тканин, епідермісу шкіри, волосся.

Четвертинна структура білків утворюється при об'єднанні (агрегації) декількох поліпептидних ланцюгів, або протомерів, кожен з яких має свою характерну впорядковану конформацію.

Окремі протомери (субодиниці) в білках з четвертинною структурою об'єднані нековалентними зв'язками, що спричиняє порівняно легку їх дисоціацію при зміні фізико-хімічних властивостей середовища. Разом з цим, така дисоціація призводить до втрати специфічної для даного білка біологічної активності, яка притаманна лише цілісному олігомерному утворенню.

Білки з четвертинною структурою можуть включати як однакові протомери (як у прикладі гемоглобіну), так і різні. У складі багатьох білків-ферментів містяться різні протомери, що виконують різні біохімічні функції (зокрема, каталітичну та регуляторну).

Домени - структурні ділянки білкових молекул, що являють собою глобулярні утворення всередині білків із третинною структурою. До його складу входить 100-150 амінокислотних залишків.

Окремі домени є відносно функціонально автономними утвореннями у складі білкових молекул, і доменні білки в цьому відношенні подібні до олігомерних білків. Але, на відміну від білків із четвертинною структурою (олігомерів), окремі доменні глобули утворюються тим самим поліпептидним ланцюгом і, відповідно, зв'язані між собою пептидними фрагментами («шарнірними» ділянками). Зв'язки між доменами можна розщепити тільки за допомогою протеолітичних ферментів.

Всі високовпорядковані форми просторової конформації білкових молекул детерміновані первинною структурою поліпептидного ланцюга, тобто амінокислотною послідовністю, яка визначається генетичним кодом клітини, в якій синтезується даний білок.

Вторинна, третинна, четвертинна та доменна організації білків є результатом довільного, спонтанного формування просторових угруповань, що спрямовані на досягнення складним біофізичним утворенням, яке являє собою макромолекула білка, термодинамічно стабільного стану.

Фізико-хімічні властивості білків. Завдяки наявності значної кількості іоногенних груп (амінні та карбоксильні кінцеві групи, бічні радикали кислих та основних амінокислот) білкові молекули є амфотерними електролітами й у водних розчинах утворюють амфіони, знак та заряд яких залежить від їх амінокислотного складу та pH середовища.

Подібно до вільних амінокислот, у кислому середовищі переважають катіонні форми білкових молекул, у лужних - аніонні. Наявність заряду в

молекулах білків визначає їх здатність до *електрофорезу* — руху в постійному електричному полі.

Змінюючи pH, можна перевести білок у стан, при якому сумарний електричний заряд білкової молекули дорівнює нулю (*ізоелектричний стан).* Відповідне значення pH отримало назву *pH ізоелектричної точки білка (pI).* У складі більшості природних білків кількість аніоногенних амінокислотних залишків перевищує кількість катіо- ногенних залишків, тому для багатьох білків pi знаходиться в кислому середовищі, і при нейтральних або слаболужних значеннях pH вони існують у формі аніонів (наприклад, білки плазми крові).

Багато глобулярних білків добре розчинні у воді або слабких розчинах солей лужних металів. Розчинність окремих білків у різних фізико-хімічних середовищах залежить від переважання в їх складі полярних або неполярних амінокислотних залишків.

Багато глобулярних білків (зокрема, білків сироватки крові та інших біологічних рідин) містять на своїй поверхні гідрофільні залишки полярних незаряджених або заряджених амінокислот, які добре взаємодіють із дипольними молекулами води, утворюючи навколо білкових молекул гідратні оболонки. Ці білки добре розчинні у воді або слабких розчинах солей лужних металів.

Збільшення в розчинах вмісту катіонів металів або амонію супроводжується дегідратацією білкових молекул і осадженням певних білків (метод *висолювання).* Із цією метою найбільш часто використовуються концентровані розчини сульфату амонію, сульфату натрію, хлоридів натрію та калію. Змінюючи концентрацію висолюючих реагентів, можна здійснювати диференційоване осадження (фракціонування) певних білкових фракцій.

Під *денатурацією* розуміють втрату білковою молекулою притаманної їй просторової структури *{нашивної конформації)* та порушення характерних для даного білка фізико-хімічних властивостей.

Денатурація супроводжується зниженням або втратою специфічної для даного білка біологічної активності (ферментативної, гормональної тощо).Вона відбувається внаслідок впливу на білкові розчини та білки, що знаходяться в біологічних середовищах, жорстких хімічних, фізико-хімічних та фізичних факторів. Денатурацію спричиняють дія кислот, лугів, органічних розчинників, нагрівання білків до 60-80°С, дія високих доз ультрафіолетового та іонізуючого випромінювання. Механізм впливу денатуруючих агентів полягає в руйнуванні слабких зв'язків (водневих, іонних, дипольних, гідрофобних), що стабілізують упорядковані типи просторової організації білкових молекул (вторинну та третинну структуру).

Внаслідок наявності на поверхні білкових молекул значної кількості активних функціональних груп, білки здатні до зв'язування різноманітних хімічних *лігандів.* Зв'язування білками певних хімічних лігандів у багатьох випадках є механізмом реалізації транспортної, регуляторної або каталітичної функцій даних білків.

Поряд із білками, взаємодія яких із небілковими лігандами є етапом їх транспорту або депонування, існують класи білків, які постійно зв'язані з певними небілковими сполуками, що являють собою інтегральні структурні компоненти цих білків. У даному випадку йдеться про генетичну запрограмованість окремих білкових структур до взаємодії із своїми лігандами і реалізацію білком його специфічних функцій тільки у складі таких хімічних або фізико-хімічних комплексів. На відміну від зазначених вище типів взаємодій, зв'язування таких складних білків з їх небілковими частинами у багатьох представників цих білків (глікопротеїнів, фосфопротеїнів) відбувається *внутрішньоклітинно* і є етапом біосинтезу даного білка - посттрансляційної модифікації, що здійснюється в ендоплазматичному ретикулумі або апараті Гольджі після рибосомального складання поліпептидного ланцюга.

Прості і складні білки. Прості білки - до складу яких входять лише залишки амінокислот, об'єднані в поліпептидні ланцюги.

Складні білки - до складу яких входять приєднані ковалентними або нековалентними зв'язками інші біомолекули (простетичні групи) або іони металів.

Залежно від хімічної природи простетичної групи складні білки поділяються на:

- глікопротеїни - простетичними групами в яких є моно- або олігосахариди.
- ліпопротеїни - складні білки, в яких білкова частина сполучена з ліпідами;
- нуклеопротеїни - небілковою частиною є ДНК та РНК;
- хромопротеїни - мають забарвлену, пігментну простетичну групу (нуклеотид, порфірин у комплексі з металом);
- металопротеїни - містять метал, що не входить до складу металопорфіринового комплексу;
- фосфопротеїни - містять залишок фосфорної кислоти.

Контрольні питання

1. Перелічьте функції білків в живих організмах.
2. Охарактеризуйте рівні структурної організації білків.
3. Назвіть типи хімічних зв'язків в білкових молекулах.
4. Охарактеризуйте фізико-хімічні властивості білків.
5. Наведіть приклади складних білків.

ЛЕКЦІЯ 4

ВУГЛЕВОДИ. МОНОСАХАРИДИ

Види вуглеводів. Вуглеводи - сполуки, що за своєю хімічною будовою є альдегідо- та кетопохідними багатоатомних спиртів.

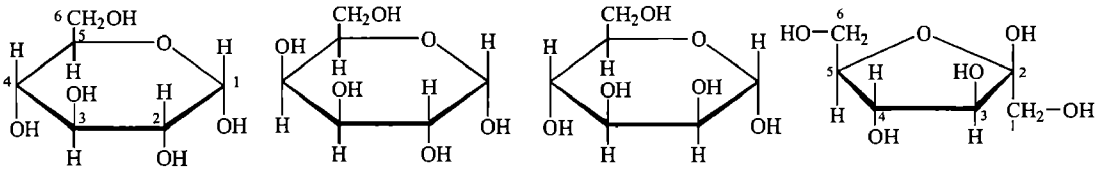
Вуглеводи, що не підлягають гідролізу (розщепленню водою на простіші сполуки), є простими вуглеводами, або моносахаридами. Вуглеводи, що

гідролізуються до моносахаридів, мають назву складних вуглеводів - олігосахаридів та полісахаридів.

Вуглеводи утворюються в природі з діоксиду вуглецю та води за рахунок фотосинтезу, що протікає у вищих рослинах та деяких мікроорганізмах, і складають основну масу органічного вуглецю біосфери; їх вміст у тканинах рослин становить близько 80% маси. В свою чергу, рослинні вуглеводи є одним із основних джерел вуглецю для тваринних організмів.

У тваринних організмах вміст вуглеводів становить 1-2% сухої маси, в основному у вигляді резервного полісахариду глікогену. Втім, вуглеводи відіграють життєво важливі енергетичні та структурні функції.

Моносахариди та їх похідні. Залежно від кількості вуглецевих атомів, моносахариди (монози) поділяються на тріози, тетрози, пентози, гексози, гептози і т.д. Найбільш поширеними у тваринних організмах моносахаридами є гексози та пентози. Гексози поділяють на альдогексози (D-глюкоза та її епімери D-галактоза, D-маноза, D-фукоза тощо) і кетогексози (D-фруктоза):



α-D-глюкоза α-D-галактоза α-D-маноза β-D-фруктоза

D-глюкоза (виноградний цукор) - широко розповсюджена у природі: у вільному стані знаходиться в рослинах, крові людини (4,44- 6,66 ммоль/л) та інших біологічних рідинах. Глюкоза є структурним компонентом сахарози, лактози, крохмалю, клітковини та глікогену. Крохмаль є основним джерелом надходження глюкози в організм людини. В організмі людини за рахунок аеробного окислення глюкози вивільняється в середньому 60-70% хімічної енергії, необхідної для енергозабезпечення процесів життєдіяльності.

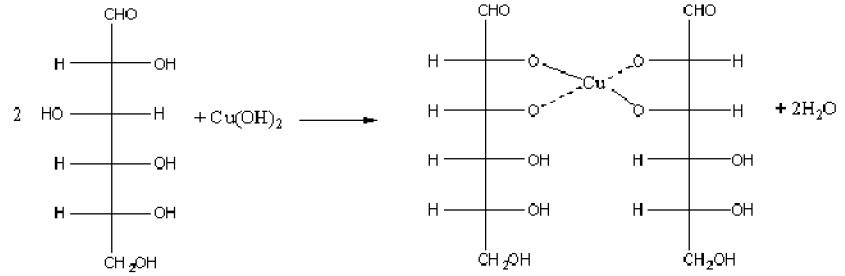
Хімічні властивості глюкози:

– реакція «срібного дзеркала»:

$CH_2OH–(CHOH)_4–CH=O + 2[Ag(NH_3)_2]OH \rightarrow CH_2OH–(CHOH)_4–COONH_4 + 2Ag\downarrow + 3NH_3 + H_2O;$

– реакція з гідроксидом міді:

$CH_2OH–(CHOH)_4–CH=O + 2Cu(OH)_2 \rightarrow CH_2OH–(CHOH)_4–COOH + Cu_2O\downarrow + 2H_2O;$



– відновлення:

$CH_2OH–(CHOH)_4–CH=O \rightarrow CH_2OH–(CHOH)_4–CH_2OH;$

– бродіння – розщеплення глюкози під дією ферментів:

$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2C_2H_5OH + 2CO_2$ – спиртове бродіння,

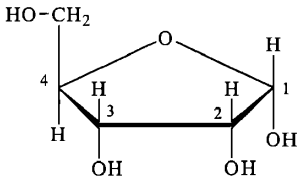
$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2CH_3CH(OH)COOH$ – молочнокисле бродіння.

Для фруктози характерні всі реакції багатоатомних спиртів, однак реакції карбонільної (альдегідної) групи, на відміну від глюкози, для неї не характерні.

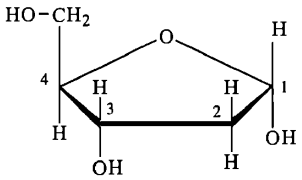
D-галактоза (молочний цукор) - входить до складу дисахариду лактози, що міститься в молоці. Головним джерелом галактози для організму людини є лактоза, яка після гідролізу вивільнює галактозу, здатну перетворюватися на глюкозу.

D-маноза є структурним компонентом полісахариду манану, що є компонентом рослинних та бактеріальних глікопротеїнів; у вільному стані міститься в шкірці цитрусових. У тваринному організмі входить до складу олігосахаридної частини гліколіпідів та глікопротеїнів мембран та біологічних рідин. Продукт відновлення манози - шестиатомний спирт манітол (маніт) застосовують у медицині як осмотичний діуретик і як замінник сахарози в дієті хворих на цукровий діабет.

Біологічно важливими представниками пентоз є альдопентози (D-рибоза, 2-дезокси-D-рибоза, L-арабіноза, D-ксилоза) і кетопентози (D-рибулоза і D-ксилулоза):



α-D-рибоза



2-дезокси-D-рибоза

D-рибоза - входить до складу нуклеотидів рибонуклеїнових кислот та вільних рибонуклеотидів, ряду коферментів, глікозидів і антибіотиків.

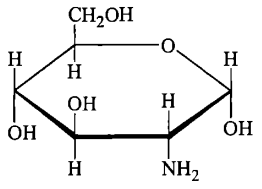
2-дезокси-D-рибоза - входить до складу нуклеотидів дезокси-рибонуклеїнових кислот.

L-арабіноза - входить до складу полісахаридів рослин арабінанів, рослинних камедей, полісахаридів туберкульозної палички. У вільному стані міститься у хвойних деревах.

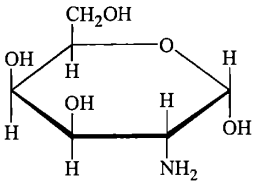
D-ксилоза - зустрічається у складі рослинних ксиланів. Використовується в кондитерському виробництві як поживна речовина для росту кормових дріжджів, а також для синтезу спирту ксиліту, що застосовується як лікарський засіб.

D-рибулоза, D-ксилулоза - кетопентози, які у вигляді фосфорних ефірів утворюються в організмі людини і тварин як метаболіти пентозофосфатного шляху обміну глюкози.

Амінопохідні моносахаридів (аміноцукри): до найбільш поширених аміноцукрів належать 2-амінопохідні гексоз D-глюкози та D-галактози — гексозаміни:



D-глюкозамін (хітозамін)



D-галактозамін (хондрозамін)

Глікозиди - сполуки, що є продуктом конденсації моносахаридів (або моносахаридних залишків складнішого цукру) із спиртами або фенолами.

Глікозидні зв'язки, що виникають між залишками окремих цукрів, є

основою будови складних вуглеводів. При взаємодії ацетального гідроксилу моносахариду з гідроксилвмісними невуглеводними молекулами виникають численні глікозиди, що є фізіологічно активними сполуками; невуглеводний компонент глікозиду називають аглiконом. Агліконами можуть бути залишки метанолу, гліцеролу, фенолу, стеролу.

Крім глікозидів, що утворюються при взаємодії вуглеводів із гідроксилвмісними сполуками (О-глікозидів), у живій природі широко представлені N-глікозиди. N-глікозиди є продуктами взаємодії моносахаридів з агліконами через атом азоту NH-групи, яка входить до складу аліфатичних, ароматичних, гетероциклічних амінів. Біологічно важливими прикладами N-глікозидів є нуклеозиди, що є структурними компонентами нуклеотидів нуклеїнових кислот та багатьох коферментів.

Контрольні питання

1. Перелічьте функції вуглеводів в живих організмах.
2. Наведіть класифікацію вуглеводів.
3. Охарактеризуйте найбільш розповсюджені в природі моносахариди.
4. Які хімічні властивості характерні для вуглеводів?
5. Які сполуки відносяться до глікозидів?

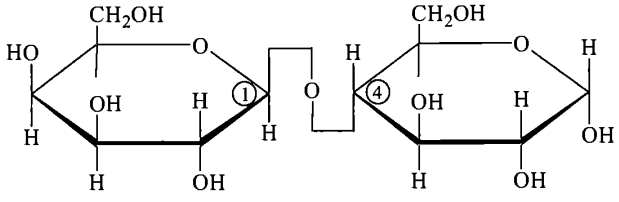
ЛЕКЦІЯ 5

СКЛАДНІ ВУГЛЕВОДИ

Складні вуглеводи. Складні вуглеводи - продукти конденсації моносахаридів та їх похідних, що містять у своєму складі від двох чи трьох (олігосахариди) до багатьох тисяч (полісахариди) мономерних залишків цукрів.

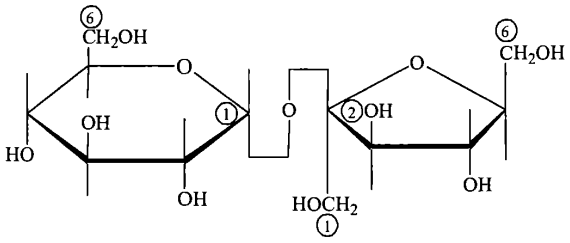
Найважливіше значення в біохімії і фізіології людини мають дисахариди лактоза, сахароза, мальтоза.

Лактоза - молочний цукор, складається із залишків галактози і глюкози. Лактоза є важливим компонентом харчування людини, входить до складу жіночого (6- 7%) та коров'ячого (5%) молока:



Лактоза

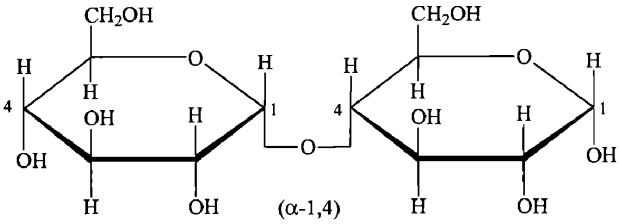
Сахароза - один із найбільш розповсюджених у природі та практично важливих дисахаридів, що міститься в стеблах, коренях, бульбах та плодах рослин. У харчуванні людини найбільше значення має сахароза, яка утворюється в цукровому буряку (12-20 %) та цукровій тростині (14-26 %) і є основним компонентом харчового цукру:



Сахароза

Сахароза не реагує з аміачним розчином оксиду срібла, тому її називають невідновлюючим дисахаридом. При гідролізі сахарози утворюються глюкоза і фруктоза, при взаємодії з гідроксидом кальцію – сахарат кальцію.

Мальтоза - солодовий цукор-дисахарид, що складається із залишків двох молекул глюкози. Мальтоза утворюється в травному каналі людини під дією на харчовий крохмаль ферменту β-амілази:



Мальтоза

Хімічні властивості мальтози аналогічні глюкозі, тому її називають відновним дисахаридом.

Полісахариди - складні вуглеводи, полімери, побудовані із залишків багатьох тисяч молекул моносахаридів та їх похідних. Поділяються на гомо- та гетерополісахариди.

Гомополісахариди - мономерами є залишки однакових моносахаридів (найчастіше глюкози) або їх похідних. Гомополісахариди поділяються на вуглеводи тваринного (глікоген, хітин), рослинного (крохмаль, клітковина, інулін, пектини) та мікробного (декстран) походження.

Гетерополісахариди - утворені з різних за хімічною структурою мономерів - похідних гексоз.

Характеристика окремих полісахаридів. Крохмаль - складається з двох фракцій - амілози та амілопектину, які становлять відповідно 15-20 % та 80-85 % загальної маси крохмалю.

Амілоза - лінійний полісахарид, молекули якого містять від 200 до 1000 мономерів (залишків глюкози). Гомополімери амілози формують спіральні структури, кожен виток яких включає шість молекул глюкози.

Амілопектин - розгалужений полісахарид. Між точками розгалужень містяться 20-30 глюкозидних мономерів.

Крохмаль є основним джерелом резервної енергії в рослинних клітинах, що утворюється внаслідок фотосинтезу і відкладається в коренях, бульбах і насінні. Крохмаль - головний вуглевод у харчуванні людини, який міститься в значних кількостях у хлібних злаках, картоплі, бобових рослинах.

Глікоген - за хімічною структурою близький до амілопектину крохмалю («тваринний крохмаль»), але має більш розгалужені молекули. Лінійні відрізки основного ланцюга глікогену вміщають 6-12 залишків молекул глюкози.

Глікоген утворює внутрішньоклітинні гранули - депо метаболічної енергії, в яких резервується надлишок глюкози, що надходить із їжею. Найбільша кількість глікогену в організмі людини міститься в печінці (2-5 %) та хребтових м'язах (0,5-2 %).

Целюлоза (клітковина) - головний структурний компонент клітинних стінок рослин. До складу целюлози входить понад 50 % усього органічного вуглецю біосфери; деревина складається з целюлози приблизно наполовину, а бавовна є майже чистою целлюлозою.

Молекули целюлози - нерозгалужені ланцюги, що складаються із залишків молекул глюкози, сполучених глікозидними зв'язками. Макромолекулярний ланцюг целюлози утворюється з 2500-12000 молекул глюкози, У травному каналі людини целюлоза не розщеплюється.

Целюлоза взаємодіє з азотною та оцтовою кислотами з утворенням складних ефірів:

$$(C_6H_7O_2(OH)_3)_n + 3nCH_3COOH \rightarrow (C_6H_7O_2(OCOCH_3)_3)_n + nH_2O.$$

Крім целюлози, з їжею до травного каналу людини потрапляють інші рослинні гомо- і гетерополісахариди, що формують харчові волокна: геміцелюлоза та пектини.

Декстран - гомополісахарид дріжджів та бактерій із розгалуженою будовою. Використовується в клінічній медицині як плазмо- і кровозамінники (фармацевтичні препарати Поліглюкін та Реополіглюкін).

Хітин - утворений із залишків N-ацетилглюкозаміну, об'єднаних глікозидними зв'язками. Утворює міцні нерозгалужені ланцюги, що є основою поверхневого панцира комах та ракоподібних.

Інулін - рослинний гомополісахарид із класу фруктозанів. Молекула інуліну має лінійну будову і складається із залишків (3-D-фруктози, сполучених глікозидними зв'язками.

Пектини (пектинові речовини) - основою структури є полігалактуронова (пектова) кислота, яка складається із залишків α-О-галактуронової кислоти, об'єднаних глікозидними зв'язками. Пектини синтезуються у вищих рослинах та деяких водоростях і надходять в організм людини з рослинними продуктами харчування. Пектини використовуються для виготовлення гелів і є основою ряду лікарських препаратів.

Медичне значення мають геміцелюлози та камеді - рослинні гетерополісахариди з розгалуженою будовою, які містять у своєму складі залишки моносахаридів (галактози, глюкози, арабінози, рамнози тощо) та уронових кислот.

Гетерополісахариди - полімери, побудовані з великої кількості різних моносахаридних одиниць та їх похідних. У біохімії та фізіології людини і тварин найбільше значення мають гетерополісахариди глікозаміноглікани.

Глікозаміноглікани - гетерополісахариди, побудовані з дисахаридних залишків, які повторюються. Моносахаридними компонентами дисахаридних залишків глікозаміногліканів є найчастіше гексуронові кислоти (глюкуронова або іноді ідуронова тощо) та N-ацетилпохідні гексозамінів (глюкозаміну,

галактозаміну).

До глікозаміногліканів належать численні тваринні біополімери, що складають міжклітинний матрикс сполучної тканини, який заповнює простір між окремими клітинами. Найбільш вивченими глікозаміногліканами є гіалуронова кислота, хондроїтинсульфати, дерматансульфати, кератансульфати, гепарансульфати, які входять до складу шкіри, сухожиль, хрящів, суглобів, забезпечуючи механічну міцність та пружність органів, еластичність їх сполучень. Глікозаміноглікан гепарин є природним антикоагулянтом.

Глікозаміноглікани є поліаніонними молекулами. Щонайменше один із моносахаридних компонентів у молекулах глікозаміногліканів несе кислотне угруповання - карбоксильну або сульфатну групу, яка забезпечує їх високу гідрофільність, тобто здатність утримувати в біологічних тканинах значну кількість води.

Усі глікозаміноглікани виконують свої біохімічні та фізіологічні функції, будучи зв'язані з білками. Ковалентні комплекси глікозаміногліканів сполучної тканини (гіалуронової кислоти, хондроїтинсульфатів тощо) з білками отримали назву протеогліканів, що є представниками змішаних біополімерів (глікокон'югатів).

Глікопротеїни. Глікопротеїни є складними білками, з поліпептидною основою яких ковалентно зв’язані олігосахаридні ланцюги.

Глікопротеїни є численною групою білків із різноманітними функціями. Це структурні білки біомембран та екстрацелюлярного матриксу, зокрема сполучної тканини (колаген, еластин, муцини, слизові секрети, білки кісткового матриксу); білки крові, в тому числі фактори згортальної системи, транспортери вітамінів, гормонів, мінеральних елементів; гормони (хоріонічний гонадотропін, тиреотропін); білки імунної системи (імуноглобуліни, інтерферони, компоненти системи комплементу); ферменти (протеази, нуклеази, гліко- зидази) тощо.

Глікопротеїни та близькі до них за будовою гліколіпіди створюють поверхневоьслітинний глікокалікс, компоненти якого беруть участь у міжклітинній взаємодії, регуляції клітинного поділу та її порушеннях при злоякісному рості. Глікопротеїни клітинної поверхні реалізують функцію взаємного розпізнавання клітин, що має особливе значення в процесах імунітету: полісахариди клітинної мембрани є антигенами, відносно яких розвиваються реакції клітинного імунітету, зокрема при трансплантації органів та тканин.

Вміст вуглеводного компоненту в більшості глікопротеїнів невеликий, але іноді складає до 50-80 % маси молекули. Кількість вуглеводних ланцюгів у складі окремих молекул глікопротеїнів змінюється від одного до кількох десятків. У свою чергу, кожен олігосахаридний ланцюг глікопротеїнів містить від 1 до 15 монозних залишків. Ці ланцюги можуть бути лінійними або розгалуженими.

Найчастіше у вуглеводному фрагменті глікопротеїнів організму людини зустрічаються галактоза, глюкоза.

Контрольні питання

1. Чим складні вуглеводи відрізняються від простих?
2. Охарактеризуйте найбільш розповсюджені в природі дисахариди.
3. Охарактеризуйте найбільш розповсюджені в природі полісахариди.
4. Яку хімічну будову мають глікопротеїни?
5. Яке біологічне та практичне значення мають полісахариди в житті людини?

ЛЕКЦІЯ 6

ЛІПІДИ. ПРОСТІ ЛІПІДИ

Загальна характеристика ліпідів. Ліпіди - клас біоорганічних сполук, характерною ознакою яких є нерозчинність у воді й інших полярних розчинниках та здатність до розчинення в неполярних (гідрофобних) рідинах.

Вміст ліпідів в організмі людини складає в середньому 10-20% від маси тіла. Ліпіди можна умовно розділити на два види: протоплазматичні і резервні. Протоплазматичні (конституційні) входять до складу всіх органів і тканин. Вони складають приблизно 25% всіх ліпідів організму і практично залишаються на одному рівні протягом всього життя. Резервні ліпіди запасаються в організмі і кількість їх змінюється залежно від різних умов. Найбільша кількість ліпідів (до 90%) міститься в жировій тканині. У мозку ліпіди складають половину маси органа.

В організмі людини та тварин ліпіди виконують важливі функції як акумулятори та постачальники енергії, компоненти структури клітин, особливо біологічних мембран; певні представники ліпідів є фізіологічно активними речовинами (вітаміни, гормони). Функції ліпідів в організмі людини:

- енергетична - поряд з вуглеводами є основним енергетичним паливом клітини. При спалюванні 1 г ліпідів виділяється 38,9 кДж (або 9,3 ккал) енергії;
- структурна - ліпіди (фосфоліпіди, гліколіпіди) разом з білками входять до складу біологічних мембран;
- захисна - функція механічного захисту, роль якої виконує підшкірна жирова клітковина;
- терморегуляторна - жир погано проводить тепло, тому є теплоізолятором; при охолодженні організму на генерування тепла за рахунок виділення енергії витрачаються ліпіди;
- регуляторна - ряд гормонів (статеві, гормони кори надниркових залоз) є похідними ліпідів;
- ліпіди є джерелом ненасичених вищих жирних кислот - вітаміну F, одного з незамінних факторів харчування;
- жир є джерелом ендогенної води в організмі; при окисленні 100 г ліпідів утворюється 107 г води;

– ліпіди виконують функцію природних розчинників, забезпечуючи всмоктування в кишечнику незамінних жирних кислот і жиророзчинних вітамінів.

За своєю хімічною структурою більшість ліпідів є складними ефірами вищих карбонових (жирних) кислот та спиртів (гліцеролу, сфінгозину, холестеролу тощо). До складу багатьох класів ліпідів входять також залишки фосфорної кислоти, азотистих основ (коламіну, холіну), вуглеводів.

Найважливішою ознакою, що визначає фізико-хімічні та біологічні властивості ліпідів, є їх жирнокислотний склад. Кількість вуглецевих атомів та, відповідно, довжина вуглеводневого ланцюга, ступінь насиченості жирних кислот, що входять до складу природних ліпідів обумовлюють їх консистенцію та поверхневу активність, зокрема, здатність до комплексоутворення з білками і, відповідно, утворення міцел, бішарів- основи транспортних ліпопротеїнів, ліпідного матриксу біологічних мембран.

До складу ліпідів організму людини і вищих тварин входять жирні кислоти з парним числом вуглецевих атомів, що містять від 12 до 24 атомів С.

В організмі людини жирні кислоти знаходяться частково у вільному, тобто неетерифікованому, стані - головним чином, у плазмі крові - та переважно входять до складу складних структурних ліпідів і тригліцеридів жирової тканини як резерв енергетичного матеріалу

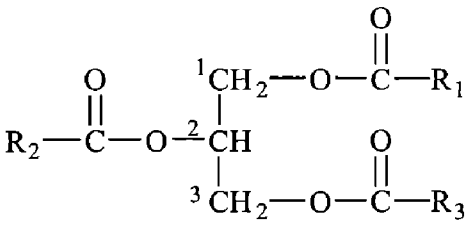
Серед насичених жирних кислот у жирах людини переважає пальмітинова кислота ($C_{,5}H_{31}COOH$), серед ненасичених - олеїнова ($C_{17}H_{33}COOH$), яка становить близько 60% від загальної кількості жирних кислот, що входять до складу триацилгліцеридів жирової тканини людини. Наявність у ліпідах значної кількості олеїнової кислоти з низькою температурою плавлення зумовлює рідкий стан жирів тіла людини, температура плавлення яких становить у середньому 10-15°С.

Залежно від хімічної структури компонентів, що вивільняються за умов повного гідролізу, ліпіди поділяються на такі класи.

Прості ліпіди: Ацилгліцероли. Стериди. Цериди (воски).

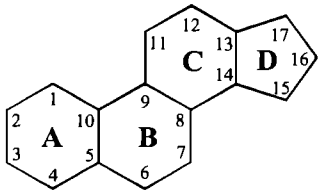
Складні ліпіди: Фосфоліпіди. Гліцерофосфоліпіди. Сфінгофосфоліпіди. Гліколіпіди. Глікозилгліцероли. Глікосфінголіпіди.

Прості ліпіди. Прості ліпіди - ліпіди, що при гідролізі утворюють спирт та жирні кислоти. *Ацилгліцероли (ацилгліцериди*) - ліпіди, що є складними ефірами гліцеролу (гліцерину) та жирних кислот. Тригліцериди є основною складовою частиною адипоцитів жирової тканини людини і тварин, являючи собою молекулярну форму зберігання вищих жирних кислот - найбільш енергоємкого метаболічного палива. Природні тригліцериди є мішаними ліпідами, тобто до їх складу входять залишки різних жирних кислот.

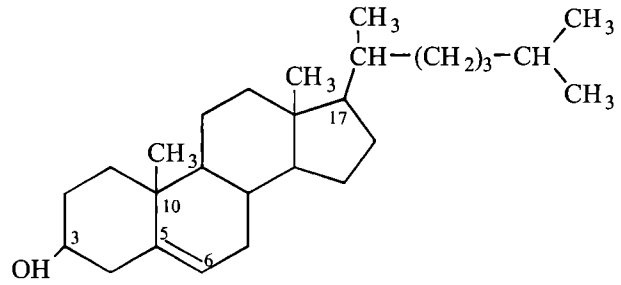


Триацилгліцерол (*тригліцерид*)

Стериди- ліпіди, що є складними ефірами циклічних спиртів стеролів (стеринів) та жирних кислот. Найбільш розповсюдженим стеролом тваринного організму є холестерол (холестерин), що входить як структурний ліпід до складу плазматичних мембран і є попередником у синтезі інших стеринів та їх похідних (стероїдів).



Стеран
(*циклопентанпергідрофенантрен*)



Холестерол
(*холестерин*)

До біологічно важливих стеринів належать стероїдні гормони кори надниркових залоз, чоловічі та жіночі статеві гормони, вітаміни групи D та їх похідні, жовчні кислоти.

Цериди (*воски*) - є складними ефірами вищих жирних кислот та високомолекулярних спиртів (цетилового $C_{16}H_{33}OH$ та мірицилового $C_{30}H_{61}OH$). До восків тваринного походження належать бджолиний віск, спермацет, ланолін, що використовуються для виготовлення мазей, кремів.

Контрольні питання

1. Перелічьте функції ліпідів в живих організмах.
2. Наведіть класифікацію ліпідів.
3. Охарактеризуйте найбільш розповсюджені в природі класи простих ліпідів.
4. Які жирні кислоти входять до складу ліпідів організму людини?
5. Яке біологічне значення мають протоплазматичні і резервні ліпіди для організму людини?

ЛЕКЦІЯ 7

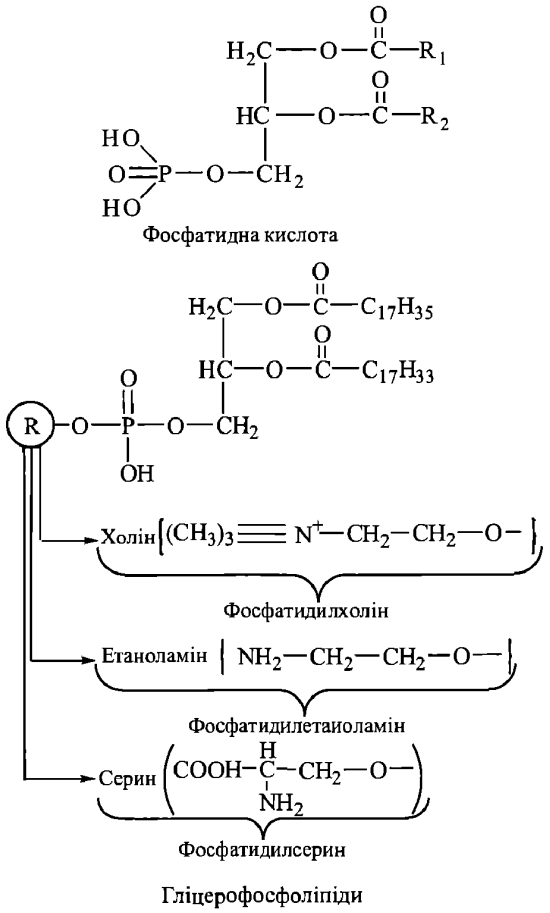
СКЛАДНІ ЛІПІДИ

Складні ліпіди. Складні ліпіди - при гідролізі вивільняють спирт (гліцерол, сфінгозин, інозит), а також фосфат, аміносполуки, вуглеводи. Є полярними сполуками, і більшість з них виконує структурні функції, входячи до складу біологічних мембран.

Численну групу складних ліпідів складають фосфоліпіди, які, залежно від спирту, що входить до їх складу, поділяються на гліцерофосфоліпіди та сфінгофосфоліпіди.

Гліцерофосфоліпіди (*фосфогліцериди*) - складні ефіри гліцеролу та вищих жирних кислот, що є похідними *фосфатидної кислоти,* етерифікованої аміноспиртами холіном, етаноламіном (коламіном) і оксіамінокислотою серином.

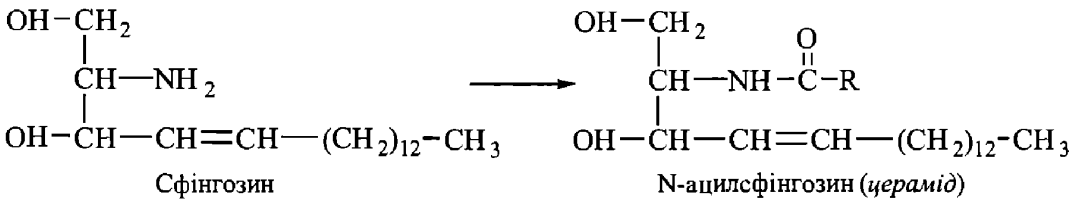
Фосфодіефірний зв'язок у складі гліцерофосфоліпідів утворений гідроксильними групами холіну (*фосфатидилхоліни*, або *лецитини),* етаноламіну (*фосфатидилетаноламіни,* або *кефаліни)* або серину (*фосфатидилсерини*).



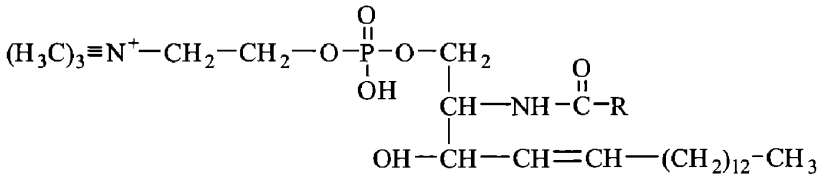
Гліцерофосфоліпіди

Природні гліцерофосфоліпіди містять у центральному (2-му, β-положенні залишки ненасичених, а в крайньому (1-му, α-) - насичених жирних кислот.

Сфінгофосфоліпіди — складні ефіри багатоатомного аміноспирту сфінгозину та вищих жирних кислот, що містять також залишки фосфорної кислоти і аміноспиртів. N-ацильні похідні сфінгозину та жирних кислот мають назву церамідів:



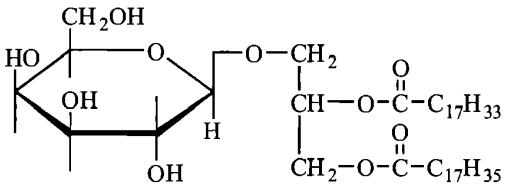
Сфінгофосфоліпіди є фосфорними ефірами церамідів та холіну, етаноламіну або серину. В нервовій тканині людини та вищих тварин найбільш розповсюджені сфінгомієліни (N-ацилсфінгенілфосфохоліни):



Сфінгомієліни

Гліколіпіди — сполуки, в яких ліпідна частина ковалентно зв'язана з вуглеводною. Гліколіпіди є складними ефірами вищих жирних кислот та гліцеролу або сфінгозину і містять у своєму складі вуглеводний компонент (зокрема, глюкозу, галактозу та їх похідні або олігосахаридну групу).

Глікозилгліцероли (глікозилгліцериди) - гліколіпіди, що є ефірами гліцеролу.



Глікозилгліцерид
(*Моногалактозилдіацилгліцерин*)

Глікосфінголіпіди є ефірами N-ацилсфінгозинів (глікоцераміди) і мають важливе біологічне значення у зв'язку з розповсюдженням у складі біомембран, зокрема, в нервовій тканині.

Залежно від будови вуглеводної частини молекули, глікосфінголіпіди поділяють на декілька класів: цереброзиди, гангліозиди, сульфатиди та глобозиди:

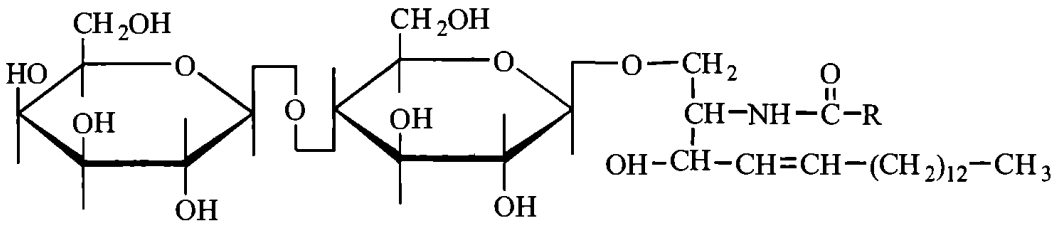
а) цереброзиди - моногексозиди церамідів; найбільш поширеними представниками є галактоцереброзиди та глюкоцереброзиди:

Галактоцереброзид

Природними цереброзидами мембран нейронів головного мозку є галактоцереброзиди.

б) сульфатиди - сульфатовані похідні цереброзидів, найбільш поширеним представником яких є галактоцереброзидсульфат (3'-сульфогалактоцереброзид).

в) глобозиди - олігосахаридні похідні (олігогексозиди) церамідів. Олігосахаридний залишок глобозидів найчастіше містить у своєму складі галактозу, глюкозу або N-ацетилгалактозамін. Прикладами глобозидів є дигексозид лактозилцерамід еритроцитарних мембран, тригексозид галактозиллактазилцерамід:



Глобозид (лактозилцерамід)

г) гангліозиди - глікосфінголіпіди, що містять в олігосахаридному ланцюгу, сполученому з церамідом, крім галактози, глюкози та N-гексозамінів, один або більше залишків нейрамінової або N-ацетилнейрамінової (сіалової) кислоти. Найбільший вміст гангліозидів у мембранах гангліонарних нейронів.

Розглянуті класи ліпідів (прості, складні) здатні до гідролізу, тобто омиляються. Разом з тим, до ліпідів відносять численні біомолекули, що мають фізико-хімічні властивості ліпідів (гідрофобність, нерозчинність у полярних розчинниках), але не гідролізуються до простіших сполук. Це - вільні жирні кислоти та біологічно активні похідні арахідонової кислоти (ейкозаноїди), вищі спирти, ізопреноїди та їх похідні, зокрема різноманітні стероїди, жиророзчинні вітаміни (A, D, E, K).

Ліпопротеїни - комплекси ліпідів різної хімічної будови з білками. В утворенні ліпопротеїнів беруть участь нековалентні зв'язки та фізико-хімічні взаємодії (водневі, іонні, ван-дер-ваальсові, гідрофобні).

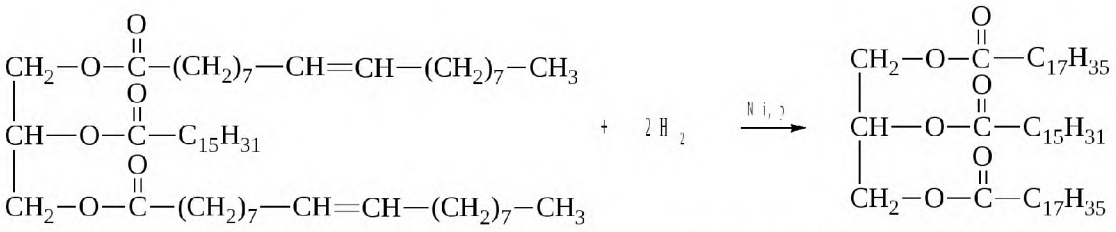
Найбільше значення в біохімії мають ліпопротеїни, у складі яких ліпіди знаходяться у плазмі крові людини, та ліпопротеїни, що є інтегральними компонентами біологічних мембран.

Ліпопротеїни плазми крові є молекулярними комплексами різних класів ліпідів (головним чином, тригліцеридів, холестерину, фосфогліцеридів) з білками, що утворюють міцелярні структури, у складі яких ліпіди суспендовані в плазмі, яка за своїми фізико- хімічними властивостями є водним розчином. Фізіологічною функцією цих ліпопротеїнів є міжорганний транспорт ліпідів - *транспортні ліпопротеїни.*

Хімічні властивості ліпідів.

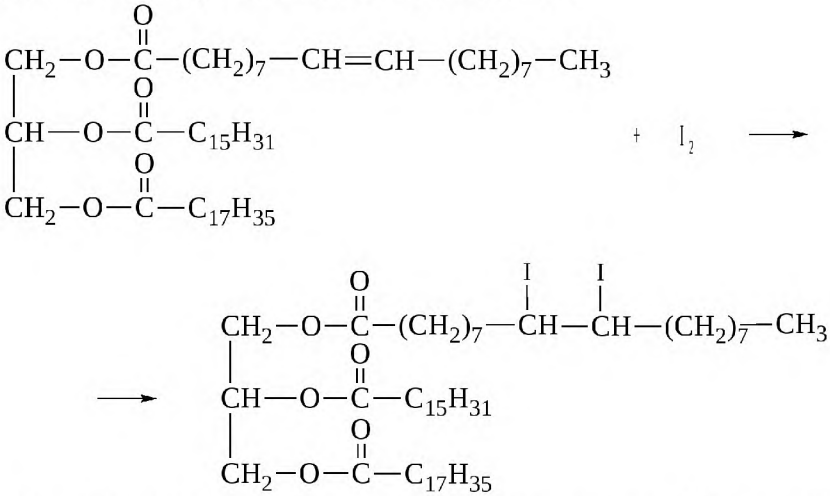
Реакції гідролізу. Гідролізу підлягає більшість ліпідів. Залежно від будови ліпіду продуктами гідролізу можуть бути карбонові кислоти або їх солі, фосфорна кислота або її солі, спирти, аміноспірти і вуглеводи. Омилені ліпіди гідролізуються з розривом одного або декількох складноефірних зв'язків і завжди утворюють карбонові кислоти або їх солі. В організмі людини гідроліз ліпідів є першою стадією їх метаболізму. Цей процес проходить під дією ферментів ліпаз. В кислому і лужному середовищах гідроліз перебігає швидше, а в середовищах, близьких до нейтральної, – повільніше.

Реакції гідрування. У промислових умовах гідрування (гідрогенізація) ненасичених ліпідів здійснюється газоподібним воднем у присутності нікелевих або мідно-нікелевих каталізаторів при температурі ~ 200^0C і тиску (2-15 атм):



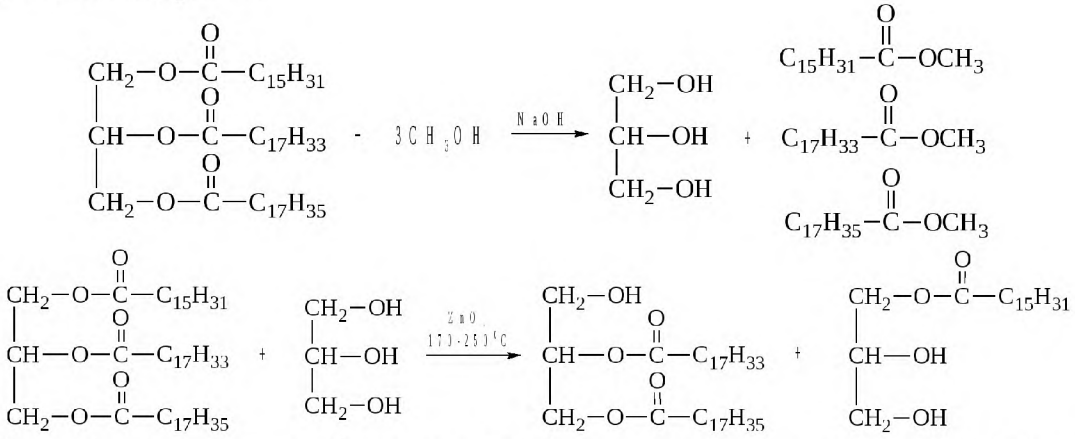
Гідрування використовується для отримання твердих жирів, де в якості сировини використовуються відходи або некондиційні фракції рослинних олій.

Реакції галогенування. Йодування ненасичених триацилгліцеринів застосовується для оцінки ступеня їх ненасиченості:



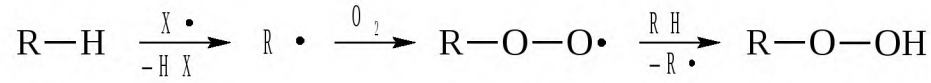
Масу йоду (у грамах), яка може приєднатися до 100 г аналізованого зразка, називають йодним числом.Чим більше йодне число, тим більше ненасичених кислот входить до складу жиру (олії). Для твердих жирів йодне число становить 35-85, для мастил –150-200. Йодне число вершкового масла – 36, свинячого сала – 59, жиру людини – 64, кукурудзяної олії – 121, соняшникової олії –145, лляної олії – 179.

Реакції переетерифікації. Реакція полягає в заміні одного спиртового і кислотного залишку в складному ефірі на інший. Переетерифікацію триацилгліцеринів можна здійснити, використовуючи різні спирти, а також інші тріацилгліцерини:



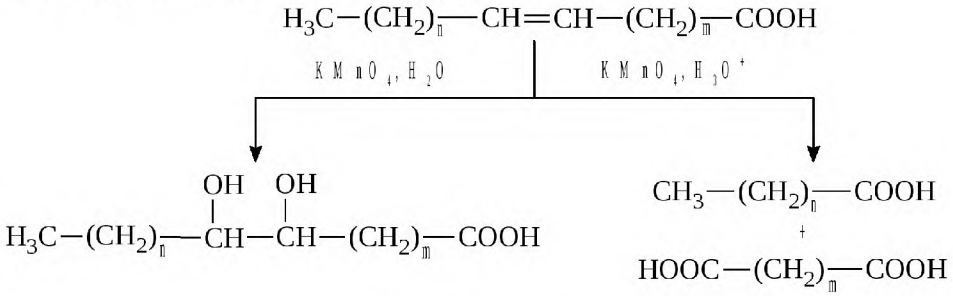
Реакції окислення. Окислювальні процеси за участю ліпідів досить різноманітні. Характер окислення залежить від природи окислювача і умов протікання процесу.

Пероксидне окислення:



Подальший розпад гидропероксидів, які є вкрай нестійкими сполуками, супроводжується утворенням альдегідів і карбонових кислот з укороченим ланцюгом.

Окислення перманганатом калію: У м'яких умовах (pH≈7) окислення ліпідів призводить до утворення гліколей, а в більш жорстких (pH <7) супроводжується розривом C=C-зв'язку і утворенням нових карбоксильних груп за участю термінальних атомів вуглецю:



Контрольні питання

1. На які класи поділяються складні ліпіди?.
2. Охарактеризуйте окремі представники складних ліпідів.
3. Які хімічні властивості характерні для ліпідв?
4. Що таке йодне число?
5. Як змінюється йодне число для ліпідв різного походження?

ЛЕКЦІЯ 8

НУКЛЕОТИДИ

Нуклеотиди. Нуклеотиди є структурними компонентами (мономерними ланками) молекул нуклеїнових кислот - ДНК та РНК. Крім того, деякі рибонуклеотиди та їх похідні, що не входять до складу нуклеїнових кислот (вільні нуклеотиди), виконують функції коферментів, кофакторів, алостеричних ефекторів різних ферментних систем. Особливе значення вільні нуклеотиди мають у ферментних процесах, що пов'язані з акумулюванням, зберіганням та міжмолекулярним перенесенням енергії в клітинах.

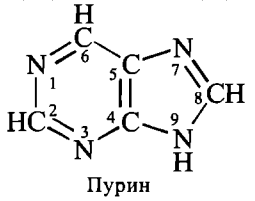
За умов повного гідролізу нуклеїнових кислот (кислотного або лужного) в гідролізатах виявляють пуринові та піримідинові азотисті основи, пентози (рибоза або 2-дезоксирибоза) та фосфорну кислоту.

В основі структури азотистих основ нуклеотидів лежать ароматичні гетероциклічні сполуки *пурин* та *піримідин.*

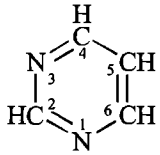
У гідролізатах нуклеїнових кислот постійно містяться дві пуринові основи - *аденін* (А) та *гуанін* (Г).

До складу нуклеотидів нуклеїнових кислот входять три головні

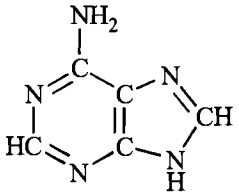
піримідинові основи: *урацил* (У), *тимін* (Т), *цитозин* (Ц).



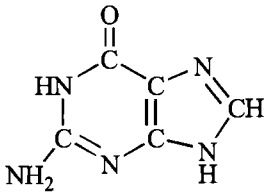
Пурин



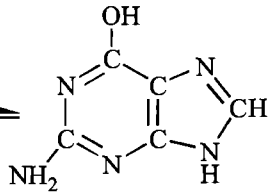
Піримідин



Аденін
(6-амінопурин)

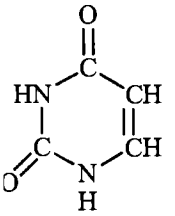


Лактамна форма

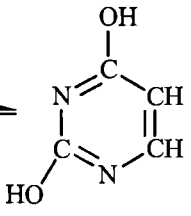


Лактимна форма

Гуанін (2-аміно-6-оксипурии)

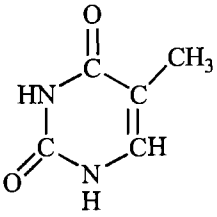


Лактамна форма

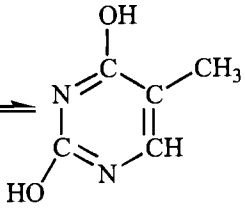


Лактимна форма

Урацил (2,4-діоксипіримідин)

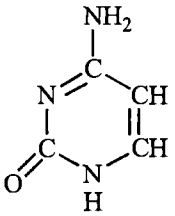


Лактамна форма

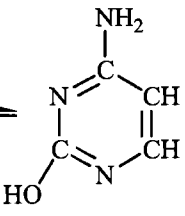


Лактимна форма

Тиміи (5-метил-2,4-діоксипіримідин)



Лактамна форма



Лактимна форма

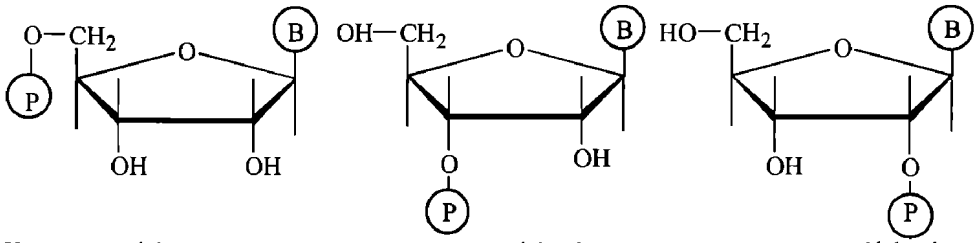
Цитозин (2-окси-4-аміопіримідин)

Оксипохідні пурину та піримідину можуть перебувати у двох таутомерних формах - лактамних і лактимних, залежно від pH середовища. У складі нуклеотидів нуклеїнових кислот оксипохідні пурину та піримідину знаходяться в лактамній формі, що сприяє утворенню міжмолекулярних водневих зв'язків між пуринами та піримідинами окремих ланцюгів у дволанцюговій структурі молекул ДНК та в одноланцюгових РНК.

Нуклеозиди - двокомпонентні біоорганічні молекули, що складаються з азотистої основи пуринового чи піримідинового ряду та пентози (D-рибози або 2-дезокси-D-рибози). Нуклеозиди є N-глікозидами рибози або дезоксирибози та відповідної азотистої основи.

Фосфорилування (ацилування фосфорною кислотою) певного гідроксилу в пентозі, що входить до складу нуклеозиду, призводить до утворення нуклеотиду (нуклеозидфосфату). Нуклеотиди (та нуклеозиди) ДНК містять 2-дезокси-D-рибозу, РНК - D-рибозу.

Залежно від місця фосфорилування пентозного гідроксилу, розрізняють три типи нуклеотидів (нуклеозидмонофосфатів, НМФ):



Нуклеозид-5′-фосфати Нуклеозид-3′-фосфати Нуклеозид-2′-фосфати

Крім зазначених вище основних азотистих основ, до складу деяких нуклеїнових кислот входять у відносно незначних кількостях додаткові (мінорні) азотисті основи та відповідні їм мінорні нуклеотиди. Найбільша кількість мінорних нуклеотидів зустрічається в молекулах транспортних РНК (тРНК) - до 5 % загального нуклеотидного складу. До складу мінорних нуклеотидів належать метиловані похідні звичайних азотистих основ, зокрема, 1-метиладенін, 2-метиладенін, 6-диметиладенін, 1-метилгуанін, 7-метилгуанін, 1-метилурацил, 5-оксиметилурацил, 3-метилцитозин тощо. ДНК людини містять значну кількість 5-метилцитозину, інформаційні РНК-N-метиловані похідні аденіну та гуаніну. Нуклеотидом незвичайної структури, що входить до складу тРНК, є псевдоуридин - нуклеотид, в якому рибоза приєднана до урацилу в 5-му положенні, тобто не азот-вуглецевим, а вуглець-вуглецевим зв'язком. Біологічні функції мінорних нуклеотидів до кінця не з'ясовані.

Таблиця 8.1

Номенклатура нуклеозидів і нуклеотидів РНК і ДНК

Назви азотистих основ		**Нуклео-зиди**	**Нуклеотиди**	**Скорочені позначення нуклеотидів**
повні	**скорочені укр.; англ.**			
РНК				
Пуринові:				
Аденін	(А; A)	Аденозин	Аденілова кислота (аденозин-5'-фосфат)	АМФ
Гуанін	(Г; G)	Гуанозин	Гуанілова кислота (гуанозин-5'-фосфат)	ГМФ
Піримідинові:				
Цитозин	(Ц; C)	Цитидин	Цитидилова кислота (цитидин-5'-фосфат)	ЦМФ
Урацил	(У; U)	Уридин	Уридилова кислота (уридин-5'-фосфат)	УМФ
ДНК				
Пуринові:				
Аденін	(А; A)	Дезокси-аденозин	Дезоксиаденілова кислота (дезоксиаденозин-5'-фосфат)	дАМФ
Гуанін	(Г; G)	Дезокси-гуанозин	Дезоксигуанілова кислота (дезоксигуанозин-5'-фосфат)	дГМФ
Піримідинові:				
Цитозин	(Ц; C)	Дезокси-цитидин	Дезоксицитидилова кислота (дезоксицитидин-5'-фосфат)	дЦМФ
Тимін	(Т; T)	Тимідин	Тимідилова кислота (тимідин-5'-фосфат)	ТМФ

Біологічні функції вільних нуклеотидів:

1. Участь в енергетичному обміні (реакціях окисного фосфорилування) -

функцію виконують нуклеотиди аденілової системи (АТФ, АДФ). Ці ж нуклеотиди та АМФ. можуть бути алостеричними модуляторами певних регуляторних ферментів.

2. Участь у метаболічних реакціях у ролі коферментів, зокрема:
– НАД, НАДФ, ФАД, ФМН - у реакціях біологічного окислення;
– УТФ, УДФ - у реакціях біосинтезу глікогену;
– ЦТФ, ЦДФ - у біосинтезі гліцерофосфоліпідів.

Контрольні питання

1. Назвіть структурні компоненти нуклеотидів.
2. Що таке нуклеозиди?
3. Чим відрізняються за хімічною будовою пуринові та піримідинові основи?
4. Які нуклеотиди називають мінорними?
5. Перелічьте біологічні функції вільних нуклеотидів в організмі людини.

ЛЕКЦІЯ 9

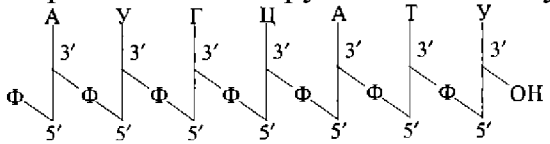
НУКЛЕЇНОВІ КИСЛОТИ

Структура нуклеїнових кислот. Нуклеїнові кислоти - дезоксирибонуклеїнові кислоти (ДНК) та рибонуклеїнові кислоти (РНК) - це полінуклеотиди, що складаються з мономерних ланок - нуклеотидів.

Нуклеотиди - трикомпонентні сполуки, побудовані з азотистої основи пуринового чи піримідинового ряду, залишків пентоз (рибози або дезоксирибози) та фосфату.

Нуклеїнові кислоти забезпечують збереження і передавання нащадкам спадкової інформації, беруть безпосередню участь у механізмах її реалізації шляхом програмування матричного синтезу всіх білків індивідуального організму.

Нуклеїнові кислоти. Окремі нуклеотиди сполучаються між собою в полінуклеотидний ланцюг за рахунок фосфодіефірних зв'язків, що утворюються між *У*-та 5'- гідроксильними групами пентоз сусідніх нуклеотидів.



Відмінності в первинній структурі ДНК та РНК.

1. До складу нуклеотидів ДНК входить цукор 2'-дезоксирибоза, замість рибози у складі нуклеотидів РНК.
2. Нуклеотиди ДНК та РНК відрізняються за складом піримідинових основ:
– у ДНК міститься піримідин *тимін* (5-метилурацил);
– у РНК міститься піримідин *урацил* (замість тиміну).

Певні класи ДНК та РНК мають специфічні для них *послідовності нуклеотидів,* що визначають їх біологічні функції.

У полінуклеотидному ланцюгу ДНК або РНК виділяють два кінці: 5'-кінець, тобто той, що містить вільний (не зв'язаний із черговим нуклеотидом) 5'-гідроксил пентози, та 3'-кінець - той, що містить вільний (не зв'язаний із нуклеотидом) 3'-гідроксил пентози. У природних нуклеїнових кислотах 5'-кінець (5'-гідроксил кінцевої рибози або дезоксирибози) звичайно фосфорильований, 3'-кінець містить вільну ОН-групу. Прийнято вважати, що така нуклеїнова кислота полярна і має напрямок ланцюга 5'→3'.

ДНК. Біологічні функції ДНК:

1. Збереження спадкової інформації.

Кількість ДНК у соматичних та статевих клітинах організму людини є сталою величиною, яку ці клітини отримують у процесах запліднення батьківських гамет та подальшого поділу зиготи.

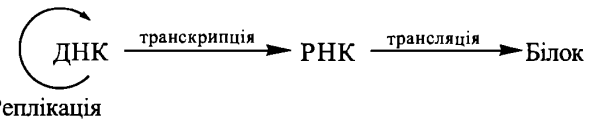
2. Передавання генетичної інформації нащадкам.

Подвоєння молекул ДНК у процесі *реплікації та.* передавання нащадкам копій материнських молекул є основою консерватизму спадковості, збереження протягом багатьох поколінь основних біологічних ознак виду.

3. Реалізація генетичної інформації.

Здійснюється за рахунок передачі закодованої в ДНК інформації молекулам інформаційних (матричних) РНК (*транскрипції)* та подальшої розшифровки цієї інформації при синтезі білків (*трансляції*).

Сукупність зазначених біологічних функцій ДНК та механізмів їх реалізації отримала назву центральної догми молекулярної біології (Ф. Крік):



Молекулярна маса ДНК суттєво варіює в різних біологічних об'єктах: вірусах, прокаріотичних та еукаріотичних клітинах. Точному визначенню молекулярної маси різних зразків ДНК перешкоджає гідродинамічна ламкість гігантських молекул нуклеїнових кислот, особливо у вищих організмів, які при спробі виділити їх в інтактному стані розриваються на коротші фрагменти. Крім того, ДНК багатьох об'єктів має складну молекулярну організацію і становить широкий спектр різних полінуклеотидних конформацій: лінійні одноланцюгові та дволанцюгові молекули, кільцеві одноланцюгові та дволанцюгові молекули, суперспіралізовані структури. Молекулярна маса ДНК (при розрахунку на один полінуклеотидний ланцюг) знаходиться в діапазоні від 10^6 до 10^{11}.

Найменшу молекулярну масу та довжину молекули мають ДНК вірусів бактерій (бактеріофагів). Наприклад, м.м. одного з найменших за розміром бактеріофагів становить $1{,}6 \cdot 10^6$ (або $3{,}4 \cdot 10^3$кДа).

У прокаріотичних клітинах мікроорганізмів кількість ДНК та її молекулярна організація значно вищі, ніж у вірусів. Зокрема, ДНК кишкової палички E. coli є ковалентно замкненим дволанцюговим кільцем з м.м. $1{,}9 \cdot 10^9$. Відповідно до зростання складності біологічної організації, при переході від вірусів до прокаріотів зростає і кількість нуклеотидних пар у дволанцюгових

молекулах ДНК.

У клітинах без'ядерних прокаріотів міститься одна молекула ДНК, розташована у спеціальній зоні цитоплазми - *нуклеоїді.* ДНК еукаріотів розміщена в ядрі й поза фазами клітинного поділу входить до складу аморфного нуклеопротеїнового утворення-*ядерного хроматину.* В період підготовки до мітозу відбувається подвоєння ДНК із подальшою конденсацією хроматину й утворенням цитологічних структур *(хромосом),* в яких сконцентрований ядерний генетичний матеріал клітини.

За рахунок подвоєння (реплікації) молекул ядерної ДНК у фазі S в кожній соматичній клітині утворюється *диплоїдний набір* генетичного матеріалу, що забезпечує його рівномірний поділ між двома дочірніми клітинами. Таким чином, в період *метафази* клітинного циклу (період, що передує розходженню в дочірні клітини генетичного матеріалу) кожна хромосома еукаріотичної клітини містить дві повністю ідентичних молекули ДНК. Кількість хромосом в еукаріотичних клітинах специфічна для біологічного виду. Фізична довжина розгорнутих молекул ДНК із клітин еукаріотів досягає декількох сантиметрів.

Незалежно від джерела походження, всі ДНК мають певні кількісні взаємовідносини між вмістом пуринових та піримідинових нуклеотидів. Згідно з *правилами Чаргаффа*, у складі ДНК:

1) сума пуринових основ дорівнює сумі піримідинових основ

2) вміст аденіну дорівнює вмісту тиміну, а вміст гуаніну дорівнює вмісту цитозину

Згідно з моделлю Уотсона - Кріка, молекула ДНК складається з двох ланцюгів, що утворюють правообертальну спіраль, в якій обидва полінуклеотидні ланцюги закручені навколо центральної осі; при цьому два полінуклеотидні ланцюги в молекулі ДНК антипаралельні.

Стабілізація подвійного ланцюга здійснюється за рахунок водневих зв'язків, що утворюються між протилежно розташованими (*комплементарними)* азотистими основами (аденіном і тиміном та гуаніном і цитозином, відповідно).

Структурні особливості подвійної спіралі: діаметр спіралі - 2,0 нм; відстань між азотистими основами впродовж осі спіралі - 0,34 нм; спіральна структура повторюється з інтервалом у 3,4 нм, тобто через 10 нуклеотидних пар.

У живій клітині подвійна спіраль, що становить вторинну структуру ДНК, не має вигляду розгорнутої молекули, а додатково згорнута в просторі, утворюючи певні третинні структури - *суперспіралі.*

У суперспіралізованому стані молекули ДНК у комплексі з певними клітинними білками входить до складу нуклеоїду прокаріотів та ядерного хроматину еукаріотів. Завдяки суперспіралізації довгі молекули ДНК формують компактні утворення, зокрема хромосоми ядра. Так, у результаті компактизації ядерна молекула ДНК клітин організму людини, довжина якої складає приблизно 8 см, вміщається у хромосомі довжиною 5 нм.

Фізико-хімічні властивості ДНК

Усі полінуклеотиди, ДНК зокрема, є сильними багатоосновними кислотами з низьким значенням рК. Кислотність ДНК обумовлена вторинними фосфатними групами, що при pH > 4 повністю іонізовані. Завдяки кислотним властивостям і наявності на своїй поверхні негативних зарядів молекули ДНК при фізіологічних значеннях pH активно реагують і утворюють комплекси з катіонами:

- поліамінами (спермідином, сперміном);
- основними білками гістонами та протамінами;
- катіонами металів (Ca^{2+}, Mg^{2+}, Fe^{2+}).

Висока молекулярна маса і велика довжина молекул ДНК зумовлюють високу в'язкість навіть дуже розбавлених їх розчинів. В'язкість молекул ДНК у розчині залежить від їх конформації і суттєво змінюється за умов денатурації, що дозволяє використовувати віскозиметричні методи для дослідження кінетики цих процесів.

Завдяки впорядкованій вторинній структурі молекули ДНК є оптично активними, тобто вони здатні обертати площину поляризованого світла.

Азотисті сполуки (та відповідні нуклеотиди), що входять до складу нуклеїнових кислот ДНК і РНК, мають властивість поглинати ультрафіолетове світло при 260 нм. Поглинання при 260 нм нативної молекули ДНК дещо нижче (в середньому на 40 %) від відповідного поглинання суми азотистих основ, що входять до складу полінуклеотиду - гіпохромний ефект. При порушенні високовпорядкованої двоспіральної конформації ДНК та структурних взаємовідносин між азотистими основами спостерігається гіперхромний ефект - зростання поглинання розчинів молекул ДНК при 260 нм.

Денатурація ДНК - це порушення нативної двоспіральної конформації молекул ДНК та їх упорядкованого просторового розташування з утворенням невпорядкованих одноланцюгових клубків. За умов денатурації ковалентні зв'язки в ДНК зберігаються, проте відбувається розкручування подвійної спіралі з втратою специфічних взаємодій між азотистими основами. Ренатурація - відновлення нативної вторинної конформації ДНК, що спостерігається за певних умов.

Нуклеїнові кислоти, піддані процесу денатурації, втрачають свої біологічні властивості.

Молекулярною основою денатурації молекул ДНК є руйнування водневих зв'язків між комплементарними азотистими основами А-Т та Г-Ц, відповідно.

Структурні зміни в молекулах ДНК, що призводять до їх денатурації, відбуваються внаслідок:

- різких змін pH у кислий або лужний бік;
- нагрівання розчинів ДНК до певних температур. Будова, властивості й біологічні функції РНК.

Термічна денатурація ДНК отримала назву процесу плавлення. Для кожного типу молекул ДНК характерна відповідна температура денатурації, що позначається як температура (точка) плавлення, яка залежить від

співвідношення в їх складі G-C- та A-T-пар. Співвідношення між G-C- та A-T-парами є важливим показником нуклеотидного складу молекул ДНК з різних біологічних об'єктів. Оскільки між гуаніном та цитозином у складі двоспіральної молекули ДНК утворюється три водневих зв'язки (на відміну від двох - між аденіном та тиміном), термічна дисоціація пари G-C потребує більших затрат енергії, тобто відбувається при вищих температурах, ніж руйнування пари A-T. Виходячи з цього, температура плавлення молекул ДНК прямо пропорційна вмісту в них G-C-пар, що дозволяє використати визначення Тт як показника нуклеотидного складу ДНК.

РНК. Рибонуклеїнові кислоти - полірибонуклеотиди, які в клітинах еукаріотів та прокаріотів за характером своєї структури та біологічних функцій поділяються на такі основні класи: інформаційні (матричні) РНК (мРНК), транспортні РНК (тРНК), рибосомні РНК (рРНК).

Молекули РНК вищих організмів є одноланцюговими полінуклеотидами. *Вторинна структура* одноланцюгових полірибонуклеотидів еукаріотів характеризується наявністю ділянок, що мають двоспіральну структуру. Ці ділянки молекул РНК (так звані "шпильки") утворюються за рахунок згинів полірибонуклеотидного ланцюга та взаємодії між собою комплементарних азотистих основ (А-У та Г-Ц) у межах одного ланцюга. Такі спіралізовані ділянки містять 20-30 нуклеотидних пар і чергуються з неспіралізованими фрагментами РНК.

Як і ДНК, полінуклеотиди РНК характеризуються максимумом поглинання при 260 нм, зумовленим азотистими основами, мають гіпохромний ефект, оптичну активність та підлягають денатурації при дії жорстких фізико-хімічних факторів.

Інформаційні (матричні) РНК складають 2-5 % загальної кількості клітинної РНК. мРНК виконують функцію переносників генетичної інформації від геному (ядерної ДНК) до білоксинтезуючої системи клітини. Вони є інформаційними матрицями, які визначають амінокислотні послідовності в молекулах поліпептидів, що синтезуються в рибосомах.

За своїм нуклеотидним складом мРНК відповідає нуклеотидній послідовності фрагмента одного з ланцюгів ядерної ДНК, транскриптом якого вона (мРНК) є.

мРНК властиві метаболічна нестабільність і найбільша гетерогенність молекулярної маси та розмірів молекул (від $25 \cdot 10^3$ до $1\text{-}2 \cdot 10^6$) з константами седиментації від 6 до 25 s. Широкий спектр окремих молекул мРНК відповідає кількості білків організму, носіями генетичної інформації для синтезу яких є РНК цього класу.

Особливістю первинної структури мРНК є також наявність на 5'- та 3'-кінцях молекули характерних для цього класу РНК нуклеотидних послідовностей. 5'-кінець усіх молекул мРНК еукаріотів та деяких вірусів в якості першого нуклео-тиду містить 7-метилгуанозин (перший нуклеотид).

Модифікований 7-метилгуанозином 5'-кінець мРНК має назву "кепа". До його складу можуть входити 1-3 залишки 7-метилгуанозину. 3'-кінець багатьох

мРНК еукаріотів містить відносно довгі поліаденілатні послідовності. До складу таких "хвостів" мРНК входять 20-250 нуклеотидів.

Вважають, що 5'-кепування та 3'-поліаденілування стабілізують молекули мРНК, запобігаючи дії нуклеаз, та мають велике значення для зв'язування мРНК із рибосомами в процесі трансляції.

Вторинна структура мРНК характеризується численними внутрішньоланцюговими двоспіральними ділянками ("шпильками"), до складу яких входить до 40-50% нуклеотидного складу полірибонуклеотиду.

На долю *транспортних РНК* (тРНК) припадає 10-20 % клітинної РНК. їх молекули - це полірибонуклеотидні ланцюги, довжина яких - 70-90 нуклеотидів. Молекулярна маса тРНК - 23-28 кД, константа седиментації -4s. Усього в клітинах знаходиться не менше 20 типів тРНК, що відповідає кількості природних амінокислот, з якими тРНК взаємодіють у ході трансляції.

Первинна структура тРНК відзначається великою кількістю мінорних нуклеотидів - наявністю метилованих, псевдоуридилових та дигідроуридилових залишків. Вторинна структура молекул тРНК у двомірному просторі має конформацію “листка конюшини”, що утворюється за рахунок специфічної взаємодії комплементарних азотистих основ упродовж полірибонуклеотидного ланцюга.

Вторинна структура молекул тРНК у двомірному просторі має конформацію "листка конюшини", що утворюється за рахунок специфічної взаємодії комплементарних азотистих основ упродовж полірибонуклеотидного ланцюга. Неспарені нуклеотидні послідовності формують специфічні для будови тРНК структурні елементи (рис. 9.1):

- акцепторну гілку (стебло) - 3'-кінець молекули, який містить термінальну послідовність нуклеотидів ЦЦА. Кінцевий аденозин через 3'-гідроксильну групу рибози акцептує амінокислоту в процесі трансляції;
- дигідроуридилову петлю (I), яка складається з 8-12 нуклеотидів, містить у собі 1-4 дигідроуридилові залишки;
- антикодонову петлю (II), яка містить групу з трьох нуклеотидів (антикодон), комплементарних триплету нуклеотидів (кодону) в складі мРНК. Ця петля відповідає за взаємодію тРНК із певними нуклеотидами мРНК при утворенні в рибосомі транслюючого комплексу;
- додаткову гілку (III) - структуру, за кількістю нуклеотидних залишків у якій тРНК поділяються на два класи: тРНК класу I - містить 3-5 нуклеотидів; тРНК класу II - з додатковою гілкою, яка має довжину від 13 до 21 нуклеотида;
- псевдоуридилову петлю (IV) - ділянку тРНК, яка в усіх молекулах містить обов'язкову нуклеотидну послідовність - 5'-ТС-3' Вважають, що ця петля необхідна для взаємодії тРНК із рибосомою.

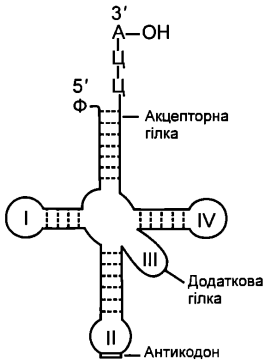


Рис. 9.1 Будова тРНК

Притаманні тРНК структури типу "листка конюшини" можуть утворювати більш компактні просторові конформації - третинні структури, які нагадують велику латинську літеру L.

Рибосомні РНК входять до складу рибосом прокаріотичних та еукаріотичних клітин. На рРНК припадає до 90 % загальної кількості клітинних РНК.

Рибосомні РНК разом зі специфічними білками становлять основу структури та функції рибосом, в яких відбувається процес *трансляції*-біосинтез поліпептидних ланцюгів на основі коду, що поставляється мРНК. Рибонуклеїнові кислоти цього типу є метаболічно стабільними молекулами; взаємодіючи з рибосомними білками, вони виконують функцію структурного каркаса для організації внутрішньоклітинної системи білкового синтезу.

Модифікованих (мінорних) основ у складі рРНК значно менше, ніж у тРНК. Проте рибосомні РНК є також високометилованими полірибонуклеотидами, в яких метильні групи зв'язані або з азотистими основами, або з 2'-гідроксильними групами рибози.

Вторинна структура рРНК представлена значною кількістю коротких дво спіральних ділянок, що мають вигляд “шпильок” або паличок.

В ядрах клітин ссавців також містяться рибонуклеїнові кислоти різної молекулярної маси, так звані гетерогенні ядерні РНК (гяРНК). їх молекулярна маса може перевищувати 10^7. ГяРНК є продуктами транскрипції генів, що не зазнали посттранскрипційної модифікації - процесингу.

Контрольні питання

1. Охарактеризуйте будову ДНК.
2. Які фізико-хімічні властивості ДНК?.
3. Перелічьте біологічні функції ДНК та способи їх реалізації.
4. Порівняйте будову РНК та ДНК.
5. Охарактеризуйте види РНК.

ЛЕКЦІЯ 10

БІОСИНТЕЗ БІЛКІВ

Генетичний код. Для кожного живого організму властива біохімічна індивідуальність, що визначається генетично запрограмованим специфічним набором притаманних тільки йому білкових молекул. Разом з тим, потік

інформації, який детермінує структуру індивідуальних білків організму, починається від генетичних нуклеїнових кислот і складається з реплікації ДНК, транскрипції РНК та трансляції, тобто перекладу інформації з "мови нуклеотидів" на "мову амінокислот".

Згідно з триплетною теорією, три послідовні нуклеотиди (триплети) в полінуклеотидних ланцюгах ДНК кодують включення в поліпептидний ланцюг одного специфічного амінокислотного залишку. Оскільки з 4 нуклеотидів (або азотистих основ) можна отримати 64 різних комбінацій по 3 нуклеотиди (азотисті основи), був зроблений висновок про існування щонайменше 64 "кодових слів" для 20 амінокислот.

Було встановлено, що з 64 комбінацій нуклеотидів 61 кодон є змістовним, тобто таким, що визначає включення до складу білка певної амінокислоти, а 3 кодони - беззмістовними, тобто такими, що не кодують жодної з амінокислот. Ці нонсенс-кодони (UAA, UAG, UGA) виконують роль сигналів термінації трансляції.

Властивості генетичного коду:

- код є універсальним для всіх біологічних систем - вірусів, бактерій, вищих організмів;
- код є однонаправленим, інформативним тільки в тому випадку, коли зчитується "зліва направо" (в напрямку 5'—»3');
- код є безперервним, тобто має лінійний безперервний порядок зчитування - між кодонами немає "розділових знаків";
- код є таким, що не перекривається - після зчитування інформації з одного триплета "рамка зчитування" переміщується вправо відразу на три нуклеотиди;
- код є "виродженим", тобто кожна амінокислота кодується не одним, а декількома кодонами.

Рибосомальна білоксинтезуюча система. Компонентами білоксинтезуючої системи, що реалізують процес трансляції в прокаріотичних та еукаріотичних клітинах, є:

- рибосоми - рибонуклеопротеїдні структури з константами седиментації 70s та 80s у прокаріотів та еукаріотів (відповідно), що взаємодіють у процесі трансляції з іншими компонентами системи білкового синтезу;
- мРНК (іРНК) або інший матричний полірибонуклеотид, що програмує послідовність включення амінокислот у поліпептидний ланцюг згідно з інформацією, яка міститься в генетичній ДНК;
- α-L-амінокислоти в кількості, що відповідає амінокислотному складу повноцінних функціональних білків (зазвичай близько 20 амінокислот);
- тРНК, що виконують функцію адапторів у процесі трансляції, взаємодіючи з кодонами мРНК та певними амінокислотами - близько 20 типів різних тРНК, відповідно до кількості амінокислот, які вони акцептують;

– аміноацил-тРНК-синтетази (АРС-ази) - ферменти, що активують амінокислоти та сполучають амінокислотні залишки з 3'-кінцями акцепторних гілок тРНК. АРС-ази є ферментами з високою специфічністю як відносно певної амінокислоти, так і тРНК, що їй відповідає;
– регуляторні білки - білкові фактори ініціації, елонгації та термінації, або рилізинг-фактори;
– коферменти - ГТФ, АТФ.

Етапи і механізми трансляції. Молекулярні механізми рибосомальної трансляції у прокаріотів та еукаріотів мають подібні риси і поділяютьсяна етапи ініціації, елонгації та термінації.

Процес трансляції в клітинах еукаріотів

Ініціація трансляції

Передумовою для початку функціонування рибосомальної білоксинтезуючої системи є утворення ініціюючого комплексу, до складу якого входять:

– субодиниці 40s та 60s, сполучені між собою у 80s-рибосому; цілісна рибосома має дві структурні ділянки для зв'язування в процесі трансляції молекул тРНК, навантажених аміноацильними залишками: аміноацильну (А-) ділянку (А-сайт) та пептидильну (Р-) ділянку (Р-сайт), перша з яких в ході трансляції сполучена з аміноацил-тРНК, а друга - з пептидил-тРНК;
– мРНК, що має обов'язково 7-метилгуанозиновий "кеп" на 5'-кінці; мРНК зв'язується з рибосомою таким чином, що навпроти її Р-ділянки розміщується ініціюючий кодон — AUG, який відповідає, за таблицею генетичного коду, амінокислоті метіоніну - ініціюючій амінокислоті (та взаємодіє з антикодоном мет-тРНК);
– мет-тРНК - особливий тип тРНК, що акцептує та поставляє в рибосому (спочатку - на Р-сайт) першу, ініціюючу, амінокислоту - метіонін (включення метіоніну в середину пептидного ланцюга вимагає присутності іншої тРНК - спеціальної тРНКмет); зв'язування мет-тРНК з 40S-субодиницею рибосом вимагає участі фактора ініціації eIF-2. Таким чином, метіонін стає N-кінцевою амінокислотою для більшості еукаріотичних білків, його відщеплення з N-кінця можливе на стадії посттрансляційної модифікації пептиду. У прокаріотів першою, ініціюючою, амінокислотою є модифікований метіонін - формілметіонін, що надходить у рибосому у вигляді формілметіоніл-тРНК;
– білкові фактори ініціації (elF-1, eIF-2, eIF-3 тощо - всього на даний час відомо до десяти факторів ініціації); зокрема, утворення цілісної 80s-рибосоми із субодиниць та її стабілізація вимагають присутності факторів ініціації eIF-3, eIF-4C та eIF-6;
– коферменти ГТФ та АТФ, що забезпечують енергією різні етапи ініціації.

Елонгація поліпептидного ланцюга

Суто елонгація полягає в утворенні пептидних зв'язків між амінокислотними залишками, що зв'язані через відповідні тРНК з А- та Р-ділянками транслюючої рибосоми.

Передумовою початку елонгації є зв'язування з А-сайтом рибосоми (який на даному етапі є вільним) 2-ї (в загальному випадку - (п + 1)-ї, рахуючи з N-кінцяпептиду, що синтезується) амінокислоти, сполученої з тРНК. Ця 2-а, або (п + 1)-ша амінокислота відповідає (за генетичним кодом) кодону мРНК, який послідовно йде за ініціюючим (тобто AUG) кодоном.

Пептидилтрансферазна реакція

Утворення пептидного зв'язку між 1-ю (ініціюючою - метіоніном) та 2-ю амінокислотою, що зв'язані через свої тРНК з П- та А-сайтами рибосоми, відповідно) каталізується ферментом пептидилтрансферазою. Пептидилтрансферазна активність пов'язана з 50s-субодиницею прокаріотів та 60s-субодиницею еукаріотів. Ця ж пептидилтрансферазна реакція реалізує і подальші етапи елонгації, коли з П- та А-сайтами рибосоми сполучені, відповідно, пептидил-тРНК (містить "п" амінокислотних залишків) та певна наступна ("п + 1")-ша амінокислота.

У ході пептидилтрансферазної реакції відбувається перенос пептидного фрагменту (що зв'язаний через відповідну тРНК з Р-сайтом) на амінокислоту (що зв'язана через тРНК з А-сайтом) таким чином, що в результаті реакції новий пептид, який утворився, стає зв'язаним з А-сайтом рибосоми; тРНК, що була первинно сполучена з Р-сайтом, вивільняється.

Реакція транслокації

Після утворення пептидного зв'язку відбувається переміщення подовженого пептиду, сполученого з тРНК (пептидил-тРНК), з А-сайта в Р-сайт процес транслокації. Водночас відбувається переміщення рибосоми впродовж ланцюга мРНК вправо. У результаті цього навпроти А-сайта рибосоми розмішується новий (п + 2)-й кодон мРНК, який відповідає наступній - (п + 2)-й амінокислоті, що у вигляді тРНК-комплексу може займати відповідне місце на рибосомі.

У транслокації бере участь білковий фактор елонгації eEF-2. Енергетичні потреби транслокації забезпечуються ГТФ-азною реакцією розщеплення ГТФ до ГДФ.

Термінація трансляції

Термінація трансляції відбувається, коли транслююча рибосома у своєму переміщенні впродовж ланцюга мРНК досягає одного з термінуючих кодонів - UAA, UAG або UGA. Поява навпроти А-сайту термінуючого кодону розпізнається білковими рилізинг-факторами, які спричиняють гідроліз зв'язку між пептидом та молекулою тРНК, що займає Р-сайт рибосоми. У результаті цього процесу відбувається вивільнення пептиду, що синтезувався, та дисоціація 80s-рибосоми на 40s- та 60s-субодиниці.

Посттрансляційна модифікація пептидних ланцюгів

Поліпептидний ланцюг, що є продуктом рибосомальної трансляції, набуває своїх біологічних властивостей після утворення притаманної йому унікальної просторової конформації білкової молекули, чому в багатьох випадках передує його посттрансляційна модифікація (процесинг).

Реакції посттрансляційної модифікації пептидів:

а) модифікація N-та С-кінців - видалення N-кінцевих формілметіоніну (у прокаріотів) та метіоніну (у еукаріотів); ацетилування N- та С-кінців;

б) модифікація гідроксильних, амінних та карбоксильних груп у бічних радикалах пептидів шляхом їх фосфорилування, карбоксилування, метилування, ацетилування тощо;

в) приєднання до пептидів простетичних груп - вуглеводів (глікозилування), гему, коферментів (флавінових нуклеотидів, біотину, порфіринів тощо);

г) хімічна модифікація ковалентної основи амінокислотних залишків; прикладом може бути перетворення у складі фактора ініціації еукаріотів eEF-2 залишку гістидину в залишок незвичайної амінокислоти дифталаміду.

Молекулярні механізми контролю трансляції. Становлячи кінцевий етап багатоступеневого процесу генної експресії, рибосомальний синтез поліпептидного ланцюга є об'єктом контролю з боку регуляторних систем клітини та впливу різних фізіологічно активних сполук.

Механізмом контролю процесів трансляції в клітинах еукаріотів є ковалентна модифікація білкового фактора ініціації трансляції eIF-2, який може бути в дефосфорилованій (активній) та фосфорилованій (неактивній) формах.

Шляхом зворотного фосфорилування - дефосфорилування фактора ініціації eIF-2 за участю цАМФ-залежного регуляторного каскаду відбувається контроль синтезу в рибосомах ретикулоцитів білкової частини гемоглобіну - глобіну, залежно від адекватного постачання простетичної групи - гему.

Вплив фізіологічно активних сполук на процеси трансляції

Процеси рибосомальної трансляції, що складають кінцевий етап багатоступеневого процесу експресії генетичної інформації, є мішенню для дії багатьох фізіологічно активних сполук, зокрема лікарських засобів і токсинів.

У клінічній практиці, а також в експериментальній біології і медицині, знайшли широке застосування антибіотики, що є інгібіторами біосинтезу білка у прокаріотичних та еукаріотичних організмів на різних етапах трансляції:

- інгібітори ініціації: стрептоміцин, ауринтрикарбоксилова кислота;
- інгібітори елонгації: аміцетин, хлорамфенікол, еритроміцин, циклогексимід, пуроміцин, тетрацикліни;
- інгібітори термінації: хлорамфенікол, еритроміцин, стрептоміцин.

Антибіотики, що є інгібіторами процесів трансляції у прокаріотів, застосовуються як антибактеріальні лікарські засоби в терапії інфекційних хвороб та інших захворювань, що спричинені мікробним фактором.

Антибіотики, які інгібують трансляцію в еукаріотичних клітинах вищих організмів, зокрема ссавців, застосовуються як протипухлинні засоби.

Гальмуючи біосинтез білка в клітинах злоякісних пухлин, ці антибіотики спричиняють регресію росту пухлини.

Шляхом впливу на процес ініціації трансляції в еукаріотичних клітинах реалізуються захисні ефекти інтерферонів - білків, що синтезуються в організмі людини і тварин (в лімфоїдній та інших тканинах) і мають властивості противірусних антибіотиків та природних протипухлинних факторів.

Потужним інгібітором трансляції в еукаріотів є дифтерійний токсин, що виробляється клітинами *Corinebacterium diphteriae*.

Контрольні питання

1. Що таке генетичний код та які властивості він має?
2. Охарактеризуйте основні етапи біосинтезу білків.
3. Назвіть основні компоненти рибосомальної білоксинтезуючої системи.
4. Які хімічні реакції відбуваються при посттрансляційній модифікації білків?
5. Який вплив здійснюють антибіотики на процес біосинтезу білків?

ЛЕКЦІЯ 11

ВІТАМІНИ

Класифікація вітамінів. Вітаміни об'єднані в окрему групу природних органічних сполук за ознакою абсолютної необхідності їх для гетеротрофних організмів у якості додаткових до білків, жирів, вуглеводів, мінеральних речовин складових частин їжі. У більшості випадків вітаміни не синтезуються гетеротрофними організмами. Добова потреба людини у вітамінах становить 0,1-0,2 г. В організмі вітаміни виконують безпосередньо або у складі більш складних сполук каталітичні і регуляторні функції.

Залежно від фізико-хімічних властивостей (розчинності у воді чи в ліпідах) вітаміни поділяють на дві великі групи: водорозчинні та жиророзчинні.

Водорозчинні вітаміни:

- B_1 (тіамін; антиневритний вітамін);
- B_2 (рибофлавін);
- PP (ніацин; антипелагричний вітамін);
- B_6 (піридоксин; антидерматитний вітамін);
- B_{12} (кобаламін; антианемічний вітамін);
- Фолієва кислота (птероїлглутамат; антианемічний вітамін);
- H (біотин; антисеборейний вітамін);
- Пантотенова кислота (вітамін B_3; антидерматитний вітамін);
- C (аскорбінова кислота);
- P (вітамін проникності).

Жиророзчинні вітаміни:

- A (ретинол; аксерофтол; вітамін росту);
- K (філохінон; антигеморагічний вітамін);

– E (а-токоферол; вітамін розмноження);
– F (комплекс поліненасичених жирних кислот);
– D (кальциферол; антирахітний вітамін).

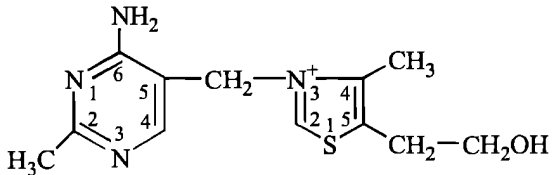
За фізіологічною дією вітаміни класифікують:

1) Ті, що збільшують загальну реактивність організму (регулюють функціональний стан ЦНС, обміну речовин) - B_1, B_2, PP, A, C;
2) Антигеморагічні (забезпечують нормальну проникливість і стійкість кровоносних судин, збільшують зверненість крові) – C, P, K;
3) Антианемічні (нормалізують і стимулюють кровотворення) – B_{12}, C;
4) Антиінфекційні (підвищують стійкість організму до інфекцій, стимулюють виробіток антитіл, посилюють захисні властивості епітелію) – C, A;
5) Ті, що регулюють зір (посилюють гостроту зору, розширюють поле кольорового зору) – A, B_2, C.

Антивітаміни – речовини, що конкурують з вітамінами у відповідних біохімічних процесах або виключають вітаміни з процесів обміну речовин шляхом їх руйнування або зв'язування. Наприклад, структурні аналоги вітаміну PP, авідін (яєчний білок, що утворює з вітаміном H нерозчинний біологічно неактивний комплекс, який перешкоджає використанню цього вітаміну в обміні речовин). Збудники інфекційних захворювань (бактерії, віруси), клітини пухлин мають підвищену чутливість до відсутності окремих вітамінів, тому антивітаміни використовуються як лікарські засоби.

Характеристика окремих вітамінів.

Вітамін B_1 (тіамін) за хімічною будовою є продуктом конденсації двох гетероциклічних сполук - похідного піримідину (2-метил-5-гідроксиметил-6-амінопіримідину) та тіазолу (4-метил-5-гідроксіетилтіазолу):

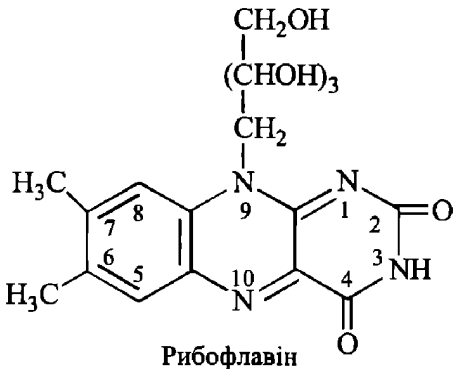


Тіамін

Біологічна активність вітаміну B_1 полягає в участі в енергетичному, зокрема вуглеводному, обміні. Характерним біохімічним проявом недостатності вітаміну B, є накопичення в крові та внутрішніх тканинах надлишкового (неокисленого) пірувату. Клінічно недостатність тіаміну проявляється розвитком уражень периферичної нервової системи (поліневропатії, поліневриту аж до розвитку атрофічного паралічу кінцівок), виражених порушень з боку міокарда, секреторної та моторної функцій шлунка.

Основними джерелами вітаміну B_1 у харчуванні людини є продукти рослинного походження, зокрема хліб (переважно житній, з борошна грубого помолу), крупи (гречана, вівсяна); багаті на тіамін (та інші вітаміни групи B) пивні дріжджі. Добова потреба в тіаміні складає 1,5-2,0 мг.

За хімічною будовою вітамін B_2 (рибофлавін) є похідним трициклічної сполуки ізоалоксазину та спирту рибітолу - 6,7-диметил-9-рибітилізоалоксазин:

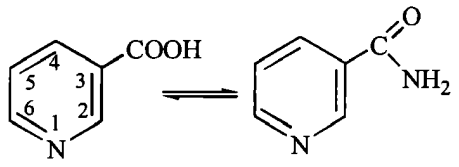


Рибофлавін

Біологічні функції вітаміну B_2 полягають у його участі в окислювально-відновлювальних реакціях вуглеводного, ліпідного та амінокислотного обміну.

Рибофлавін міститься в багатьох продуктах рослинного та тваринного походження, тому в умовах звичайного змішаного харчування людина отримує необхідну для нормальної життєдіяльності кількість вітаміну. Добова потреба в рибофлавіні складає 2,0-2,5 мг.

Властивості вітаміну РР (ніацину) мають нікотинова кислота (піридин-3 - карбонова кислота) та її амід, які є в організмі взаємно перетворюваними молекулярними формами:

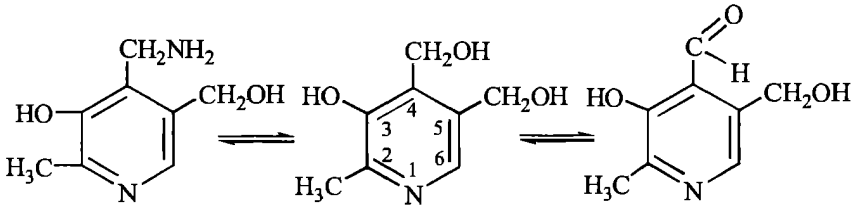


Нікотинова кислота Нікотинамід

Вітамін РР є необхідним фактором для перебігу багатьох біохімічних реакцій, пов'язаних із окисленням субстратів вуглеводного, ліпідного, амінокислотного та інших видів метаболізму.

Недостатність вітаміну РР проявляється характерними патологічними змінами шкіри, особливо вираженими в умовах її сонячного опромінення. Нікотинова кислота та нікотинамід містяться в достатній кількості у складі поширених продуктів харчування рослинного та тваринного походження (хлібі, круп'яних виробах, овочах, м'ясних продуктах). Добова потреба у вітаміні РР складає 15-25 мг; еквівалентними 1 мг ніацину є 60 мг триптофану.

Терміном піридоксин об'єднують три близькі за дією та взаємно перетворювані в біологічних тканинах сполуки: піридоксол (2-метил-3-окси-4,5-діоксиметилпіридин), піридоксаль та піридоксамін:



Піридоксамін Піридоксол Піридоксаль

Біологічна дія вітаміну B_6 пов'язана з участю в реакціях амінокислотного обміну. Прояви недостатності піридоксину найчастіше спостерігаються в дитячому віці за умов харчування синтетичними сумішами, не збалансованими

за вмістом цього вітаміну, і проявлятися пелагроподібним дерматитом, судомами, анемією. Стан недостатності вітаміну B_6 може бути також спричинений тривалим застосуванням протитуберкульозних засобів - похідних ізонікотинової кислоти (Ізоніазид тощо), які є структурними аналогами піридоксину і можуть виступати як його антивітаміни.

Потреби у вітаміні B_6 людина покриває за рахунок його споживання з такими поширеними продуктами харчування, як хліб, картопля, круп'яні вироби, м'ясо, печінка тощо; частково потреби в цьому вітаміні задовольняються за рахунок його синтезу мікрофлорою кишечника. Добова потреба в піридоксині складає 2-3 мг.

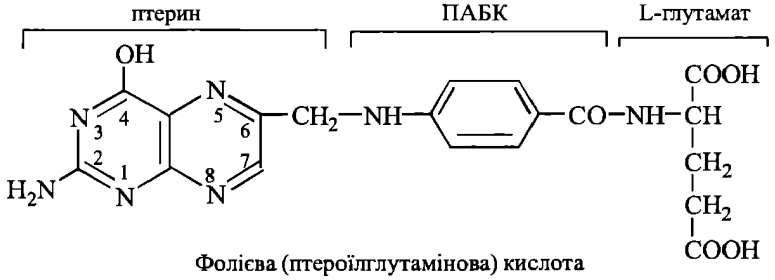
Вітамін B_{12} (кобаламін) за хімічною будовою належить до класу кориноїдів; його молекула складається з двох частин - кобальтвмісної порфіриноподібної (хромофорної) та нуклеотидної структур.

Атом Co^+, що міститься в центрі ядра хромофорної структури, в комерційних препаратах вітаміну B_{12} сполучений із ціанідною групою (ціанокобаламін). У разі заміщення ціаногрупи на інші радикали утворюються такі похідні вітаміну B_{12}, як гідроксикобаламін (B_{12B}), нітрокобаламін (B_{12C}); в організмі людини синтезуються коферментні форми вітаміну - метилкобаламін (міститься в цитоплазмі) і 5-дезоксиаденозилкобаламін (мітохондріальна форма коферменту).

Недостатність вітаміну B_{12} (хвороба Адисона-Бірмера; злоякісна, або перніціозна анемія) може розвиватися як результат тривалого ненадходження вітаміну B_{12} в організм з тваринними продуктами харчування (вегетаріанська дієта) або внаслідок обмеження всмоктування кобаламіну в шлунково-кишковому тракті.

Потреби організму людини у вітаміні B_{12} значною мірою забезпечуються за рахунок синтезу його мікрофлорою товстої кишки; крім того, кобаламін міститься в достатній кількості у тваринній їжі - найбільш багатим джерелом вітаміну B_{12} є печінка, яка містить до 100 мг вітаміну/100 г продукту. Добова потреба у вітаміні B_{12} складає 2-5 мкг.

Фолієва кислота (фолацин) є за хімічною природою похідним птеринів - птероїлглутаміновою кислотою, що містить у складі молекули сполучені з похідним птеридину (птерином) фрагменти п-амінобензойної кислоти (ПАБК) та L-глутамату:



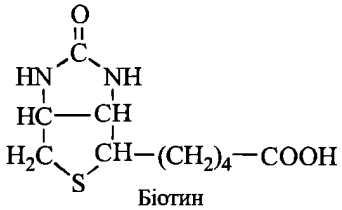
Фолієва (птероїлглутамінова) кислота

Класичним проявом авітамінозу самої ФК є захворювання "спру", яке характеризується пінистими проносами та макроцитарною анемією; захворювання розвивається внаслідок споживання раціону, збідненого білками,

що призводить до порушення як синтезу мікроорганізмами кишечника фолієвої кислоти, так і (в подальшому) засвоєння вітаміну B_{12}.

Найбагатшими природними джерелами фолієвої кислоти є листя зелених рослин, в яких вона синтезується. Потреби людини у вітаміні забезпечуються за рахунок синтезу його мікрофлорою кишечника, а також споживання рослинної та тваринної їжі; значна кількість ФК міститься в печінці та дріжджах. До розвитку недостатності вітаміну може призводити дисбактеріоз, спричинений тривалим прийомом сульфаніламідних препаратів, які, виступаючи структурними аналогами ПАБК (компонента молекули птероїлглутамінової кислоти), блокують утворення в бактеріальних клітинах ФК, необхідної для синтезу власних нуклеїнових кислот мікроорганізмів. Добова потреба у фолієвій кислоті становить 200-400 мкг.

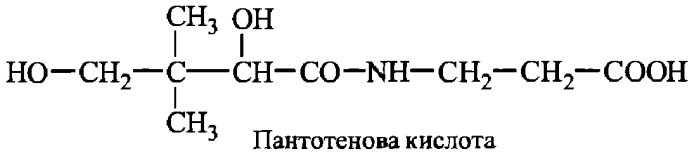
За будовою молекули вітамін Н (біотин) є продуктом конденсації сечовини та тіофенвалеріянової кислоти; його хімічна назва: 2-кето-3,4-імідазолідо-2-тетрагідро- тіофенвалеріянова кислота:



Біотин

Недостатність вітаміну Н у людини проявляється рідко у зв'язку з біосинтезом біотину кишковими мікроорганізмами та його наявністю у більшості продуктів харчування рослинного та тваринного походження. Прояви вітамінної недостатності можуть розвиватися за умов порушення функціонування нормальної мікрофлори кишечника (нераціональне використання сульфаніламідів та антибіотиків) і проявляються патологічними змінами шкіри за типом себореї. Добова потреба в біотині складає 150-300 мкг.

Молекула пантотенової кислоти - це сполучення β-аланіну з похідним масляної кислоти:

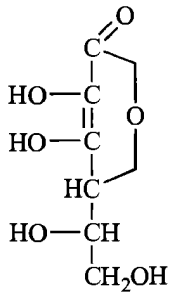


Пантотенова кислота

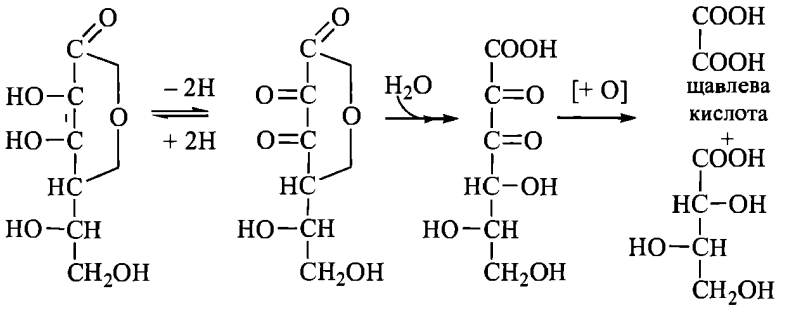
В організмі пантотенова кислота використовується для синтезу коензиму А (КоА-SH) - коферменту ацилування, що є одним із ключових коферментів у реакціях метаболізму вуглеводів, окислення та синтезу жирних кислот, обміну амінокислот, використання ацильних радикалів у біосинтезі стероїдів, процесах детоксикації тощо. Ізольований авітаміноз у людини виникає рідко і може проявлятися численними малоспецифічними порушеннями з боку різних органів та систем (шкіри, слизових оболонок, волосся, нервової системи, внутрішніх органів). Як лікувально-профілактичний засіб пантотенат входить до складу різних косметичних виробів, шампунів. Пантотенова кислота міститься в достатній кількості в більшості продуктів рослинного та тваринного походження (борошні злакових, крупах, яйцях, молоці, дріжджах). Синтез

пантотенової кислоти кишечною мікрофлорою недостатній для покриття добової потреби організму людини. Добова потреба складає 5-10 мг.

За хімічною будовою вітамін С є лактоном 2,3-дигідро-L-гулонової кислоти:



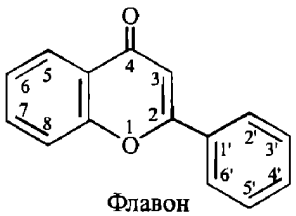
У водних розчинах L-аскорбінова кислота (L-АК) оборотно перетворюється на дегідроформу - L-дегідроаскорбінову кислоту (L-ДАК), яка повністю зберігає біологічні властивості вітаміну С; подальші окислювальні перетворення L-ДАК є необоротними і призводять до утворення похідних, що не мають вітамінних властивостей:



L-аскорбінова кислота | L-дегідроаскорбінова кислота | 2,3-дикето-L-гулонова кислота | L-треонова кислота

Вітамін С міститься в більшості продуктів харчування, особливо рослинного походження, і недостатність у вітаміні розвивається, як правило, за умов нераціональної дієти (відсутність свіжих рослинних продуктів) або неправильної кулінарної підготовки харчових блюд. Особливо шкідливими для вмісту L-АК є термічна обробка продуктів в умовах високої температури, наявності кисню та металів (підігрівання продуктів у металевому посуді). Добова потреба в L-аскорбіновій кислоті становить 50-70 мг.

Властивості вітаміну Р мають рослинні сполуки фенольної природи, більшість із яких належать до похідних флавону (2-фенілхромону) – флавоноїди:



Флавон

Основною біологічною ознакою вітаміну Р є здатність до зміцнення судинної стінки та зменшення її проникності. Недостатність вітаміну Р може розвиватися за умов відсутності в харчуванні рослинних продуктів і звичайно супроводжує недостатність L-аскорбінової кислоти. Механізм дії вітаміну Р

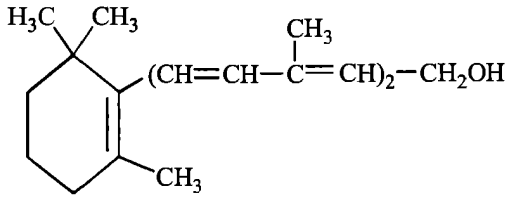
пов'язують з участю у відновленні аскорбінової кислоти і збереженні її тканинних резервів. Потреба у вітаміні Р для людини не встановлена; з лікувальною метою (зміцнення кровоносних судин) вводять 100-200 мг вітаміну Р на добу.

Жиророзчинні вітаміни є олієподібними речовинами, які добре взаємодіють із гідрофобними розчинниками; завдяки наявності в структурі молекул довгих вуглеводневих (переважно ізопреноїдних) радикалів, більшість із цих вітамінів є компонентами біомембран, у складі яких виконують специфічні біологічні функції, зокрема є потужними біоантиоксидантами (вітаміни Е, А, К).

Всмоктування жиророзчинних вітамінів у кишечнику залежить від наявності поверхнево-активних компонентів жовчі і може порушуватися при обтурації жовчних проток, що супроводжується симтомами вітамінної недостатності. З іншого боку, на відміну від водорозчинних вітамінів, надлишкове (щодо фізіологічних потреб) надходження жиророзчинних вітамінів (особливо А, D, К) небезпечне для організму людини, оскільки ці сполуки можуть накопичуватися в тканинних депо і спричиняти токсичну дію (стан гіпервітамінозу).

Біологічна активність вітаміну А полягає в регуляції таких функцій організму:

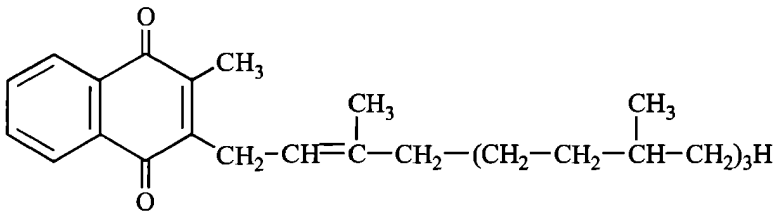
- процесів темпового {нічного) зору - недостатність вітаміну А супроводжується порушенням темнового зору і розвитком "курячої сліпоти" {гемералопії);
- процесів росту та диференціювання клітин;
- процесів утворення глікопротеїнів, що є компонентами біологічних слизів організму.



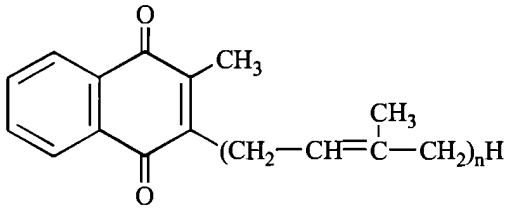
Вітамін A_1 (ретинол)

Вітамін А надходить в організм людини з продуктами тваринного походження (особливо у складі вершкового масла, сметани, молока, печінки, риб'ячого жиру, яєчного жовтка) та у вигляді рослинних каротинів. Добова потреба у вітаміні А складає 1,5-2,5 мг, або 3-5 мг каротинів.

Властивості вітаміну К має група вітамерів - похідних 2-метил-1,4-нафтохінону. Розрізняють вітамін K_1 (філохінон) та вітамін K_2 (фарнохінон):



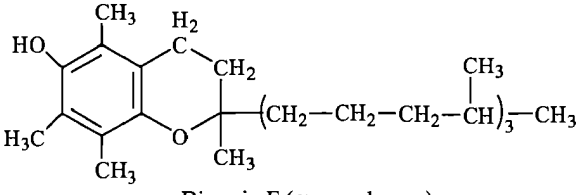
Вітамін K_1



Вітамін K_2 (n=6;7;9)

Біологічна дія вітаміну К в організмі людини і тварин полягає в його впливі на функціонування згортальної системи крові ("антигеморагічний" вітамін). Недостатність вітаміну супроводжується небезпечними для життя кровотечами. Гіповітаміноз вітаміну К у людини розвивається найчастіше при захворюваннях печінки та системи жовчовивідних шляхів, які перешкоджають утворенню та/або надходженню в дванадцятипалу кишку жовчі, необхідної для всмоктування жиророзчинних речовин. При підвищеній активності згортальної системи крові нагальною проблемою клінічної практики є застосування антикоагулянтів, що за механізмом дії є антивітамінами вітаміну К (група похідних кумарину). Джерелами вітаміну К для організму людини є рослинні продукти (капуста, помідори, салат); певна кількість вітаміну міститься в печінці (особливо свинячій), м'ясі. Значна кількість вітаміну синтезується також кишковою мікрофлорою, що може забезпечити потреби організму людини в цьому вітаміні навіть в умовах зменшеного його надходження з продуктами харчування. Добова потреба у вітаміні К складає 200-300 мкг.

Властивості вітаміну Е має група похідних токолу (2-метил-2(4',8', 12'-триметилтридецил)-6-хроманолу - α, β та у-токофероли. Найбільшу біологічну активність має α-токоферол (5,7,8-триметилтокол):



Вітамін Е (α-токоферол)

Вітамін Е має широкий спектр біологічної активності - його недостатність супроводжується численними змінами обмінних процесів та фізіологічних функцій організму. Найбільш характерними для Е-авітамінозу є глибокі порушення репродуктивної функції у чоловіків і у жінок, м'язові дистрофії, некрозо-дистрофічні процеси в печінці. Антирадикальні та мембраностабілізуючі властивості вітаміну Е є біохімічною основою його біологічної функції як найбільш потужного біоантиоксиданта. Протидіючи перекисному окисленню біомолекул (ліпідів, білків, нуклеїнових кислот), токоферол захищає клітинні структури від цитотоксичної дії вільних радикалів як ендогенного походження, так і ксенобіотиків, що потрапляють в організм із зовнішнього середовища. Найбільш багатими джерелами вітаміну Е в харчуванні людини є олії (соняшникова, кукурудзяна, соєва тощо), свіжі овочі та тваринні продукти (м'ясо, вершкове масло, яєчний жовток). Добова потреба вітаміну Е становить 10-20 мг.

Під вітамінами групи F розуміють групу поліненасичених жирних кислот рослинного походження - переважно лінолевоїта ліноленової, що є попередниками у синтезі біологічно активних ейкозаноїдів - похідних арахідонової кислоти (простагландинів, тромбоксанів, лейкотрієнів). Джерелами поліненасичених жирних кислот є здебільшого рослинні олії, в деякій мірі - тваринні жири, вершкове масло, яйця. Добова потреба організму людини у вітаміні F складає близько 2-6 г.

До вітамінів групи D належать вітамери D_3 (холекальциферол, вітамін D тваринного походження) та D_2 (ергокальциферол, вітамін D рослинного походження). Біологічною функцією вітамінів групи D є регуляція гомеостазу кальцію. Найбільша кількість вітаміну D (D_3) міститься в продуктах харчування тваринного походження: вершковому маслі, жовтку яєць, печінці; особливо багатим джерелом вітаміну D_3 є риб'ячий жир, що широко використовується для профілактики і лікування рахіту. Антирахітну активність має також ергокальциферол (вітамін D_2), що утворюється при ультрафіолетовому опроміненні рослинного стерину - ергостерину, який міститься в значній кількості у дріжджах та грибах. Добова потреба у вітаміні D для дорослої людини складає 2,5-10 мкг, для дітей раннього віку - в середньому 12-25 мкг.

Контрольні питання

1. Чим відрізняються вітаміни від інших біоорганічних сполук?
2. Наведіть класифікацію вітамінів.
3. Охарактеризуйте найбільш розповсюджені водорозчинні вітаміни.
4. Охарактеризуйте найбільш розповсюджені жиророзчинні вітаміни.
5. Яка сумарна добова потреба людини у вітамінах?

ЛЕКЦІЯ 12

ВОДА. МІНЕРАЛЬНІ ЕЛЕМЕНТИ

Функції води в живому організмі. Вода та розчинені в ній мінеральні солі складають внутрішнє середовище організму людини, створюючи фізико-хімічні та біохімічні умови для протікання біохімічних реакцій і здійснення відповід них фізіологічних функцій окремих клітин, тканин та органів. Визначальну роль у підтриманні водно-сольового гомеостазу відіграють нирки, які шляхом утворення сечі очищають кров від токсичних кінцевих продуктів метаболізму, забезпечують регуляцію необхідних для функціонування ферментних систем іонного та кислотно-основного балансу.

Біохімічні та фізіологічні функції води:

1) універсальний розчинник біомолекул, мінеральних речовин та електролітів в клітинах та позаклітинних просторах організму;

2) утворення водневих зв'язків з молекулами білків, нуклеїнових кислот, вуглеводів тощо, що має значення для формування їх просторової будови, міжмолекулярної взаємодії та зв'язування з різними лігандами;

3) безпосередня участь у біохімічних ферментативних реакціях (реакції гідролізу білків, ліпідів, полісахаридів; метаболічні реакції гідратації та дегідратації);

4) підтримання осмотичного тиску в поза- та внутрішньоклітинних рідинах організму людини (за рахунок утворення гідратних оболонок навколо заряджених молекул низькомолекулярних електролітів, білкових молекул тощо);

5) регуляція кислотно-основного стану в організмі, як компонента фізіологічно важливих буферних систем;

6) участь в процесах терморегуляції;

7) міжклітинний і міжорганний транспорт біомолекул в судинних системах організму - кров'яному, лімфатичному руслі.

Водний баланс людини. Загальний вміст води в організмі дорослої людини становить в середньому 60% у чоловіків та 55 % у жінок. Існують суттєві вікові відмінності у вмісті води, що становлять: у новонароджених дітей 75-80%, у осіб старечого віку - 40-45 %, тобто відбувається зменшення гідрофільності тканинних колоїдів з віком.

Близько 2/3 всієї кількості води організму є внутрішньоклітинною водою; 1/3 - позаклітинною водою (утворює позаклітинні рідини організму); близько 8% загальної води організму є внутрішньосудинною водою (входить до складу плазми крові).

Під водним балансом людини розуміють взаємовідношення між кількістю води, що надходить щодобово у складі рідких та твердих продуктів харчування, ендогенно утворюється в організмі ("оксидаційна вода") і кількістю води, що постійно виводиться різними шляхами екскреції.

Нормальний водний баланс у людини від 'ємний - кількість води, що виводиться з організму щодобово, приблизно на 35% перевищує кількість води, що надходить з твердими та рідкими продуктами харчування, що пояснюється утворенням додаткової кількості води за рахунок процесів біологічного окислення основних поживних речовин (жирів, вуглеводів та білків). Щоденно людина втрачає 2,6 л води. Приблизно 2,2-2,3 л від цієї втрати поповнюється за рахунок її надходження с їжею. Залишок 300-350 мл дефіциту людина отримує в результаті утворення води при обміні речовин. Вода, що утворюється в процесі життєдіяльності організму, має назву ендогенної. Вона синтезується в результаті окиснення органічних сполук. Зі 100 г жирів при повному окисненні їх отримується 107,1 г води, 55,5 г вуглеводів, 41,3 г білків. В організмі вода транспортується до тканин і відводиться від них у складі біологічних рідин.

В організмі тварин потужний вплив на баланс води здійснюють гормони: діуретичний гормон, що виділяється передньою долею гіпофізу, сприяє посиленому виділенню води з організму із сечею, а антидіуретичний гормон (вазопресин), утворюваний задньою долею гіпофізу, підвищує зворотне всмоктування води у ниркових канальцях. У шкірі і печінці тварин, людини розташоване депо води і за її надлишкового надходження тут накопичуються водні резерви. В рослинах запасна вода концентрується у міжклітинних

просторах, а рівень її випаровування регулюється спеціальним апаратом.

Біохімічні функції мінеральних елементів. Макро- та мікроелементи виконують важливі структурні, каталітичні та регуляторні функції. Серед мінеральних макроелементів найбільш поширеними є катіони Na^+, K^+, Ca^{2+} та Mg^{2+} і аніони хлору, бікарбонату, одно- та двозаміщених фосфатів.

Натрій (Na^+) - основний позаклітинний катіон, що відіграє головну роль у процесах підримання об'єму води та осмотичного тиску в позаклітинних просторах організму. Нормальна позаклітинна концентрація іонів натрію становить 135-145, внутрішньоклітинна – 4-10 ммоль/л.

Функції натрію: участь у генерації мембранного потенціалу та потенціалу дії на плазматичних мембранах збудливих клітин, забезпечення протидії змінам внутрішньоклітинного осмотичного тиску, участь у функціонуванні буферних систем тощо. Трансмембранний градієнт іонів натрію підтримується його активним викачуванням з клітин за рахунок функціонування натрієвого насоса, компонентом якого є мембранозв'язаний фермент - Na^+, K^+-АТФаза.

Добова потреба організму людини у хлориді натрію становить 13-15 г. Надлишкове надходження в організм людини натрію вважається фактором ризику для розвитку артеріальної гіпертензії. Збільшена затримка позаклітинного натрію призводить до виникнення тканинних набряків.

Калій (K^+) - основний внутрішньоклітинний катіон, що забезпечує осмотичний тиск і об'єм внутрішньоклітинних рідин. Внутрішньоклітинна концентрація K^+ у людини становить близько 160, позаклітинна - 4,0 ммоль/л. Добова потреба організму в калії - 2-3 г.

Функції калію: участь у підтриманні та генерації мембранного потенціалу в клітинах збудливих тканин, роль як кофактора у функціонуванні окремих біохімічних перетворень - біосинтезі білків, глікогену, газотранспортній функції гемоглобіну.

Збільшена втрата організмом калію (через кишечник, нирки) може призводити до виникнення гіпокаліємііта зсувів у функціонуванні збудливих мембран нейронів та м'язів, клінічними проявами яких є м'язова слабкість, порушення серцевої діяльності.

Кальцій (Ca^{2+}) - компонент більшості біоструктур. Реалізація різноманітної дії кальцію відбувається через універсальний кальцієвий білок кальмодулін.

Магній (Mg^{2+}) - переважно внутрішньоклітинний катіон; роль іонів магнію полягає в їх участі як активаторів та кофакторів багатьох ферментів: реплікації нуклеїнових кислот, біосинтезу білка. Катіон є також складовою частиною мінеральних солей, що входять до складу кісткового скелета та тканин зуба, необхідний для стабілізації структури рибосом.

Залізо (Fe^{2+}- Fe^{3+}) - є структурним елементом білків гемоглобіну, міоглобіну та входить до складу активних центрів ряду електронотранспортних ферментів - залізопорфіринів цитохромів дихального ланцюга мітохондрій, пероксидаз, каталази т. і.

Іони заліза надходять в організм людини у складі продуктів харчування, і

після їх всмоктування у травному каналі відбувається біотранспорт заліза в судинному руслі за участю транспортного білка трансферину. Більша частина іонів заліза депонується у складі феритину печінки та селезінки, звідки залізо звільняється для участі в біосинтезі відповідних Fe^{2+}-залежних ферментних білків. Порушення всмоктування заліза в кишечнику та підвищені його витрати організмом є причиною розвитку залізодефіцитної анемії.

Мідь (Cu^{+} - Cu^{2+}) - виконує каталітичні функції як кофактор у складі багатьох окислювально-відновлювальних ферментів: супероксиддисмутази, тирозинази.Міжорганний транспорт міді в плазмі крові здійснюється за участю білка церулоплазміну.Проявами дефіциту міді є: анемія, порушення синтезу колагену, деформація скелета. Наслідком надмірного накопичення міді в нейронах головного мозку та клітинах печінки внаслідок спадкових порушень його метаболізму є гепатоцеребральна дистрофія.

Контрольні питання

1. Перелічьте функції води в живих організмах.
2. Охарактеризуйте водний баланс організму людини.
3. Яким чиному регулюється водний баланс організму людини?
4. Які біохімічні функції виконують організму людини натрій і калій?
5. Які біохімічні функції виконують організму людини кальцій та залізо?

ЛЕКЦІЯ 13

ФЕРМЕНТИ

Будова ферментів. Ферменти – каталітично активні білки. Завдяки каталітичній функції різноманітні ферменти забезпечують швидке протікання в організмі чи поза ним великої кількості хімічних реакцій. В біологічних об’єктах знайдено декілька тисяч індивідуальних ферментів, виділено та вивчено декілька сотень. Будучи виділеними з організму, ферменти не втрачають здатності здійснювати каталітичні функції, на цьому засновано їх практичне використання в хімічній, харчовій, легкій, фармацевтичній промисловості.

За структурою ферменти можуть бути однокомпонентними (прості білки) і двокомпонентними (складні білки с додатковою групою небілкової природи). Додаткова група, міцно зв’язана, невідокремлена від білкової частини, називається простетичною групою; додаткова група, що легко відділяється від білкової частини і здатна до самостійного існування, має назву кофермент. Роль коферменту відіграє більшість вітамінів (Е, К, B_1, B_2, B_6, B_{12}, С, Н) або сполуки, побудовані з участю вітамінів. Характерною особливістю двокомпонентних ферментів є те, що ні білкова частина, ні додаткова група окремо не володіють каталітичною активністю).

В структурі ферменту виділяють каталітичний, субстратний та алостеричний центри.

Каталітичний центр – частина білкової молекули однокомпонентного ферменту (або простетична група двокомпонентного), що входить у безпосередній контакт с перетворюваною речовиною. Представляє собою поєднання (для однокомпонентних ферментів) декількох амінокислотних залишків, розташованих у певній частині білкової молекули. Субстратний центр – ділянка молекули ферменту, відповідальна за приєднання сполуки (субстрату), що підлягає ферментативному перетворенню. Субстратний центр може співпадати з каталітичним. Каталітичний центр може остаточно сформуватись в момент приєднання субстрату. Алостеричний центр – ділянка молекули ферменту, в результаті приєднання до якого певної речовини змінюється третинна структура білкової молекули, відповідно змінюється конфігурація активного центру, яка супроводжується збільшенням або зменшенням каталітичної активності (так звана алостерична регуляція каталітичної активності ферменту).

Ведучу роль у ферментативному каталізі відіграє утворення фермент-субстратних комплексів. На 1-й фазі між субстратом і ферментом виникає з'єднання, в якому реагенти зв'язуються один з одним іонним, ковалентним чи іншим зв'язком. На 2-й фазі субстрат під дією залученого до нього ферменту потерпає зміни, що роблять його більш доступним для відповідної хімічної реакції. На 3-й фазі відбувається власне хімічна реакція, на 4-й фазі утворюються продукти реакції, які вивільняються з фермент-продуктного комплексу.

$$E+C \leftrightarrow EC \leftrightarrow EC' \leftrightarrow EP \leftrightarrow E+P$$

Класифікація ферментів. В основу класифікації ферментів покладено тип реакції каталітичної дії. При цьому розрізняють шість класів ферментів.

1. Оксидоредуктази – прискорюють реакції окислення/відновлення.
2. Трансферази – прискорюють реакції перенесення функціональних груп і молекулярних залишків.
3. Гідролази – прискорюють реакції гідролітичного розкладу.
4. Ліази – прискорюють реакції не гідролітичного відщеплення від субстратів певних груп атомів с утворенням подвійного зв'язку (або приєднання груп атомів за подвійним зв'язком).
5. Ізомерази – прискорюють просторові або структурні перебудови в межах однієї молекули.
6. Лігази – прискорюють реакції синтезу, спряжені з розкладом багатих енергією зв'язків.

В клітині ферменти розташовані не хаотично, а підпорядковано до певних субклітинних часточок або відсіків (компартментів), в яких локалізовані ті чи інші індивідуальні ферменти, мультиферментні комплекси. Гідролази і ліази зосереджуються у лизосомах. Ферменти, що беруть участь у біосинтезі білків, - у рибосомах, відповідальні за біосинтез нуклеїнових кислот – у клітинному ядрі.

За одиницю активності ферменту приймають ту його кількість, яка у стандартних умовах каталізує перетворення 1 мкмоль субстрату за одну хвилину (1 мкмоль/хв.).

Специфічність ферментів. Одна з найбільш видатних якостей ферментів – специфічність – здатність ферментів розрізняти хімічні сполуки, що відрізняються одна від одної незначними деталями будови (різниця може складати один-єдиний атом або функціональна група при атомі вуглецю), тому говорять, що фермент підходить як ключ до замку. Специфічність ферментів пояснюється, в першу чергу, співпадінням просторових конфігурацій субстратіві субстрат них центрів ферментів. Тільки тоді, коли це спів падіння досить повне, може утворитись фермент-субстратний комплекс і починається процес ферментативного каталізу. Розрізняють декілька видів специфічності.

Абсолютна специфічність – фермент прискорює одну-єдину реакцію.

Групова специфічність – фермент здійснює каталіз реакцій певного типу незалежно від того, які конкретно речовини в них взаємодіють чи розкладаються. Основною ознакою для ферментів цього типу є характер зв'язку, що руйнується або створюється.

Приблизно 40% відомих на сьогодні ферментів проявляють свої каталітичні функції у присутності додаткових сполук небілкової природи – коферментів. Лише гідролази не потребують коферментів. До коферментів відносяться досить різноманітні за структурою органічні сполуки.

Принцип ферментативного каталізу. Ферменти збільшують швидкості біохімічних реакцій, які вони каталізують, у 10^8-10^{20} разів; при відсутності ферменту будь-яка метаболічна реакція практично не відбувається. Відомо, що константа швидкості хімічної реакції залежить від її енергії активації та температури, що виражається рівнянням Арреніуса в експоненційній формі:

$$k = Ae^{-\Delta E/RT}.$$

Під енергією активації (ΔE в рівнянні Арреніуса) в хімічній термодинаміці розуміють додаткову енергію, необхідну для переходу молекул (субстратів S) у перехідний (активований) стан (S*), який передує їх перетворенню в продукти реакції. Згідно з цим, експоненційний член рівняння $e^{-\Delta E/RT}$ (фактор Больцмана) - частка молекул у системі, які мають енергію, достатню для хімічного перетворення.

Оскільки всі метаболічні процеси в живих організмах перебігають в ізотермічних умовах, каталітична дія ферментів реалізується за рахунок

зниження енергії активації (ΔE) біохімічної реакції, що збільшує фактор

Больцмана і, відповідно, константу швидкості реакції на декілька порядків (рис. 13.1).

Зниження енергії активації біохімічної реакції і, як результат, високої каталітичної ефективності ферментів досягають за рахунок взаємодії субстратів із певними ділянками ферментної молекули (активними, або каталітичними центрами), що супроводжується зближенням та орієнтацією відповідних хімічних груп субстратів і створює стеричні умови, необхідні для реалізації специфічних актів каталізу.

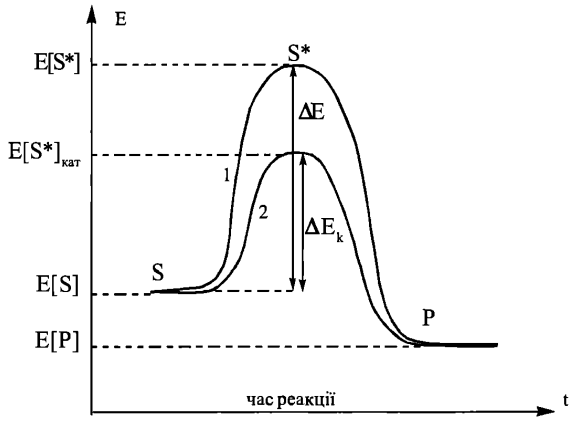


Рис. 13.1 Енергетична діаграма хімічної реакції

Активний центр - ділянка молекули ферментного білка, що взаємодіє із субстратом під час ферментативної реакції і необхідна для перетворення субстрату в каталітичному процесі. Він формується з певних ділянок поліпептидного ланцюга, що просторово зближені за рахунок унікальної тривимірної конформації ферментного білка.

До складу активних центрів різних ферментів входять радикали певних амінокислотних залишків, головним чином ОН-групи серину, треоніну та тирозину, імідазольне кільце гістидину, SH-група цистеїну, СООН-групи дикарбонових амінокислот, NH^{3+}-group аргініну та лізину. В утворенні активних центрів беруть участь також кофактори даного ферменту: простетичні групи, іони металів.

Активний центр локалізується, як правило, в заглибленні - просторовій ніші, що утворюється в макромолекулі білка-ферменту. Структура активного центру є комплементарною до просторової будови субстрату, що стало основою концепції Е. Фішера про відповідність ферменту і субстрату як «ключа і замка».

У структурі активного центру розрізняють:

- ділянку, що зв'язує субстрат, або контактну («якірну») ділянку; вона містить радикали полярних (зв'язують молекули субстрату за рахунок водневих зв'язків або дипольних взаємодій) або неполярних амінокислотних

залишків (створюють в активному центрі гідрофобні зони, що взаємодіють із відповідними радикалами в субстраті);

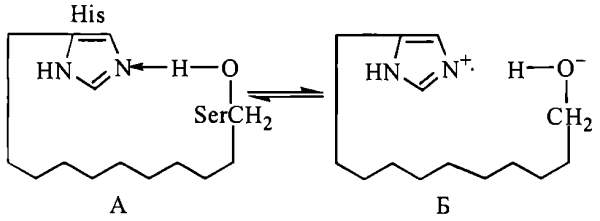
- каталітично активну ділянку, до складу якої входять хімічні групи, що беруть безпосередню участь у перетворенні субстрату (групи -OH, -SH, =N, $-NH^{3+}$, -COO-).

У механізмі ферментативного перетворення субстрату беруть участь такі молекулярні ефекти.

1. Ефекти зближення та орієнтації. Адсорбція та фізико-хімічна взаємодія субстратів з активними центрами ферментів супроводжуються локальним зростанням концентрації реагуючих молекул, їх зближенням та найбільш ефективною орієнтацією одна до одної та до каталітично активних груп активного центру.

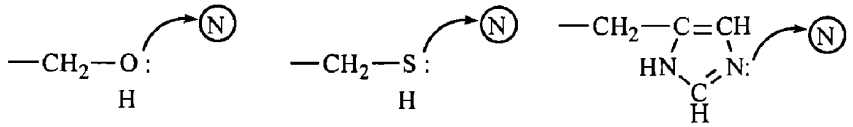
2. Ефекти кислотно-основного каталізу. Певні функціональні групи радикалів амінокислот, що входять до структури активних центрів, мають властивості кислот або основ Бренстеда, тобто донорів чи акцепторів протонів (амінні, карбоксильні, сульфгідрильні, імідазольні групи).

Прикладом кислотно-основного каталізатора є імідазольна група гістидину, яка у взаємодії з гідроксильною групою серину створює кислотно-основну пару Бренстеда. Функціональні групи =N та -OH, що відіграють каталітичну роль, розміщені, як правило, в різних ділянках пептидного ланцюга та зближуються за рахунок унікальної третинної структури ферментного білка.



Імідазол-кислота (А) та імідазол-луг (Б) у структурі активного центру білка-ферменту

3. Ефекти нуклеофільного та електрофільного каталізу. Функціональні групи амінокислотних залишків, що входять до складу активних центрів, можуть виступати в каталітичному акті перетворення субстратів як донори електронів (нуклеофіли) або акцептори електронів (електрофіли). Нуклеофільні групи у складі активних центрів ферментів:



Гідроксильна група серину | Сульфгідрильна група цистеїну | Імідазольна група гістидину

Електрофільні групи в складі активних центрів ферментів: $-NH^{3+}$-групи аргініну та лізину; - іони металів-кофакторів (Mg^{2+}, Fe^{3+}, Mn^{2+}, Cu^{2+}).

Контрольні питання

1. Наведіть класифікацію фермнетів.
2. Надайте визначення поняттям «каталітичний центр», «субстратний центр».

3. В чому полягає механізм дії ферментів?
4. Чому дорівнює одиниця активності ферменту?
5. Яку будову мають ферменти?

ЛЕКЦІЯ 14

КІНЕТИКА ФЕРМЕНТАТИВНИХ РЕАКЦІЙ

Загальні положення. Ферментативна кінетика вивчає, зокрема, залежність швидкостей ферментативних реакцій від концентрацій ферменту, субстрату, pH та температури середовища, дії активаторів та інгібіторів.

Загальне рівняння односубстратної ферментативної реакції:

$$S \xrightarrow{E} P$$

З урахуванням взаємодії ферменту із субстратом у ході каталітичного акту (теорія Міхаеліса - Ментен) рівняння ферментативного перетворення субстрату набуває вигляду:

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_{+1}}{\rightleftharpoons}} ES \xrightarrow{k_{+2}} E + P$$

Для характеристики утворення фермент-субстратного комплексу використовується субстратна константа, або константа дисоціації комплексу:

$$K_s = k_{-1}/k_{+1}$$

Відношення між сумою констант швидкостей реакцій зворотного розпаду (k_{-1}) і розщеплення комплексу з утворенням продуктів реакції (k_{+2}) та константою швидкості утворення фермент-субстратного комплексу (k_{+1}) називається константою Міхаеліса (K_m):

$$K_m = k_{-1} + k_{+2}/ k_{+1}$$

K_m має розмірність концентрації (моль/л) і кількісно визначає спорідненість ферменту із субстратом - чим активніший фермент, тим нижче значення його K_m. Значення K_m для різних ферментів коливаються в широкому діапазоні - від 10^{-6} моль/л для високоактивних ферментів (наприклад, пероксидази) до 10^{-2} для малоактивних протеаз.

Концентрації ферменту та субстрату є величинами, що найчастіше змінюються в умовах ферментативної реакції. Швидкість ферментативної реакції буде прямо пропорційно залежати від концентрації ферменту:

$$V = k\ [E]$$

тобто збільшення в клітині рівня певного ферментного білка повинно супроводжуватися зростанням швидкості реакції, що каталізується цим ферментом. Складнішою є залежність швидкості ферментативної реакції від концентрації субстрату. Графічно ця залежність зображується гіперболою (рис. 14.1). Як видно з ходу гіперболи, ця залежність має складний характер: при низьких концентраціях субстрату швидкість реакції прямо пропорційна його

концентрації (реакція першого порядку), а при високих концентраціях досягається ефект насичення, тобто незалежність V від [S].

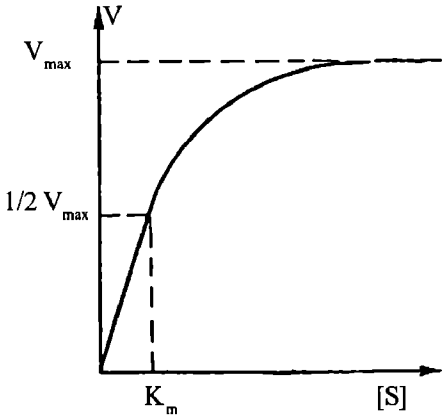


Рис. 14.1 Залежність швидкості реакції від концентрації субстрату

Рівняння залежності V від [S], або рівняння Міхаеліса - Ментен:

$$V = \frac{V_{max}\ [S]}{K_m + [S]}$$

У випадку, коли $V=1/2V_{max}$, маємо:

$$\frac{V_{max}}{2} = \frac{V_{max}\ [S]}{K_m + [S]}, \text{ звідки:}$$

$$\frac{1}{2} = \frac{[S]}{K_m + [S]},$$

$$K_m = [S].$$

Константа K_m дорівнює концентрації субстрату, при якій швидкість реакції становить половину від максимальної.

Обробка рівняння Міхаеліса - Ментен за методом подвійних зворотних величин дає змогу представити залежність V від [S] прямою лінією - рівняння Лайнуівера - Берка:

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{max}} \quad \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}}$$

Перевагою цього рівняння є прямо пропорційна залежність між 1/V та 1/[S] (рис. 14.2), яка дозволяє легко отримати значення кінетичних констант. Із рівняння Лайнуівера - Берка та графіка очевидно, що кутовий коефіцієнт прямої (тангенс кута нахилу) дорівнює K_m/V_{max}. Значення цих констант легко знаходять на графіку.

Кожен фермент має свій pH-оптимум, тобто значення pH середовища, при якому його каталітична активність максимальна. «Дзвоноподібна» залежність активностей ферментів від змін pH визначається їх білковою природою, зсувами в дисоціації іоногенних груп та (при екстремальних значеннях pH) розвитком конформаційних змін молекул.

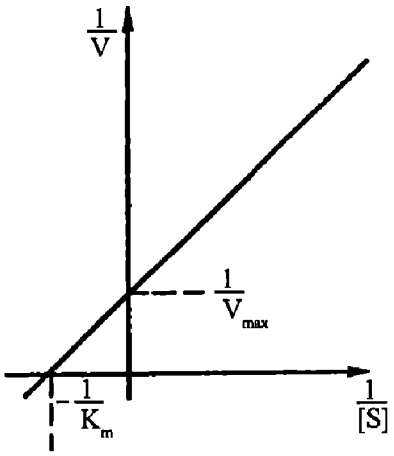


Рис. 14.2 Залежність 1/V від 1/[S]

Більшість внутрішньоклітинних та тканинних ферментів організму людини найактивніші в нейтральному, слаболужному або слабокислому середовищі (у межах pH між 5,0 та 9,0). Ферментами з оптимумами при екстремальних значеннях pH є пепсин ($pH_{опт}$ = 1-2) і аргіназа ($pH_{опт}$ = 10-11).

Ферменти, відповідно до своєї білкової природи, є термочутливими та термолабільними утвореннями:

- зростання температури до оптимальних значень (для більшості ферментів - у межах 37-40°С) супроводжується збільшенням швидкості ферментативної реакції відповідно за рівнянням Арреніуса (за рахунок частіших ефективних зіткнень між молекулами);
- при збільшенні температури вище оптимального значення швидкість ферментативної реакції різко зменшується за рахунок конформаційних (денатураційних) змін у структурі ферментного білка.

Інгібування ферментативних реакцій. Інгібітори - хімічні сполуки, що зменшують каталітичну активність ферментів. На відміну від речовин, які інактивують ферменти за рахунок їх денатурації (концентровані кислоти та луги, солі важких металів у високих концентраціях), дія інгібіторів є специфічною стосовно певних ферментів або груп ферментів, вони мають низьку концентрацію. Залежно від характеру змін, що відбуваються в молекулі ферменту, розрізняють:

- оборотне інгібування, при взаємодії ферменту з інгібітором I:

$$E + I \rightleftharpoons EI$$

- необоротне інгібування:

$$E + I \longrightarrow EI.$$

Оборотне інгібування ферментів, поділяється на конкурентне та неконкурентне.

Конкурентне інгібування спричиняють ліганди, що за своєю хімічною структурою близькі до субстрату і взаємодіють із тим самим активним центром на молекулі ферменту, що і субстрат, утворюючи комплекс EI:

$$E + I \rightleftharpoons EI$$

Прикладом конкурентного інгібітора є малонова кислота

HOOC-CH_2-COOH, яка протидіє зв'язуванню активним центром ферменту сукцинатдегідрогенази справжнього субстрату - бурштинової кислоти (сукцинату) HOOC-CH_2-CH_2-COOH.

Конкурентне інгібування викликають різні антиметаболіти, тобто сполуки, близькі за будовою до справжніх клітинних метаболітів: антивітаміни, речовини, близькі до амінокислот, пуринових та піримідинових основ і нуклеотидів. У зв'язку з високою біологічною активністю деякі антиметаболіти застосовують як антибактеріальні засоби (сульфаніламіди, антибіотики), протипухлинні препарати.

Конкурентне інгібування ферменту можна перебороти за рахунок підвищення концентрації субстрату в інкубаційному середовищі.

Кінетичний аналіз за Лайнуівером - Берком свідчить, що конкурентні інгібітори збільшують константу Міхаеліса K_m ферменту і не впливають на V_{max} реакції (рис.14.3).

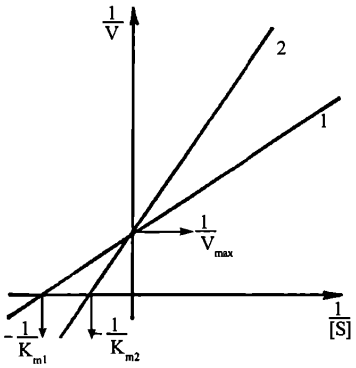


Рис. 14.3 Конкурентне інгібування ферменту:
1-без інгібітора; 2-в присутності інгібітора

Неконкурентні інгібітори не мають структурної подібності до субстрату. Вони реагують з іншими, відмінними від активних центрів, ділянками на молекулі ферменту і можуть зв'язуватися не тільки з вільним ферментом, а й із фермент-субстратним комплексом:

$$ES + I \rightleftharpoons IES$$

Приєднання неконкурентного інгібітора до ферменту зменшує його активність (максимальну швидкість реакції (V_{max}), але не впливає на спорідненість ферменту із субстратом (K_m) (рис. 14.4).

Неконкурентними інгібіторами є іони важких металів (Cu^{2+}, Hg^{2+}, Ag^{+}) та їх похідні, що оборотно зв'язуються із SH-групами цистеїну в молекулах ферментів:

$$E\text{–}SH + Ag^{+} \rightleftharpoons E\text{–}S\text{–}Ag + H^{+}$$

Необоротне інгібування ферментів - процес, що відбувається внаслідок руйнування або необоротної хімічної модифікації однієї чи декількох функціональних груп ферменту. Необоротні інгібітори мають властивості клітинних отрут. Прикладом такої модифікації молекули ферменту є дія алкілуючих агентів (зокрема, йодацетаміду), що необоротно реагують із каталітично активними SH-групами:

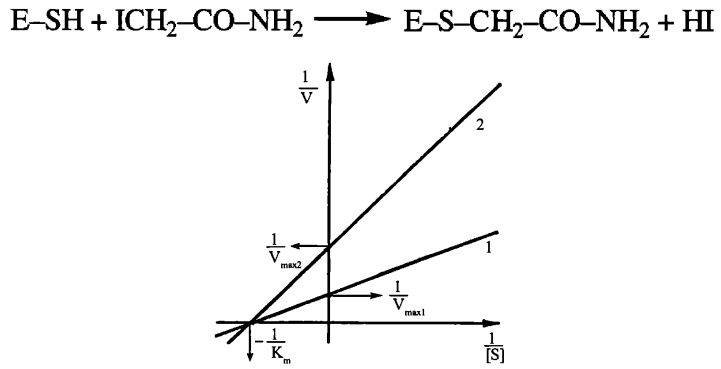


Рис. 14.4 Неконкурентне інгібування ферменту:
1-без інгібітора; 2-в присутності інгібітора

Контрольні питання

1. Наведіть основне рівняння кінетики ферментативних реакцій.
2. Виведіть рівняння Лайнуівера-Берка.
3. Як впливає зміна pH на активність різних ферментів?
4. Яким є температурний оптимум дії більшості ферментів?
5. Поясніть сутність конкурентного та неконкурентного інгібування

ЛЕКЦІЯ 15

РЕГУЛЯЦІЯ ФЕРМЕНТАТИВНИХ ПРОЦЕСІВ

Регуляція ферментативних процесів. Упорядкований перебіг біохімічних реакцій в організмі можливий лише за умов присутності каталітично активних форм ферментів у потрібний час і в потрібному місці (в тканині, клітині, субклітинному компартменті), що вимагає наявності чіткої системи регуляції {контролю) діяльності ферментів.

Існують два принципових шляхи регуляції інтенсивності, або швидкості біохімічних ферментативних реакцій:

А - через зміну каталітичної активності ферменту.

Б - через зміну кількості ферменту {або ферментів), що визначають перебіг ферментативного процесу.

А. Перший шлях регуляції передбачає наявність у ферментному пулі клітини спеціальних регуляторних ферментів, які містяться звичайно на головних, ключових ланках метаболізму. Цей шлях забезпечує термінову адаптацію ферментного апарату організму і реалізується протягом декількох секунд або хвилин - механізм «швидкого реагування».

Існують чотири основних механізми регуляції каталітичної активності ферментів:

1. Алостерична регуляція активності ферментів.
2. Регуляція активності ферментів за рахунок їх ковалентної модифікації.
3. Активація ферментів шляхом обмеженого протеолізу.

4. Активація та гальмування активностей ферментів за допомогою особливих регуляторних білків.

Алостеричні ферменти - це різновид регуляторних ферментів, що, крім активного центру, мають додатковий регуляторний (алостеричний) центр, з яким взаємодіють алостеричні регулятори (ефектори, модулятори). Алостеричні ефектори можуть бути як позитивними, тобто такими, що збільшують каталітичну активність ферменту (алостеричні активатори), так і негативними, тобто такими, що її гальмують (алостеричні інгібітори).

За своєю молекулярною будовою алостеричні регуляторні ферменти складаються, як правило, з декількох поліпептидних ланцюгів, тобто мають четвертинну структуру. Активний та регуляторний (алостеричний) центри локалізуються на різних білкових субодиницях - каталітичній ті регуляторній, відповідно. Модифікація каталітичної активності такого ферменту здійснюється шляхом передачі на каталітичні субодиниці конформаційних змін із регуляторних субодиниць, які відбуваються в останніх після взаємодії з лігандами - ефекторами.

Згідно з моделлю Ж. Моно (рис. 15.1), існують два фізичних стани алостеричного ферменту, що відрізняються своєю конформацією та каталітичною активністю: каталітичний (релаксований) стан (R-стан) та інгібований (напружений) стан (Т-стан).

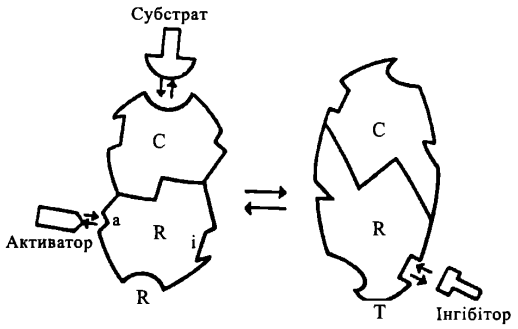
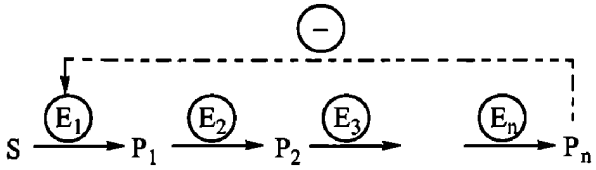


Рис. 15.1 Фізичні стани алостеричних ферментів

Зворотний перехід між R- та Т-станами залежить від взаємодії ферменту з алостеричними ефекторами (активатором або інгібітором, відповідно), які, взаємодіючи з місцями зв'язування на регуляторній субодиниці ферменту, стабілізують його молекулу в одному з конформаційних станів.

Алостеричні ферменти каталізують біохімічні реакції, що знаходяться, як правило, на початку нерозгалужених або розгалужених метаболічних шляхів. При цьому модуляторами цих ферментів можуть бути як їх власні субстрати - гомотропні регуляторні ферменти, так і інші хімічні ефектори, зокрема кінцеві продукти багатоступеневого біохімічного процесу - гетеротропні регуляторні ферменти. В останньому випадку продукт (або продукти) метаболічного шляху (зазвичай анаболічного, біосинтетичного характеру) за механізмом негативного зворотного зв'язку гальмує активність першого ферменту послідовності - ретроінгібування:



Постсинтетична ковалентна модифікація ферментних білків є одним із поширених механізмів контролю за перебігом метаболічних процесів. Шляхами такої модифікації є оборотне фосфорилування-дефосфорилування (найбільш поширений механізм регуляції), метилування, аденілування, АДФ-рибозилування білків-ферментів.

Фосфорилюють білки спеціальні ферменти протеїнкінази (протеїнфосфокінази), що за рахунок кінцевого фосфату АТФ здійснюють фосфорилування серинового чи треонінового (деякі протеїнкінази - тирозинового) радикалу відповідного білка:

$$Е\text{–}OH + АТФ \longrightarrow Е\text{–}O\text{–}Ф + АДФ$$

Зворотна реакція - дефосфорилування білків - каталізується протеїнфосфатазами:

$$Е\text{–}O\text{—}Ф + H_2O \longrightarrow Е\text{–}OH + Ф_н$$

Фосфорилування багатьох білків-ферментів трансформує їх у каталітично активну форму; фосфорилування інших ферментних білків є, навпаки, механізмом їх інактивації.

При АДФ-рибозилуванні відбувається приєднання до білка, що підлягає ковалентній модифікації, АДФ-рибозильного радикалу, який відщеплюється від складної молекули нікотинамідаденіндинуклеотиду (НАД). Реакція іде за схемою:

АДФ-рибозилування білків є механізмом регуляції багатьох видів клітинної активності, зокрема, експресії ядерного генетичного апарату. Особливим прикладом біологічного ефекту такої модифікації ферментного білка є дія холерного токсину, каталітична субодиниця якого АДФ-рибозилує аденілатциклазу мембран ентероцитів. Це, у свою чергу, супроводжується стимуляцією фосфорилування та активацією хлорного каналу мембран, який є відповідальним за транспорт у просвіт кишківника іонів хлору та води, що і призводить до важкої діареї - головного клінічного прояву холери.

Активація ферментів шляхом обмеженого протеолізу їх молекул є механізмом необоротної трансформації ферменту в каталітично активний стан. При дії цього механізму від неактивної форми ферменту-попередника {проферменту, зимогену) відщеплюється певний пептидний ланцюг; у пептиді, що залишається після обмеженого протеолізу, відбуваються конформаційні зміни, які призводять до формування активного центру і створення каталітично активної форми білка-ферменту.

Цей регуляторний механізм функціонує при утворенні активних форм більшості протеолітичних ферментів травного каналу - пепсину, трипсину, хімотрипсину, а також активних протеаз, що є компонентами (факторами) згортальної і фібринолітичної систем крові людини.

Активність деяких ферментів контролюється спеціальними регуляторними білками, що можуть спричиняти активуючі або інгібіторні ефекти. Прикладами таких білків-ефекторів є:

- кальмодулін (КМ) - Са-чутливий протеїн, який є хімічним сенсором, що трансформує збільшення цитозольної концентрації Ca^{2+} в певні біохімічні та фізіологічні реакції клітини; після зв'язування чотирьох іонів кальцію комплекс КМ-4Ca^{2+} стає здатним до активації багатьох ферментних білків;

- протеїназні інгібітори, тобто ефектори, що обмежують (блокують) активність тканинних протеїназ - ферментів, які спроможні розщеплювати власні білки організму; найбільш активними інгібіторами є α_2-макроглобулін та α_1-антитрипсин, які блокують активність серинових та інших протеїназ за рахунок зв'язування з їх активними центрами;

- антигемофільний глобулін А (фактор VIII згортальної системи крові); цей білок бере участь в активації фактора Х, що запускає весь коагуляційний каскад, який призводить до формування кров'яного згустка; спадкова недостатність антигемофільного глобуліну А проявляється схильністю до кровотеч - гемофілією.

Б. Другий шлях регуляції є механізмом довготривалої адаптації ферментного апарату. Для його включення і повної реалізації необхідно декілька годин або діб. У більшості випадків він полягає у змінах інтенсивності біосинтезу певного ферментного білка за рахунок впливу на систему ядерного генома або рибосомального білкового синтезу (тобто процеси транскрипції та трансляції). У деяких біохімічних системах кількість білка-ферменту в клітині збільшується шляхом стабілізації існуючих молекул за рахунок гальмування активності протеаз, які їх розщеплюють.

Цей тип регуляції широко представлений у мікроорганізмів, які мають вражаючу властивість пристосування до змін у хімічному складі культурального середовища (концентрацій амінокислот, вуглеводів, присутності певних антибіотиків тощо) шляхом швидкої активації або гальмування синтезу відповідних ферментів.

Розрізняють два класи ферментів мікроорганізмів:

- конститутивні ферменти - такі, що синтезуються бактеріальними клітинами постійно, незалежно від змін в умовах існування;

- адаптивні ферменти - інтенсивність біосинтезу яких змінюється залежно від змін в умовах існування.

Адаптивні ферменти мікроорганізмів поділяються на індуцибельні та репресибельні, тобто такі, активність синтезу яких, відповідно, підвищується або гальмується залежно від дії певних сполук-ефекторів.

Адаптивна індукція або репресія ферментів має місце і в клітинах еукаріотів.

Прикладами індукції ферментних систем в організмі людини можуть бути зміни в концентрації білків-ферментів у печінці, що відбуваються залежно від кількості поживних сполук в їжі (адаптація ферментів вуглеводного, амінокислотного та ліпідного обмінів), надходження в організм чужорідних сполук - лікарських, токсичних (індукція ферментів детоксикації - глюкуронування та мікросомального окислення).

Важливою та поширеною біологічною системою контролю за ферментативними реакціями, що поєднує в собі різні молекулярні механізми регуляції, є система циклічних нуклеотидів 3',5'-АМФ (цАМФ) та 3',5'ГМФ (цГМФ) - це внутрішні дифосфорні ефіри аденілової (АМФ) та гуанілової (ГМФ) кислот.

Регуляція ферментативних процесів за участю цАМФ включає декілька послідовних стадій передавання і трансформації хімічного (регуляторного) сигналу.

1. Утворення циклічних нуклеотидів у реакціях, що каталізуються ферментами циклазами: аденілатциклазою та гуанілатциклазою з нуклеозидтрифосфатів АТФ та ГТФ, відповідно:

$$АТФ \longrightarrow 3',5'\text{-}АМФ + ФФ_н$$
$$ГТФ \longrightarrow 3',5'\text{-}ГМФ + ФФ_н$$

2. Активація циклічним АМФ протеїнкіназ, функцією яких є фосфорилування інших ферментних білків. Ці цАМФ-залежні протеїнкінази є регуляторними ферментами, що активуються цАМФ за механізмом алостеричного контролю.

Активована протеїнкіназа може фосфорилювати декілька тисяч молекул білків- субстратів, що призводить до значного посилення первинного хімічного регуляторного сигналу - каскадна система регуляції.

Контрольні питання

1. Назвіть основні шляхи регуляції ферментативної активності.
2. Надайте визначення алостеричним ферментам.
3. Чим відрізняються конститутивні та адаптивні ферменти?
4. Наведіть приклади ферментативної регуляції обмінних процесів.
5. Яку роль виконують циклічні нуклеотиди в регуляції ферментативних процесів?

ЛЕКЦІЯ 16

ОБМІН РЕЧОВИН ТА ЕНЕРГІЇ

Поняття обміну речовин. Обмін речовин - безперервний, що само здійснюється та саморегулюється колообіг речовин, який відбувається в процесі існування живої матерії та супроводжується її постійним самооновленням.

Автотрофні клітини (організми) здатні утворювати всі свої вуглецьвмісні компоненти (насамперед, вуглеводи) за рахунок CO_2 атмосфери.

До автотрофних організмів належать фотосинтезуючі клітини вищих зелених рослин та клітини деяких прокаріотів - синьозелених водоростей, зелених та пурпурових бактерій. Енергію для своїх ендергонічних реакцій вищі та нижчі рослини отримують за рахунок енергії сонячного світла, яка уловлюється і трансформується в хімічну енергію спеціальними світлочутливими білками - *хлорофілами* хлоропластів зелених рослин.

Сумарне рівняння фотосинтезу:

$$6\,CO_2 + 6\,H_2O \rightarrow C_6H_{12}O_6 + 6\,O_2$$

Гетеротрофні клітини (організми) отримують вуглець, необхідний для побудови їх власних молекул і біоструктур, у вигляді складних біоорганічних сполук (вуглеводів, ліпідів, білків тощо), які містяться в продуктах харчування.

До гетеротрофних належать еукаріотичні клітини тваринних організмів, включаючи клітини організму людини, та самі ці багатоклітинні організми. За джерело хімічної енергії для процесів життєдіяльності у гетеротрофів правлять реакції біологічного окислення метаболітів, які утворюються при розщепленні вуглеводів, ліпідів та деяких амінокислот.

Обмінні процеси. Головними джерелами енергії у тваринних організмах є реакції окислення глюкози та нейтральних жирів (триацилгліцеролів):

окислення глюкози:

$$C_6H_{12}O_6 + 6\,O_2 \rightarrow 6\,CO_2 + 6\,H_2O;$$

окислення жиру триолеїну:

$$C_{57}H_{|04}O_6 + 80\,O_2 \text{ -> } 57\,CO_2 + 52\,H_2O$$

Основні екзергонічні окислювальні процеси, що супроводжуються вивільненням хімічної енергії, у гетеротрофів відбуваються в мітохондріях. Кисень, що є акцептором електронів в реакціях біологічного окислення, постачається за рахунок процесів дихання.

Процеси перетворення одних біомолекул (*метаболітів*) на інші, що каталізуються ферментами, складають *метаболічні шляхи.* Проміжні продукти, які виникають на протязі метаболічних шляхів, називають також *інтермедіатами.*

Послідовності реакцій, з яких складаються метаболічні шляхи, можуть бути лінійними, розгалуженими та циклічними.

Метаболічні шляхи поділяються на:

- катаболічні шляхи, які складають у сукупності катаболізм (дисиміляцію) - реакції розщеплення (гідролізу, окислення тощо) біоорганічних сполук, що у тваринних організмів постійно надходять із зовнішнього середовища у складі продуктів харчування, та власних біомолекул, які складають структуру клітин та тканин багатоклітинного організму;

- анаболічні шляхи, які складають анаболізм - реакції синтезу складних біомолекул, що формують різні клітинні та позаклітинні біоструктури (білків, нуклеїнових кислот, полісахаридів, фосфоліпідів) та забезпечують функціонування організму (амінокислот, моносахаридів, нейтральних ліпідів,

нуклеотидів, коферментів, гормонів тощо);

- амфіболічні шляхи, які являють собою «перехрестя» катаболізму та анаболізму; сполуки, що є інтермедіатами амфіболічних шляхів, можуть перетворюватися як в анаболічних, так і в катаболічних процесах; прикладом може бути цикл трикарбонових кислот.

Анаболізм (асиміляція) - частина загального процесу обміну речовин, яка виражається у поглинанні, накопиченні, засвоєнні організмом речовин навколишнього середовища і створенні за їх рахунок структурних одиниць свого тіла.

Катаболізм (дисиміляція) – частина загального обміну речовин, яка полягає у руйнуванні речовин, що складають організм, у розкладі елементів живого тіла та виведенні продуктів цього розкладу з організму.

Обмін речовин представляє собою сукупність багатьох різноманітних і протилежних процесів: фізіологічних (живлення, виділення), фізичних (сорбція, перенос), хімічних (синтез, розклад). Метаболізм – частина процесів обміну речовин в організмі, яка полягає в здійсненні хімічних реакцій, що ведуть до перетворення індивідуальних хімічних сполук при їх розкладі і синтезі в процесі життєдіяльності організму.

Обмін енергії. Кожна органічна сполука, що входить до складу живої матерії, володіє певним запасом потенціальної енергії, за рахунок якої може бути здійснена робота. Це так звана вільна енергія, рівні якої розрізняються для індивідуальних вихідних речовин і продуктів реакції, тому в процесі перетворення речовин відбувається пере розподілення вільної енергії між компонентами реакційної суміші.

Розрізняють *екзергонічні* та *ендергонічні* реакції (процеси).

Екзергонічні реакції - супроводжуються вивільненням хімічної енергії. Найбільш важливими екзергонічними процесами у тваринних організмах є окислювальні реакції, що каталізуються окислювально-відновлювальни- ми ферментами, які складають електронотранспортні ланцюги внутрішніх мембран мітохондрій. Енергія, яка вивільняється в цих реакціях, акумулюється у формі високоенергетичних (*макроергічних)* зв'язків певних спеціалізованих сполук - переважно, молекули аденозинтрифосфорної кислоти (АТФ), і може бути використана для реалізації власних ендергонічних процесів.

Ендергонічні реакції- йдуть з поглинанням хімічної енергії. Перебіг ендергонічних реакцій та процесів потребує витрат енергії. До ендергонічних реакцій та процесів належать:

- *реакції синтезу* власних біомолекул (*біосинтезу*), що здійснюються з утворенням нових хімічних зв'язків, ускладненням структури біомолекул (простих сполук та біополімерів); за джерело енергії в більшості цих реакцій правлять макро- ергічні зв'язки АТФ;
- *реакції відновлення* — приєднання до біоорганічних сполук атомів водню (наприклад, до ненасичених жирних кислот в ході ліпогенезу); в реакціях відновлення як донори виступають молекули відновленого (НАДФН);
- *процеси здійснення механічної роботи* (м'язова діяльність організму, певні

види клітинного руху тощо).

Спряження ендергонічних процесів з екзергонічними здійснюється за рахунок синтезу протягом екзергонічної реакції сполук з високим енергетичним потенціалом, які в подальшому використовуються в ендергонічних реакціях, що забезпечує передачу хімічної енергії від екзергонічного до ендергонічного процесу.

Макроергічні сполуки. Головним матеріальним носієм вільної енергії в органічних речовинах є хімічні зв'язки між атомами. Якщо зміна рівня вільної енергії сполуки при виникненні чи розкладі хімічного зв'язку складає 12,5 кДж/моль перетворюваної речовини, то такий зв'язок за своїм енергетичним рівнем вважається нормальним. Однак при новоутворенні і розкладі деяких зв'язків рівень вільної енергії в молекулах низки органічних сполук становить 25-50 кДж/моль і більше. Такі речовини називаються макроергічними. Наприклад, при гідролізі цукрози рівень вільної енергії становить 27,7 кДж/моль, при гідролізі АТФ – 32-34 кДж/моль.

Майже всі відомі сполуки з макроергічними зв'язками містять атоми фосфору і сірки, за місцем яких в молекулах ці зв'язки локалізовані.

Обмін енергії в процесі життєдіяльності не вичерпується перетворенням хімічної енергії в інші її види і натомість; він носить більш широкий характер. В структурах ока світлова енергія перетворюється в електричну; в структурах внутрішнього вуха звук і гідродинамічна енергія перетворюється в електричну. Трансформація одного виду енергії в інший здійснюється в організмах у різноманітних елементах (хлоропласти, м'язи, сітчатка ока та ін.), яким присутні спільні властивості: вони відрізняються наявністю двошарових мембран з високим вмістом ліпопротеїдів (комплекси жирів з білками) і присутністю структурного білка, який зв'язує у впорядковані утворення уніфіковані елементарні часточки, котрі включають до свого складу молекули певної будови, що і здійснюють процес трансформації енергії.

Контрольні питання

1. Надайте визначення поняттю «обмін речовин».
2. Які розрізняють метаболічні шляхи?
3. Поясніть сутність процесів дисиміляції та асиміляції.
4. Які біохімічні реакції є основним джерелом енергії у автотрофів та гетеротрофів?
5. Які сполуки відносяться до макроергічних? Наведіть приклади.

ЛЕКЦІЯ 17

ЕТАПИ І СТАДІЇ ОБМІНУ РЕЧОВИН

Етапи і стадії обміну речовин. Обмін речовин в організмі людини та вищих тварин складається з декількох послідовних етапів:

- перетворення поживних сполук що надходять в організм у складі

продуктів харчування (білків, полісахаридів, жирів, нуклеїнових кислот) у травному каналі до більш простих речовин (амінокислот, моносахаридів, жирних кислот, гліцерину, мононуклеотидів), які здатні всмоктуватися епітелієм слизової оболонки шлунка та кишківника;

- біотранспорт молекул - продуктів травлення поживних речовин кров'ю та лімфою, надходження їх через мембрани судинних стінок та плазматичні мембрани до клітин певних органів і тканин (печінки, м'язів, жирової тканини, нирок, головного мозку тощо); внутрішньоклітинний метаболізм біомолекул в органах і тканинах *(проміжний обмін,* або власне *метаболізм* у вузькому значенні слова); виділення (екскрецію) з організму - через нирки, легені, шкіру, кишківник - кінцевих продуктів обміну речовин (діоксиду вуглецю, води, аміаку, сечовини, продуктів окислення та кон'югації деяких біоорганічних сполук).

Реакції внутрішньоклітинного метаболізму включають у себе такі біохімічні перетворення:

а) розщеплення (катаболізм) біомолекул (глюкози, жирних кислот, амінокислот, гліцерину) до кінцевих метаболітів (CO_2, H_2O, NH_3) з вивільненням хімічної енергії та акумуляцією її у формі АТФ, інших макроергічних фосфатів або протонного потенціалу, що забезпечує енергетичні потреби всіх біологічних функцій організму;

б) біосинтез специфічних, генетично притаманних даному організмові біомолекул (білків, нуклеїнових кислот, полісахаридів, ліпідів, коферментів, гормонів та інших біо- регуляторів тощо), необхідних для всіх метаболічних реакцій та утворення власних клітинних і позаклітинних біоструктур; ці анаболічні процеси потребують постачання енергії, переважно у формі макроергічних зв'язків АТФ;

в) реакції використання енергії (у формі АТФ або протонного потенціалу біомемб- ран) для забезпечення таких процесів клітинної фізіології, як функціонування скоротливих структур (м'язове скорочення, діяльність елементів цитоскелета, війок і джгутиків тощо), екзо- та ендоцитоз, генерація мембранного потенціалу, активний транспорт метаболітів та неорганічних іонів Ca^{2+}, Ma^{+}, K^{+}, CI^{-}.

У ферментативному розщепленні складних біоорганічних сполук в організмі виділяють три основних стадії (етапи), що є загальними для катаболізму різних біомолекул (рис. 17.1).

Стадія 1. Макромолекули вуглеводів, білків, нуклеїнових кислот та молекули ліпідів розщеплюються до простих компонентів:

- полісахариди - до моносахаридів (глюкози, фруктози, галактози);
- ліпіди (триацилгліцероли) - до жирних кислот та гліцеролу;
- білки - до амінокислот;
- нуклеїнові кислоти - до нуклеотидів.

Реакції першої стадії катаболізму є *гідролітичними* за своїм механізмом і каталізуються *гідролазами* травного тракту (шлунка, кишечника). Ці реакції не супроводжуються суттєвим вивільненням хімічної енергії.

Стадія 2. Декілька десятків метаболітів, що утворились на першій стадії, підлягають ферментативним реакціям розщеплення з вивільненням певної кількості хімічної енергії, яка акумулюється у (макроергічних) зв'язках АТФ.

Реакції другої стадії катаболізму відбуваються внутрішньоклітинно (в цитоплазмі та частково в мітохондріях). Основними з цих реакцій є:

для моносахаридів - гліколіз, кінцевим метаболітом якого є піровиноградна кислота (піруват), що в подальшому окислюється до активної форми оцтової кислоти - ацетил-коензиму А (ацетил-Ко А);

для жирних кислот - окислення, кінцевим продуктом якого є ацетил-КоА;

для гліцеролу - розщеплення до пірувату, який перетворюється в ацетил-КоА;

для амінокислот та нуклеотидів - дезамінування з виділенням аміаку та розщепленням безазотистих молекулярних скелетів до дво- і тривуглецевих карбонових кислот та їх похідних; більшість із цих метаболітів у кінцевому підсумку також утворюють ацетильний радикал у формі ацетил-КоА.

Таким чином, ацетил-КоА - це загальний кінцевий продукт другої стадії внутрішньоклітинного катаболізму вуглеводів, ліпідів та амінокислот.

Стадія 3. Окислення ацетил-КоА до кінцевих метаболітів - двоокису вуглецю та води. Протягом цієї стадії відбуваються процеси вивільнення та акумуляції хімічгої енергії. Ця стадія має місце в мітохондріях і включає в себе функціонування таких біологічних систем:

циклу трикарбонових кислот (ЦТК, циклу Кребса), при перебігу якого утворюється CO_2, а атоми водню використовуються для відновлення коферментів НАД та ФАД;

системи електронного транспорту в мембранах мітохондрій, в якій атоми водню (протони та електрони) переносяться на кисень з утворенням H_2O; ця система спряжена з *окисним фосфорилуванням,* в результаті якого енергія реакцій біологічного окислення використовується для синтезу молекул АТФ - головного безпосереднього постачальника енергії у всіх біологічних ендергонічних процесах.

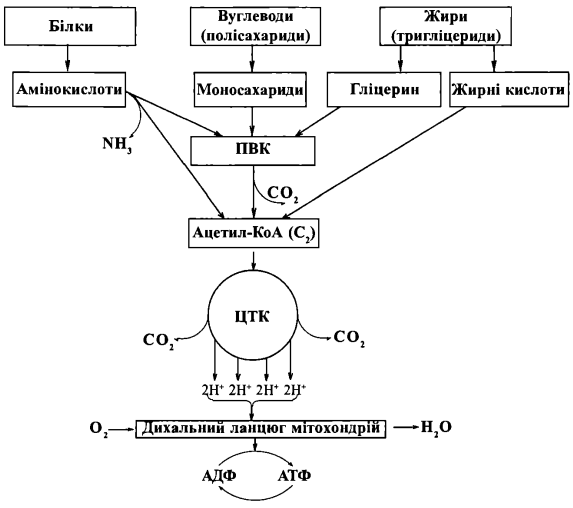


Рис. 17.1 Стадії катаболізму біомолекул

Реакції біологічного окислення. Біоенергетичні процеси - біологічне окислення та спряжене з ним окисне фосфорилування - є кінцевою фазою катаболізму молекул у живих організмах, що реалізується складними мультиензимними комплексами внутрішніх мембран мітохондрій.

Результатом цих структурованих у біомембранах реакцій є генерація макроергічних зв'язків у молекулі АТФ - основному постачальнику енергії для всіх ендергонічних процесів клітин.

Внутрішньомолекулярне окислення біологічних субстратів (біологічне окислення) є основним молекулярним механізмом, за рахунок якого забезпечуються енергетичні потреби функціонування живих організмів.

Окислення - це процес втрати атомом, молекулою, що окислюється (субстратом окислення), електронів або атомів водню (протонів та електронів).

Відновлення - реакція, зворотна окисленню, - супроводжується приєднанням органічним субстратом електронів або атомів водню (гідруванням субстрату).

Електрони та атоми водню, що беруть участь в окислювально-відновлювальних реакціях, мають назву відновлювальних еквівалентів.

Окислювально-відновлювальна реакція може полягати в міжмолекулярному або міжатомному передаванні відновлювальних еквівалентів від донора електронів (сполуки, що окислюється) акцептору електронів (сполуці, що відновлюється) без безпосереднього приєднання акцептора до донора. Існують також реакції, в ході яких утворюється новий хімічний зв'язок між атомом вуглецю біомолекули, що окислюється, та гетероатомом, який є більш електронегативним і виступає окисником (зокрема, атомом кисню).

Реакції біологічного окислення складають молекулярну основу тканинного дихання - поглинання O_2 живими тканинами, яке є інтегральним фізіологічним показником інтенсивності перебігу в них окислювально-відновлювальних процесів. Джерелом кисню для цього процесу є O_2, який надходить в тканини за умов нормальної діяльності системи зовнішнього дихання та кисеньтранспортувальної функції гемоглобіну крові, і через плазматичні мембрани дифундує всередину клітин.

У результаті окислювально-відновлювальних реакцій які відбуваються в мітохондріях, атоми кисню включаються в молекулу води, а вуглець біоорганічних сполук, що окислюються, виділяється у формі двоокису вуглецю. Саме мітохондріальне дихання є біохімічною основою утворення та акумуляції вільної хімічної енергії, яка використовується в ендергонічних процесах.

У гепатоцитах печінки та клітинах деяких інших спеціалізованих тканин деяка частина кисню, який поглинається клітиною під час тканинного дихання, використовується в біологічному окисленні екзогенних та ендогенних субстратів у мембранах ендоплазматичного ретикулуму - процесі мікросомального окислення, що є механізмом модифікації гідрофобних молекул в організмі. Його частка в сумарному балансі поглинання клітиною кисню складає в гєпатоцитах до 20%.

Типи реакцій біологічного окислення. Усі окислювально-відновлювальні реакції, що відбуваються в живих клітинах, каталізуються ферментами з класу оксидоредуктаз.

У процесах біологічного окислення, що мають місце в живих системах, виділяють такі класи реакцій:

1. Реакції, пов'язані з передаванням субстратом, що окислюється (SH_2), певному акцептору (А) водню (тобто протонів і електронів):

$$SH_2 + A \rightarrow S + AH_2$$

Реакції такого типу називаються реакціями дегідрування, а ферменти, що їх каталізують, - дегідрогеназами.

Коферментами дегідрогеназ, що виконують функції безпосередніх акцепторів відновлювальних еквівалентів, є такі сполуки:

- нікотинамідні {піридинові) кофермснти - нуклеотиди НАД (нікотинамідаденіндинуклеотид) та НАДФ (нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат);

- флавінові кофермснти - нуклеотиди ФАД (флавінаденіндинуклеотид) та ФМН (флавінмононуклеотид).

Ці кофермснти передають електрони на подальші біохімічні акцептори, утворюючи ланцюги передавання відновлювальних еквівалентів у біологічних системах.

Залежно від хімічної природи акцептора, з яким взаємодіють дегідрогенази, реакції дегідрування поділяють на такі класи:

1.1. Реакції дегідрування, в яких акцептором є хімічна сполука (R), відмінна від кисню:

$$SH_2 + R \rightarrow S + RH_2$$

Ферменти, що каталізують такі реакції, - анаеробні дегідрогенази.

1.2. Реакції дегідрування, в яких як акцептор використовується кисень:

$$SH_2 + O_2 \rightarrow S + H_2O_2$$

Ферменти, що каталізують ці реакції, - аеробні дегідрогенази, або оксидази; в результаті їх дії утворюється перекис водню.

2. Реакції, що відбуваються з передаванням від субстрату до акцептора електронів (одного або двох):

$$Se^- + A \rightarrow S + Ae^-$$

Реакції такого типу каталізуються цитохромами дихального ланцюга мітохондрій.

3. Реакції, що полягають у безпосередньому приєднанні до субстрату, який окислюється, одного або двох атомів кисню. Такі реакції дістали назву оксигеназних, а відповідні ферменти, що їх каталізують, - оксигеназ. Залежно від кількості атомів кисню, що взаємодіють із субстратом, оксигеназні реакції поділяють на:

- монооксигеназні: $SH + 1/2\ O_2 \rightarrow S\text{-}OH$

- діоксигеназнї. $S + O_2 \rightarrow SO_2$

Монооксигеназні реакції каталізуються цитохромом Р-450 і лежать в основі окислювального гідроксилування багатьох гідрофобних субстратів

екзогенного та ендогенного походження (мікросомальне окислення). До діоксигеназних належать реакції перекисного окислення ліпідів, тобто ненасичених жирних кислот, що входять до складу ліпідів природного походження.

Ферменти біологічного окислення.

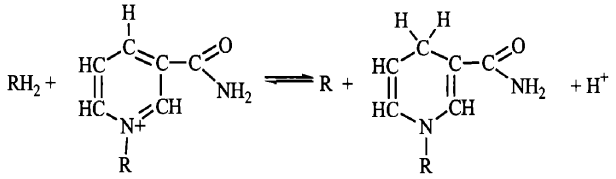
1. Дегідрогенази, залежні від нікотинамідних коферментів (НАД(Ф)-залежні дегідрогенази). Зв'язок між НАД (або НАДФ) та білковою частиною ферменту (апоферментом) у складі піридинзалежних дегідрогеназ нестійкий: він утворюється та руйнується в процесі каталітичного циклу, що дозволяє вважати нікотинамідні нуклеотиди скоріше субстратами, ніж простетичними групами.

Реакції, що каталізуються НАД(Ф)-залежними дегідрогеназами:

SH_2 + НАД → S + НАДН + H^+

SH2 + НАДФ → 8 + НАДФН + H^+

Активною структурою в молекулі НАД або НАДФ, що акцептує відновлювальні еквіваленти від субстрату, є піридинове кільце никотинаміду. У ході ферментативної реакції субстрат відщеплює два атоми водню (2Н++ 2е~), один з яких у формі гідрид-іона: H^- (тобто H^++2e^-) приєднується до піридинового кільця НАД(Ф), а другий у вигляді протона (іона H^+) надходить у реакційне середовище.



Дегідрогенази виконують функції анаеробних дегідрогеназ, що відщеплюють протони та електрони від багатьох субстратів, відновлюючи НАД або НАДФ, які передають в подальшому відновлювальні еквіваленти на інші акцептори.

НАД-запежні дегідрогенази каталізують окислювально-відновлювальні реакції, що містяться на окислювальних шляхах метаболізму - гліколізу, циклу лимонної кислоти, бета-окислення жирних кислот, окисного дезамінування амінокислот, дихального ланцюга мітохондрій.

НАДФ - залежні дегідрогенази беруть участь у процесах відновлювального синтезу, що відбуваються в цитозолі, зокрема постачають атоми водню при синтезі жирних кислот та стероїдів. Головним джерелом відновленого НАДФ є дегідрогеназні реакції пентозофосфатного шляху окислення глюкози.

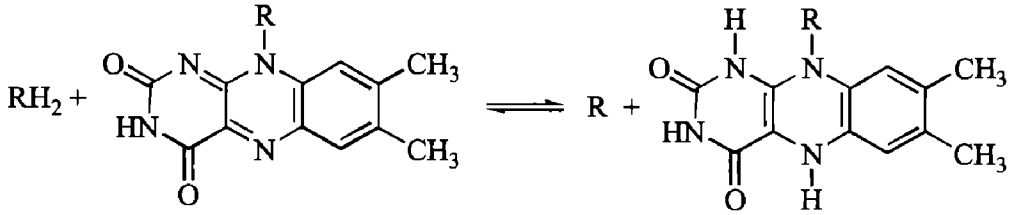
2. Флавінзалежні дегідрогенази є флавопротеїнами, простетичними групами в яких є флавінаденіндинуклеотид (ФАД) та флавінмононуклеотид (ФАД). Кофермснти (ФАД та ФМН) міцно зв'язані з білковою частиною і не відщеплюються від неї на жодній стадії каталітичного циклу.

Загальні рівняння окислення субстратів за участю флавінзалежних дегідрогеназ:

SH_2 + ФАД → S + $ФАДH_2$

SH_2 + ФМН → S + $ФМНH_2$

Активною частиною молекули ФАД або ФМН, що бере участь в окислювально-відновлювальній реакції, є ізоалоксазинове кільце рибофлавіну, яке акцептує два атоми водню ($2H^+ + 2e^-$) від субстрату:



У процесах біологічного окислення певні флавопротеїнові ферменти відіграють роль як анаеробних, так і аеробних дегідрогеназ.

3. Цитохроми - залізовмісні білки мітохондрій, що належать до класу гемопротеїнів. У цитохромах іон заліза входить до складу металопорфіринового комплексу (гемінове залізо), близького за хімічною структурою до простетичних груп гемоглобіну та міоглобіну. За рахунок оберненої зміни валентності гемінового заліза цитохроми виконують функцію транспорту електронів у ланцюгах біологічного окислення в аеробних клітинах:

Цитохром (Fe^{3+}) + e^- → Цитохром (Fe^{2+})

Залежно від характерних особливостей спектрів поглинання, розрізняють три класи цитохромів (a, b, c). У мітохондріях еукаріотів наявні п'ять різновидів цитохромів - b, c, c_1, a, a_3; в ендоплазматичному ретикулумі гепатоцитів містяться цитохроми Р-450 та b_5 що беруть участь у реакціях окислювального гідроксилування.

Контрольні питання

1. Охарактеризуйте основні етапи обміну речовин.
2. Охарактеризуйте основні стадії обміну речовин.
3. В чому полягає сутність реакцій біологічного окислення?
4. Наведіть типи реакцій біологічного окислення.
5. Надайте стислу характеристику ферментів біологічного окислення.

ЛЕКЦІЯ 18

ЦИКЛ ТРИКАРБОНОВИХ КИСЛОТ

Загальні положення. Цикл трикарбонових кислот (цикл лимонної кислоти, цикл Кребса) - циклічна послідовність ферментативних реакцій, в результаті яких ацетил-КоА (CH_3-CO~S-КоА) - продукт катаболізму основних видів метаболічного палива (вуглеводів, жирів, амінокислот), окислюється до двоокису вуглецю з утворенням атомів водню, які використовуються для відновлення первинних акцепторів дихального ланцюга мітохондрій - нікотинамідних або флавінових коферментів.

Цикл трикарбонових кислот (ЦТК) - це загальний кінцевий шлях окислювального катаболізму клітини в аеробних умовах. Реакції і ферменти ЦТК локалізовані в матриксі та внутрішній мембрані мітохондрій. Вони функціонально та біохімічно спряжені з мітохондріальними електронотранспортними ланцюгами, що використовують для відновлення атомів кисню відновлювальні еквіваленти від НАДН (НАДН + H^+) та $ФАДН_2$ або $ФМНН_2$ і утворюють АТФ у ході окисного фосфорилування.

Цикл трикарбонових кислот починається (рис. 18.1) із взаємодії (конденсації) двовуглецевої молекули ацетил-КоА (C_2) з чотиривуглецевою (C_4) щавлевооцтовою кислотою (оксалоацетатом), що призводить до утворення шестивуглецевої (C_6) молекули лимонної кислоти (цитрату). В результаті подальшого багатоступеневого перетворення три- та дикарбонових кислот (інтермедіатів ЦТК) відбувається регенерація оксалоацетату (C_4) та виділяються дві молекули двоокису вуглецю (C_2).

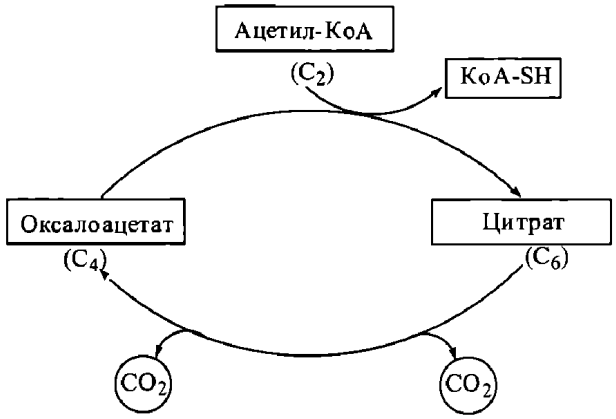


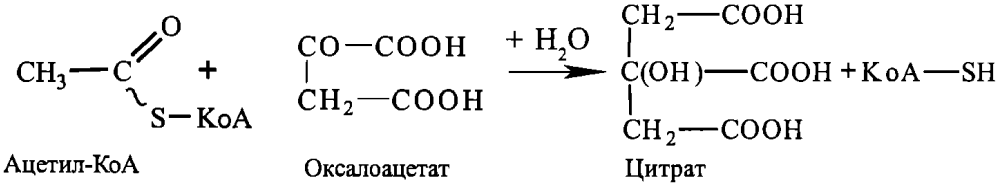
Рис. 18.1 Схема функціонування циклу трикарбонових кислот

Таким чином, коензим А відщеплюється від ацетил-КоА («активної форми оцтової кислоти») вже в першій реакції ЦТК; у ході функціонування подальших реакцій циклу відбувається відщеплення від цитрату двох молекул двоокису вуглецю та чотирьох пар атомів водню (4·2Н):

$$CH_3COOH + 2H_2O \rightarrow 2CO_2 + 8(4 \times 2)\ H.$$

Ферментативні реакції ЦТК.

1. Утворення лимонної кислоти (цитрату) за рахунок конденсації ацетил-КоА зі щавлевооцтовою кислотою (оксалоацетатом):

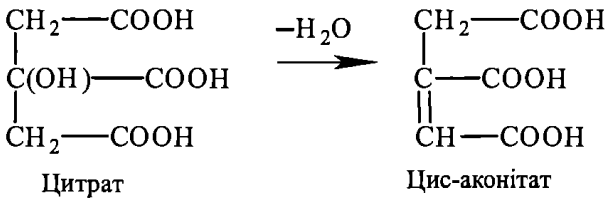


Ацетил-КоА Оксалоацетат Цитрат

Реакція каталізується ферментом цитратсинтазою. Вона є регуляторним ферментом, активність якого гальмується АТФ, НАДН, сукциніл-КоА та довголанцюговими ацил-КоА.

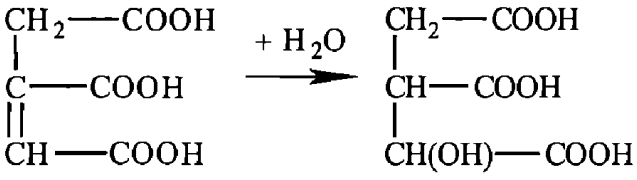
2. Перетворення (ізомеризація) цитрату на ізоцитрат. Реакція каталізується ферментом аконітазою і складається з двох етапів:

2.1. Дегідратація лимонної кислоти з утворенням цис-аконітової кислоти (цис-аконітату):



Цитрат Цис-аконітат

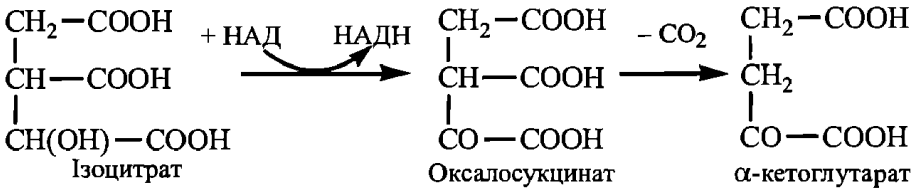
2.2. Приєднання до цис-аконітату молекули води. При приєднанні до подвійного зв'язку в складі цис-аконітату H^+ та OH^- у транс-положенні результатом реакції є утворення ізолимонної кислоти (ізоцитрату):



Цис-аконітат Ізоцитрат

3. Дегідрування та декарбоксилювання ізоцитрату. Реакція каталізується НАД-залежною ізоцитратдегідрогеназою і призводить до утворення α-кетоглутарової кислоти (α-кетоглутарату).

Ізоцитратдегідрогеназа є регуляторним ферментом, позитивний модулятор якого - АДФ, негативний - НАДН.

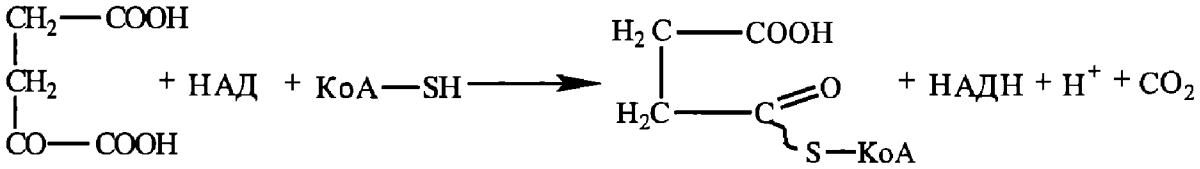


Ізоцитрат Оксалосукцинат α-кетоглутарат

Фермент має дві молекулярні форми - мономерну та димерну. В присутності позитивного модулятора АДФ мономери агрегують між собою з утворенням димеру. Негативний модулятор НАДН протидіє індукованій АДФ агрегації мономерних форм ферменту. Обидві молекулярні форми ізоцитратдегідрогенази мають каталітичні властивості, але за умов низької концентрації АДФ димер значно активніший.

4. Окислення α-кетоглутарату до сукцинату відбувається у дві стадії:

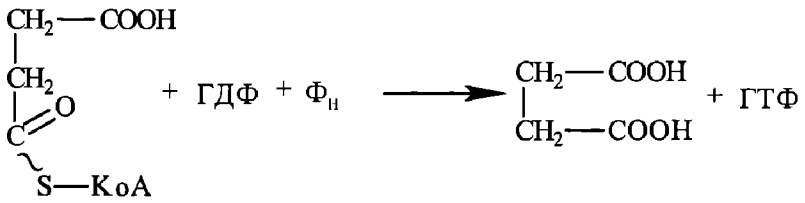
4.1. Окислювальне декарбоксилювання α-кетоглутарату з утворенням сукциніл-КоА - стадія, що каталізується мультиензимним α-кетоглутаратдегідрогеназним комплексом. Кінцевий продукт - високоенергетичний тіоефір сукциніл-КоА, в макроергічному зв'язку якого акумульовано хімічну енергію окислювально-відновлювальною реакцією, що мала місце:



α-Кетоглутарат Сукциніл-КоА

НАДН, що утворився в цій реакції, окислюється в дихальному ланцюгу мітохондрій із генерацією 3 молекул АТФ.

4.2. Деацилування сукциніл-КоА - перетворення на бурштинову кислоту (сукцинат). Реакція каталізується ферментом сукцинілтіокіназою. У результаті розщеплюється макроергічний зв'язок у молекулі сукциніл-КоА і за рахунок цієї енергії утворюється нова макроергічна сполука нуклеозидтрифосфат ГТФ:

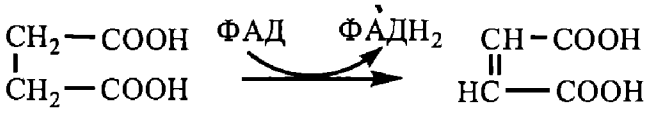


Сукциніл-КоА Сукцинат

Потім ГТФ передає свою кінцеву фосфатну групу на АДФ у нуклеозидфосфокіназній реакції з утворенням АТФ:

ГТФ + АДФ → ГДФ + АТФ.

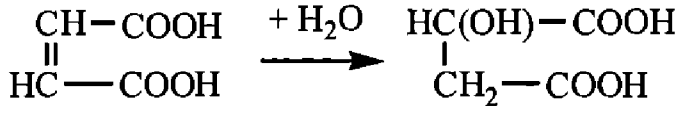
5. Окислення бурштинової кислоти до фумарової кислоти (фумарату). Реакція каталізується ФАД-залежним ферментом сукцинатдегідрогеназою:



Сукцинат Фумарат (транс-сполука)

Окислення відновленого коферменту ($ФАДН_2$) за допомогою коензиму Q дихального ланцюга мітохондрій призводить до синтезу за рахунок окисного фосфорилування 2 молекул АТФ.

6. Перетворення фумарової кислоти на яблучну кислоту (малат) внаслідок приєднання до фумарату молекули води. Реакція каталізується ферментом фумаратгідратазою (фумаразою):



Фумарат (транс-сполука) Малат

7. Окислення малату до оксалоацетату (щавлевооцтової кислоти). Реакція каталізується НАД-залежним ферментом - малатдегідрогеназою мітохондрій:

Окислення утвореного НАДН у дихальному ланцюгу мітохондрій призводить до генерації 3 молекул АТФ.

Малатдегідрогеназна реакція завершує цикл трикарбонових кислот. Оксалоацетат, який є продуктом даної реакції, здатний до взаємодії з новими молекулами ацетил-КоА (рис. 18.2).

Енергетичний баланс ЦТК. Біохімічний підсумок циклу трикарбонових кислот полягає в утворенні двох молекул CO_2 (в ізоцитратдегідрогеназній та α-кетоглутаратдегідрогеназній реакціях), та чотирьох пар атомів водню, три з яких акцептуються НАД та одна - ФАД. Відновлені коферменти окислюються в дихальному ланцюгу мітохондрій, утворюючи за рахунок окисного фосфорилування по 3 молекули АТФ на кожну молекулу НАДН і по 2 молекули АТФ на кожну молекулу $ФАДН_2$. Крім того, одна молекула АТФ утворюється в субстратному фосфорилуванні при перетворенні сукциніл-КоА в сукцинат (табл. 18.1).

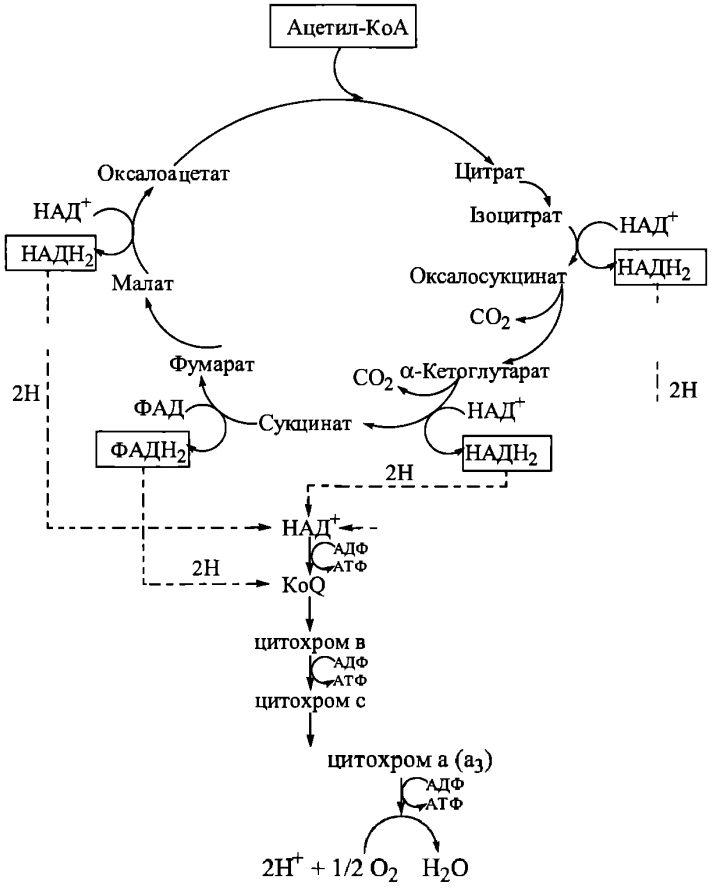


Рис. 18.2 Метаболічна карта ЦТК

Таблиця 18.1

Сумарний баланс молекул АТФ, що утворюються при функціонуванні ЦТК

Реакція	Кофермент	Кількість молекул АТФ, що утворюються
1. Ізоцитрат – α-кетоглутарат	НАД	3
2. α-кетоглутарат – сукциніл-КоА	НАД	3
3. Сукциніл-КоА – сукцинат	ГДФ	1
4. Сукцинат – фумарат	ФАД	2
5. Малат – оксалоацетат	НАД	3
Усього		12

Таким чином, при повному окисленні однієї молекули ацетил-КоА до CO_2 та H_2O в циклі трикарбонових кислот генерується 12 молекул АТФ.

Анаплеротичні та амфіболічні реакції. Анаплеротичні реакції - реакції клітинного метаболізму, що підвищують концентрацію субстратів трикарбонового циклу, утворюючи їх з інтермедіатів інших метаболічних шляхів (зокрема, амінокислот, пірувату). Активуючи ЦТК, анаплеротичні реакції сприяють посиленню інтенсивності катаболічних процесів в організмі.

Утворення субстратів ЦТК в анаплеротичних реакціях:

1. Перетворення амінокислот на дикарбонові кислоти - субстрати ЦТК:
   - утворення α-кетоглутарату в реакціях трансамінування;
   - утворення оксалоацетату в реакціях трансамінування;
   - утворення α-кетоглутарату в глутаматдегідрогеназній реакції;
   - утворення сукциніл-КоА з ізолейцину, валіну, метіоніну, треоніну.
2. Утворення оксалоацетату з пірувату в піруваткарбоксилазній реакції:

Піруват + CO_2 + АТФ → Оксалоацетат + АДФ + Фн

Коферментом піруваткарбоксилази є біотин (вітамін Н), який у ході реакції оборотно акцептує CO_2, утворюючи N-карбоксибіотин.

Піруваткарбоксилаза — алостеричний фермент, позитивним модулятором якого є ацетил-КоА. За умов низької внутрішньоклітинної концентрації ацетил-КоА активність ферменту і, відповідно, швидкість піруваткарбоксилазної реакції низькі. Накопичення ацетил-КоА, що спостерігається при активації катаболічних процесів, стимулює через утворення оксалоацетату інтенсивність ЦТК і активність окислення його головного субстрату - ацетил-КоА.

Утворення оксалоацетату з пірувату під дією піруваткарбоксилази є найважливішою анаплеротичною реакцією в клітинах печінки та нирок.

3. Утворення оксалоацетату з фосфоенолпірувату:

Фосфоенолпіруват + CO_2 + ГДФ → Оксалоацетат + ГТФ

Реакція каталізується фосфоенолпіруваткарбоксикіназою. При цьому відбувається утворення макроергічного нуклеозидтрифосфату ГТФ за рахунок розщеплення високоенергетичного зв'язку в молекулі фосфоенолпірувату - метаболіту гліколізу.

Фосфоенолпіруваткарбоксикіназна реакція є анаплеротичною реакцією ЦТК, що має місце в міокарді та інших м'язових тканинах. Ця ж реакція, за умов її перебігу у зворотному напрямку, використовується в процесі синтезу глюкози.

Амфіболічні реакції - реакції, що застосовують субстрати ЦТК для утворення інтермедіатів, необхідних для біосинтетичних процесів:

1) у ролі амфіболічних можуть виступати реакції, обернені для розглянутих вище перетворень амінокислот - у цьому випадку дикарбонові кислоти, що утворюються в ЦТК, стимулюють процеси білкового синтезу;

2) важливою реакцією синтезу глюкози (глюконеогенезу) є утворення фосфоенолпірувату з оксалоацетату та ГТФ, тобто фосфоенолпіруваткарбоксикіназна реакція за умов її перебігу в напрямку, оберненому до розглянутого вище анаплеротичного процесу.

Контрольні питання

1. Надайте загальну характеристику ЦТК.
2. Наведіть спрощену схему функціонування ЦТК.
3. Які ферменти беруть участь у ЦТК?
4. Охарактеризуйте енергетичний баланс ЦТК.
5. Поясніть поняття «анаплеротичні реакції», «амфіболічні реакції».

ЛЕКЦІЯ 19

МЕТАБОЛІЗМ ВУГЛЕВОДІВ. АЕРОБНЕ ОКИСЛЕННЯ ГЛЮКОЗИ

Шляхи катаболізму моносахаридів. Основним моносахаридом, що в результаті катаболічних реакцій окислення до кінцевих простих продуктів утворює найбільшу кількість АТФ, є D-глюкоза, переважним джерелом якої в організмі людини та тварин є крохмаль рослинних продуктів харчування. Інші прості вуглеводи, що надходять до організму в складі їжі, підлягають метаболічним перетворенням переважно після їх трансформації у фосфорні ефіри глюкози.

Основні шляхи внутрішньоклітинного катаболізму глюкози:

- аеробне окислення, в результаті якого глюкоза розщеплюється до двоокису вуглецю та води;
- гліколітичний шлях розщеплення {гліколіз), в результаті якого глюкоза утворює проміжні продукти катаболізму (піровиноградну або молочну кислоту).

Глюкоза, яка всмоктується в кров у кількості, що перевищує безпосередні енергетичні потреби організму, відкладається про запас у вигляді глікогену («тваринного крохмалю») або використовується для синтезу триацилгліцеролів жирової тканини.

Вторинні шляхи перетворення глюкози, що призводять до утворення біологічно важливих метаболітів:

- пентозофосфатний шлях окислення глюкози, в результаті якого утворюються необхідні для інших реакцій метаболізму фосфорні ефіри моносахаридів (пентоз, тріоз тощо) та відновлена форма НАДФ (НАДФН);
- перетворення глюкози на глюкуронову кислоту;

- перетворення глюкози на аскорбінову кислоту (метаболічний шлях функціонує лише у деяких видів тваринних організмів).

Аеробне окислення глюкози. В умовах нормального клітинного дихання аеробне окислення є переважаючим для більшості тканин тваринних організмів і найбільш ефективним шляхом метаболізму глюкози з точки зору енергетичної цінності:

$$C_6H_{12}O_6 + 6\ O_2 \longrightarrow 6\ CO_2 + 6\ H_2O$$

1. Розщеплення глюкози до піровиноградної кислоти. Продуктом цього гліколітичного етапу розщеплення глюкози є піруват, а також дві молекули відновленого НАД і дві молекули АТФ:

$$C_6H_{12}O_6 + 2\ НАД + 2\ АДФ + 2\ Ф_Н \longrightarrow 2\ C_3H_4O_3 + 2\ НАДН + 2\ H^+ + 2\ АТФ$$

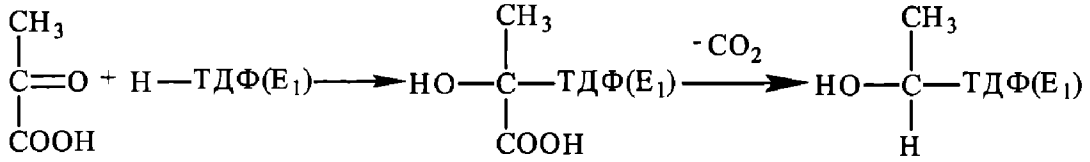
Окислення в дихальному ланцюгу мітохондрій утворюваних на цьому етапі двох молекул НАДН супроводжується генерацією за рахунок окисного фосфорилування шести (2х3) молекул АТФ.

2. Окислювальне декарбоксилування піровиноградної кислоти. В результаті цього процесу утворюється ацетилкоензим А - основний субстрат окислення в циклі трикарбонових кислот - та відновлена форма НАД:

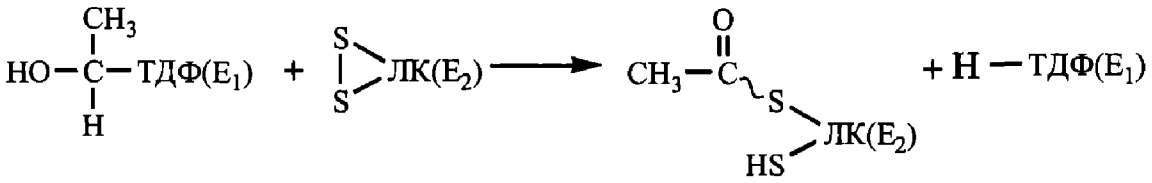
$$CH_3–CO–COOH + НАД + КоА–SH \longrightarrow CH_3–CO–КоА + НАДН + H^+ + CO_2$$

Окислювальне декарбоксилування пірувату каталізується піруватдегідрогеназним комплексом - мультиферментною системою, яка в клітинах еукаріотів міститься в мембранах мітохондрій, а у прокаріотів - у цитоплазмі. До складу цього комплексу входять три ферменти, що каталізують три послідовні стадії перетворення пірувату на ацетил-КоА: піруватдегідрогеназа, дигідроліпоїлацетилтрансфераза, дигідроліпоїлдегідрогеназа та п'ять коферментів і простетичних груп: тіаміндифосфат (ТДФ), коензим А (КоА), ліпоєва кислота (ЛК), НАД, ФАД.

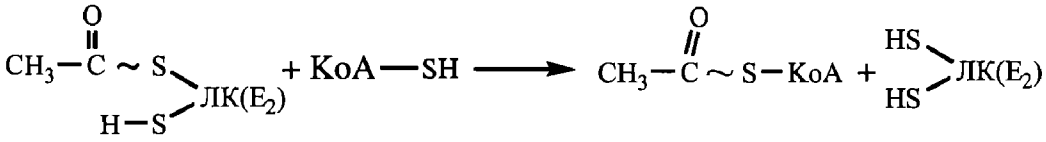
Стадія I - каталізується піруватдегідрогеназою (E_1), коферментом якої є ТДФ. На цій стадії відбувається взаємодія пірувату з С-2 тіазольного кільця молекули тіаміну; в результаті реакції утворюється зв'язана із ферментом гідроксиетильна похідна тіаміндифосфату:



Стадія II - каталізується центральним ферментом комплексу дигідроліпоїлацетилтрансферазою (E_2), яка переносить гідроксиетильну групу від ТДФ(E_1) на простетичну групу ферменту E_2, що є окисленою формою ліпоєвої кислоти (ЛК); в результаті реакції утворюється ацетилтіоефір відновлених ліпоїльних груп ферменту E_2, що містить макроергічний зв'язок:



Стадія III - дигідроліпоїлацетилтрансфераза переносить ацетильну групу від відновленої ліпоєвої кислоти на коензим А:



Стадія IV - окислення відновленої форми ферменту E_2 ФАД-залежною дигідроліпоїлдегідрогеназою (E_3):

Стадія V - перенесення атомів водню від відновленої ФАД-групи дигідроліпоїлдегідрогенази на НАД з утворенням НАДН:

Відновлений НАДН, що утворюється в результаті окислювального декарбоксилування пірувату, в аеробних умовах окислюється в мітохондріальному електронотранспортному ланцюгу з генерацією шести (2х3) молекул АТФ.

3. Окислення ацетил-КоА до двоокису вуглецю та води в циклі трикарбонових кислот. Цикл трикарбонових кислот, функціонально та біохімічно спряжений із ланцюгом електронного транспорту в мембранах мітохондрій, завершує аеробне окислення глюкози до CO_2 та H_2O, генеруючи 12 молекул АТФ на кожну молекулу ацетил-КоА, що розщеплюється.

Контрольні питання

1. Перелічте шляхи катаболізму моносахаридів.
2. В чому полягає сутність аеробного окислення глюкози?
3. Наведіть реакції аеробного окислення глюкози.
4. Які ферменти приймають участь у біологічному окисленні глюкози?
5. Охарактеризуйте енергетику реакцій аеробного окислення глюкози.

ЛЕКЦІЯ 20

ГЛІКОЛІЗ

Гліколіз. Гліколіз (шлях Ембдена - Мейєргофа) - центральний шлях катаболізму глюкози, сукупність ферментативних реакцій, в результаті яких шестивуглецева молекула глюкози $C_6H_{12}O_6$ розщеплюється до двох тривуглецевих молекул піровиноградної або молочної кислоти. Гліколіз є шляхом катаболізму глюкози, в якому кисень не бере безпосередньої участі,

проте за рахунок наявності в гліколізі окислювально-відновлювальних реакцій, у результаті гліколітичного розщеплення глюкози генерується дві молекули АТФ.

Гліколіз є різновидом бродіння - біохімічного процесу, за рахунок якого забезпечують свою потребу в енергії у формі АТФ більшість існуючих на Землі анаеробних організмів або аеробів при функціонуванні в умовах недостатнього забезпечення молекулярним киснем. Поширеним типом бродіння в анаеробів є утворення з глюкози етилового спирту - процес, що каталізується ферментами дріжджів і широко використовується для виробництва алкогольних напоїв:

$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow 2\ C_2H_5OH + 2\ CO_2$$

В організмі людини та тварин розрізняють:

- аеробний гліколіз, що супроводжується утворенням з однієї молекули глюкози двох молекул піровиноградної кислоти (пірувату):

$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow 2\ C_3H_4O_3 \text{ (піруват);}$$

- анаеробний гліколіз, що супроводжується утворенням з однієї молекули глюкози двох молекул молочної кислоти (лактату):

$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow 2\ C_3H_6O_3 \text{ (лактат)}$$

Для більшості тканин людини та вищих тварин в умовах нормальної життєдіяльності характерний аеробний гліколіз, тобто утворення з глюкози пірувату, який у подальшому окислюється до вуглекислого газу й води.

Анаеробний гліколіз має місце переважно в м'язах при інтенсивній фізичній діяльності, тобто при відносній кисневій недостатності, та в деяких високоспеціалізованих клітинах (зокрема в еритроцитах, в яких відсутні мітохондрії) або за певних патологічних умов (клітини злоякісних пухлин).

Реакції гліколізу перебігають у цитозолі клітини і каталізуються ферментами, що локалізовані в цьому компартменті.

Виділяють дві стадії гліколізу:

1. Розщеплення молекули глюкози до двох молекул фосфотріоз (гліцеральдегід-3-фосфату та діоксіацетонфосфату). Ця стадія включає в себе послідовність реакцій, які потребують витрати двох молекул АТФ на кожну молекулу глюкози, що розщеплюється.

2. Перетворення двох молекул фосфотріоз на дві молекули пірувату (або лактату). Ця стадія включає в себе окислювально-відновлювальні реакції («гліколітична оксидоредукція»), які супроводжуються генерацією чотирьох молекул АТФ.

Таким чином, у результаті розщеплення однієї молекули глюкози в реакціях аеробного або анаеробного гліколізу сумарний вихід АТФ складає дві молекули, що можна подати таким рівнянням:

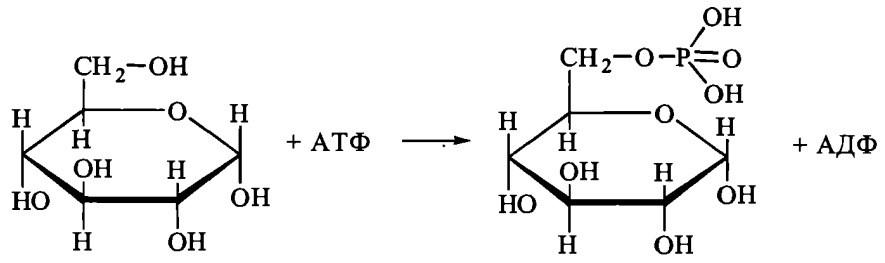
$$\text{D-глюкоза} + 2\ \text{АДФ} + 2\ \Phi_н \rightarrow 2\ \text{піруват(лактат)} + 2\ \text{АТФ}.$$

Ферментативні реакції гліколізу. Реакції аеробного та анаеробного гліколізу повністю співпадають на першій стадії розщеплення глюкози і розрізняються лише після утворення пірувату, який для аеробного гліколізу є кінцевим продуктом, а для анаеробного - метаболітом, який відновлюється до

лактату. Крім того, анаеробний та аеробний типи гліколізу розрізняються за метаболічною «долею» відновленого НАД (НАДН), що утворюється на етапі гліколітичної оксидоредукції.

1. Активація молекули глюкози шляхом її фосфорилування до фосфорного ефіру - глюкозо-6-фосфату. Джерелом фосфату в реакції є молекула АТФ:

α-D-глюкоза + АТФ ⟶ Глюкозо-6-фосфат + АДФ

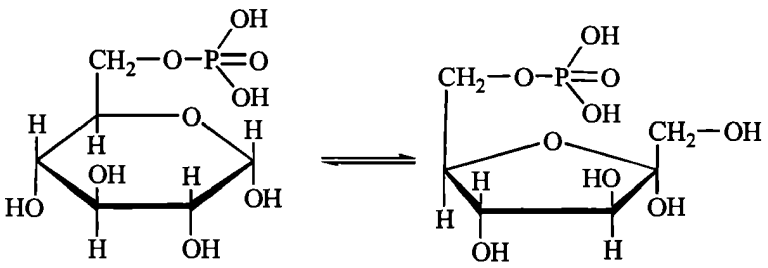


α-D-глюкоза D-глюкозо-6-фосфат

Ця реакція каталізується ферментом гексокіназою, яка найбільш активна у м'язовій тканині. У клітинах печінки в утворенні глюкозо-6-фосфату з вільної молекули глюкози значну роль відіграє також фермент глюкокіназа. Гексокіназа здатна фосфорилувати різні гексози. Глюкокіназа специфічна для глюкози, проте її активність проявляється лише при концентраціях глюкози в крові, що перевищують фізіологічний рівень глікемії (аліментарна гіперглікемія, цукровий діабет).

2. Перетворення (ізомеризація) глюкозо-6-фосфату у фруктозо-6-фосфат:

D-глюкозо-6-фосфат ⟷ D-фруктозо-6-фосфат

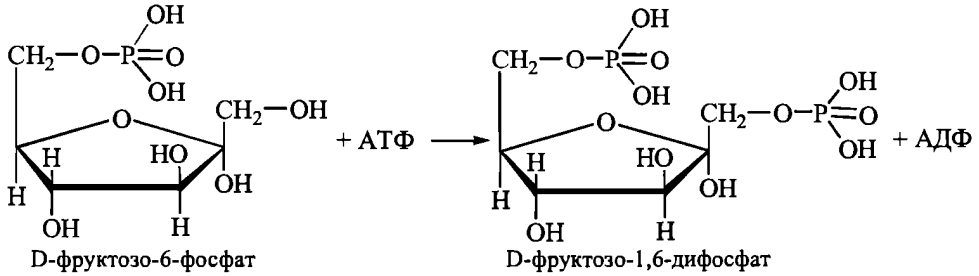


D-глюкозо-6-фосфат D-фруктозо-6-фосфат

Реакція каталізується ферментом фосфогексоізомеразою і є оборотною, тобто легко перебігає в обох напрямках залежно від переважної концентрації субстрату (глюкозо-6-фосфату чи фруктозо-6-фосфату, відповідно). У фізіологічних умовах рівновагу реакції зсунуто праворуч у зв'язку з використанням фруктозо-6-фосфату в подальших реакціях гліколізу.

3. Фосфорилування фруктозо-6-фосфату з утворенням фруктозо-1,6-дифосфату. Джерелом фосфату, як і в 1-й реакції гліколізу, є молекула АТФ:

D-фруктозо-6-фосфат + АТФ ⟶ D-фруктозо-1,6-дифосфат + АДФ

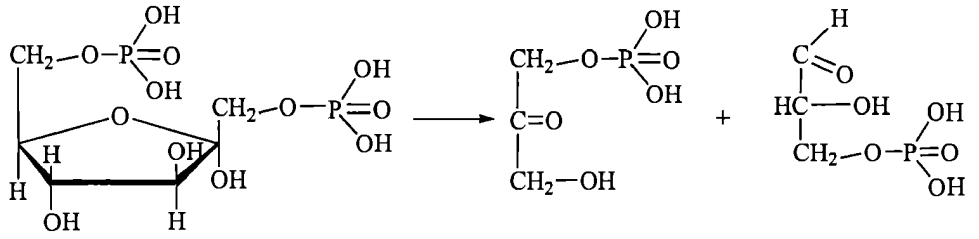


D-фруктозо-6-фосфат D-фруктозо-1,6-дифосфат

Ферментом, що каталізує цю реакцію, є фосфофруктокіназа, яка належить до регуляторних ферментів гліколізу з алостеричним механізмом регуляції.

4. Розщеплення фруктозо-1,6-дифосфату на дві молекули фосфотріоз шляхом розриву ковалентного -С-С- зв'язку між 3-м та 4-м атомами вуглецю в шестивуглецевому ланцюгу фруктозо-1,6-дифосфату. Реакція каталізується ферментом фруктозо-1,6-дифосфатальдолазою (альдолазою). У результаті альдолазної реакції утворюються діоксіацетонфосфат (ДОАФ) та гліцеральдегід-3-фосфат (Г-3-Ф):

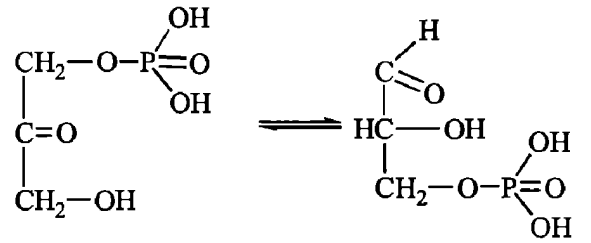
D-фруктозо-1,6-дифосфат ⟶ Діоксіацетонфосфат + Гліцеральдегід-3-фосфат



D-фруктозо-1,6-дифосфат Діоксіацетонфосфат Гліцеральдегід-3-фосфат

5. Взаємоперетворення двох фосфотріоз (ДОАФ та Г-3-Ф), що каталізується ферментом тріозофосфатізомеразою:

Діоксіацетонфосфат ⇌ Гліцеральдегід-3-фосфат



Діоксіацетоифосфат Гліцеральдегід-3-фосфат

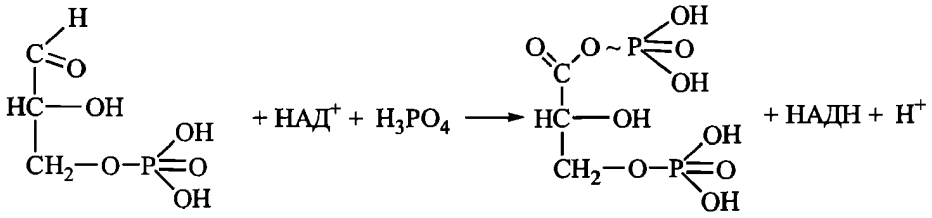
Оскільки за фізіологічних умов рівновагу даної реакції зсунуто праворуч у зв'язку з використанням у подальших реакціях гліколізу саме гліцеральдегід-3-фосфату, сумарним результатом зазначених п'яти реакцій розщеплення глюкози є перетворення однієї молекули глюкози на дві молекули Г-3-Ф:

D-Глюкоза ⟶ 2 мол. Г-3-Ф

6. Окислення гліцеральдегід-3-фосфату до 3-фосфогліцеринової кислоти (3-ФГК). Цей процес (гліколітична оксидоредукція) складається з двох етапів, що каталізуються окремими ферментами:

6.1. Окислення гліцеральдегід-3-фосфату до 1,3-дифосфогліцерату (1,3-дифосфогліцеринової кислоти -1,3-диФГК). Реакція каталізується ферментом гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогеназою, коферментом якого є НАД, що акцептує відновлювальні еквіваленти (електрони) від альдегідної групи Г-3-Ф. У реакції бере також участь неорганічний фосфат:

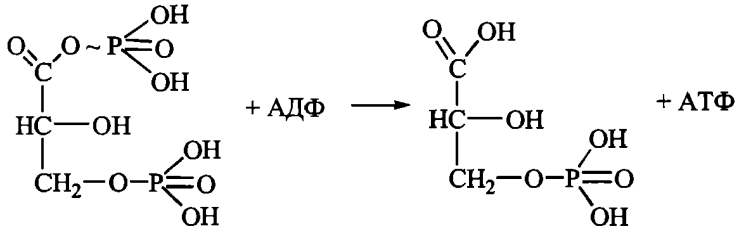
Гліцеральдегід-3-фосфат + НАД + $Ф_н$ ⟶ 1,3-дифосфогліцерат + НАДН + H^+



Гліцеральдегід-3-фосфат 1,3-дифосфогліцерат

6.2. Перетворення 1,3-дифосфогліцерату на 3-фосфогліцерат (3-фосфогліцеринову кислоту - 3-ФГК). Ця реакція супроводжується перенесенням макроергічної фосфатної групи від 1,3-диФГК на АДФ з утворенням молекули АТФ і каталізується ферментом фосфогліцераткіназою:

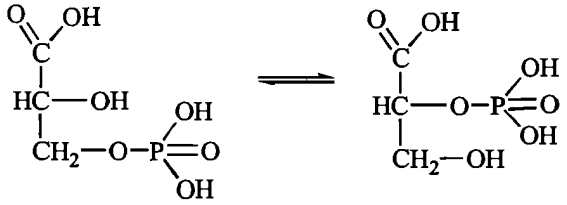
1,3-дифосфогліцерат + АДФ ⟶ 3-фосфогліцерат + АТФ



1,3-дифосфогліцерат 3-фосфогліцерат

7. Перетворення 3-фосфогліцерату на 2-фосфогліцерат (2-фосфогліцеринову кислоту; 2-ФГК). Реакція каталізується ферментом фосфогліцеромутазою:

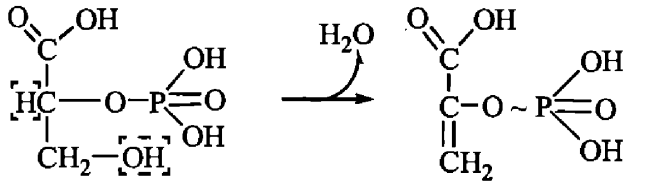
3-фосфогліцерат ⇌ 2-фосфогліцерат



3-фосфогліцерат 2-фосфогліцерат

8. Дегідратація 2-фосфогліцерату з утворенням фосфоенолпірувату (ФЕП). Реакція каталізується ферментом енолазою:

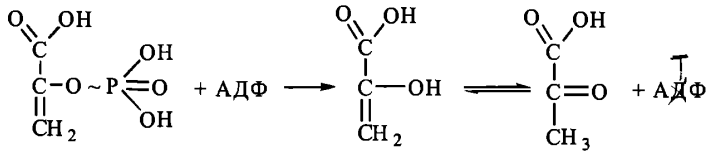
2-фосфогліцерат ⟶ Фосфоенолпіруват + H_2O



2-фосфогліцерат Фосфоеиолпіруват

9. Утворення з фосфоенолпірувату пірувату. Реакція каталізується ферментом піруваткіназою і супроводжується перенесенням макроергічної фосфатної групи від молекули ФЕП на АДФ:

Фосфоенолпіруват + АДФ ⟶ Піруват + АТФ

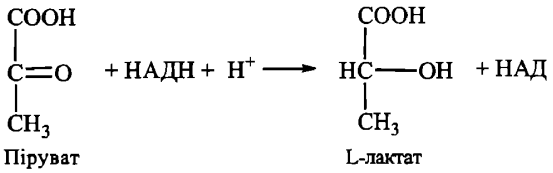


Фосфоеиолпіруват Піруват (енольна та кето-форми)

Піруваткіназна реакція є заключною для аеробного гліколізу. В її результаті утворюються дві молекули пірувату та дві молекули АТФ (на кожну молекулу глюкози, яка стає на шлях гліколітичного розщеплення). Піруваткіназа, як і фосфофруктокіназа, є регуляторним ферментом, на рівні якого здійснюється регуляція гліколізу.

В аеробних умовах кінцевим продуктом гліколізу в тваринних тканинах є піруват; при цьому НАДН, що утворився в результаті окислення гліцеральдегід-3-фосфату, реокислюється в мітохондріях за рахунок молекулярного кисню. За умов анаеробного гліколізу (наприклад, в інтенсивно працюючих скелетних м'язах або в молочнокислих бактеріях) гліколітичний НАДН не віддає свої відновлювальні еквіваленти в дихальний ланцюг мітохондрій, а використовується для відновлення пірувату до L-лактату:

Піруват + НАДН + H^+ ⟶ L-лактат + НАД



Піруват L-лактат

Реакція каталізується ферментом лактатдегідрогеназою, яка існує у вигляді п'яти різних ізоферментних форм, що відрізняються за своїми кінетичними властивостями.

Таким чином, ферментативні реакції анаеробного гліколізу майже повністю співпадають із реакціями аеробного гліколізу, відрізняючись лише на етапі, що відбувається після утворення пірувату: при аеробному гліколізі піруват є субстратом перетворення на ацетилкоензим А та подальшого окислення, а при анаеробному гліколізі піруват відновлюється до лактату за рахунок НАДН, що утворився в реакціях гліколітичної оксидоредукції. Інакше

кажучи, після утворення пірувату подальше його перетворення може відбуватися за одним із двох альтернативних шляхів, що залежать від стану окислювально-відновлювальних процесів у певній тканині:

- в аеробних умовах відбувається окисне декарбоксилування пірувату до ацетил-КоА, який у подальшому окислюється до CO_2 та H_2O в циклі Кребса; НАДН, що утворився при окисленні гліцеральдегід-3-фосфату, віддає свої відновлювальні еквіваленти на дихальний ланцюг мітохондрій через спеціальні човникові механізми;

- в анаеробних умовах (або в умовах гіпоксії) реокислення гліколітичного НАДН відбувається за рахунок дії лактатдегідрогенази, яка відновлює піруват до лактату; перебіг лактатдегідрогеназної реакції в даному напрямку генерує НАД, що знову використовується для окислення гліцеральдегід-3-фосфату і подальшого накопичення лактату як продукту анаеробного гліколізу. Така послідовність реакцій найбільш характерна для інтенсивно працюючих скелетних м'язів; крім скелетних (мітохондрії) м 'язів та еритроцитів, клітини деяких інших органів і тканин (головного мозку, шлунково-кишкового тракту, мозкового шару нирок, сітківки та шкіри) частково задовольняють свої енергетичні потреби за рахунок анаеробного гліколізу, утворюючи молочну кислоту.

Контрольні питання

1. Перелічте види гліколізу.
2. В чому полягає сутність гліколітичного розщеплення глюкози?
3. Наведіть реакції гліколізу.
4. Які ферменти приймають участь у гліколізі?
5. Охарактеризуйте енергетику реакцій гліколізу.

ЛЕКЦІЯ 21

ПЕНТОЗОФОСФАТНИЙ ШЛЯХ МЕТАБОЛІЗМУ ГЛЮКОЗИ

Пентозофосфатний шлях метаболізму глюкози. Гліколітичний шлях окислення глюкози генерує НАДН та АТФ як джерела енергії для ендергонічних процесів у біологічних системах. Разом з тим, існує альтернативний механізм метаболізму глюкози - пентозофосфатний (фосфоглюконатний) шлях, в результаті функціонування якого утворюється інший тип метаболічної енергії, а саме - відновлений НАДФ (НАДФН), що в подальшому використовується у різних реакціях відновлювального біосинтезу, зокрема синтезу ліпідів. Крім генерації НАДФН, пентозофосфатний шлях є постачальником пентоз, необхідних для синтезу багатьох важливих біомолекул.

Реакції та ферменти пентозофосфатного шляху (ПФШ) окислення глюкози локалізовані в цитозолі клітин. Сумарне рівняння процесу має вигляд:

$$6\ \text{Глюкозо-6-фосфат} + 12\ \text{НАДФ} + 7\ H_2O \longrightarrow 5\ \text{Глюкозо-6-фосфат} + 12(\text{НАДФН} + H^+) + 6\ CO_2 + \Phi_н$$

В результаті реакцій одна (з шести) молекула глюкозо-6-фосфату повністю окислюється з вивільненням діоксиду вуглецю та акумуляцією відновлювальних еквівалентів (дванадцяти атомів водню) у вигляді НАДФН.

Загальний процес складається із двох стадій:

І стадія - окислювальна, в ході якої активована молекула глюкози (шість молекул глюкозо-6-фосфату) дегідрується та декарбоксилюється з утворенням фосфорилованої пентози - рибулозо-5-фосфату (шість молекул); на відміну від гліколізу, акцептором водню в реакціях дегідрування є НАДФ:

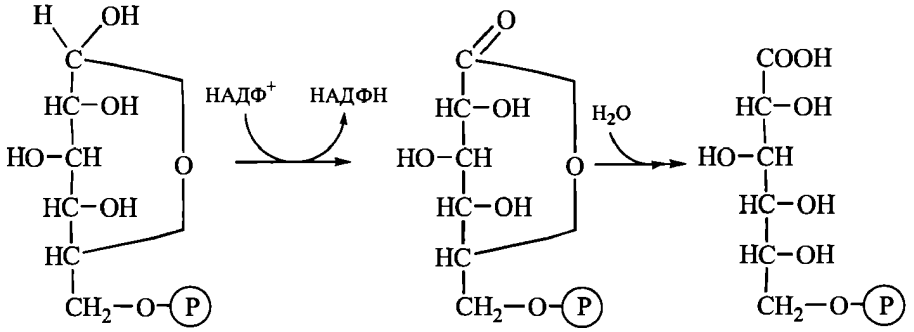
$$6\ \text{глюкозо-6-фосфат} + 12\ \text{НАДФ}^+ + 6\ H_2O \longrightarrow 6\ \text{рибулозо-5-фосфат} + 12(\text{НАДФН} + H^+) + 6\ CO_2$$

ІІ стадія - стадія ізомерних перетворень, в ході якої рибулозо-5-фосфат (шість молекул) знову перетворюється на глюкозо-6-фосфат (п'ять молекул):

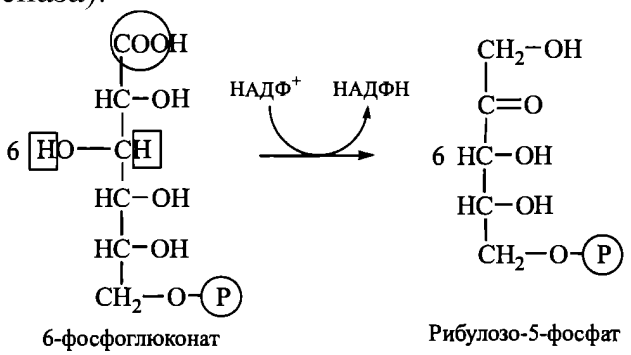
$$6\ \text{Рибулозо-5-фосфат} + H_2O \longrightarrow 5\ \text{Глюкозо-6-фосфат} + \Phi_н$$

І стадія. Окислювальна стадія полягає в послідовному дегідруванні двох метаболітів ПФЦ -вихідного субстрату глюкозофосфату та інтермедіату 6-фосфоглюконату НАДФ-залежними дегідрогеназами.

1.1. Окислення глюкозо-6-фосфату (шести молекул) до 6-фосфоглюконолактону (фермент - НАДФ-залежна глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа) з подальшим гідролізом лактону до 6-фосфоглюконату (фермент - лактоназа):

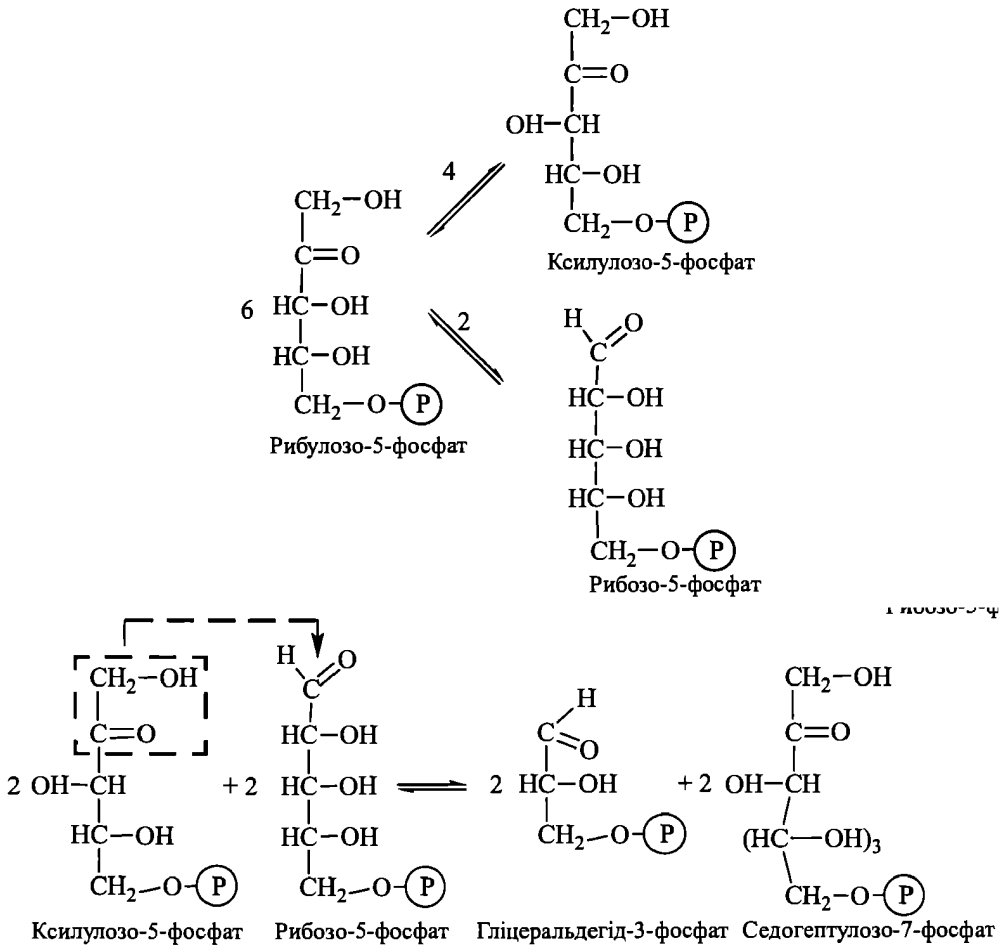


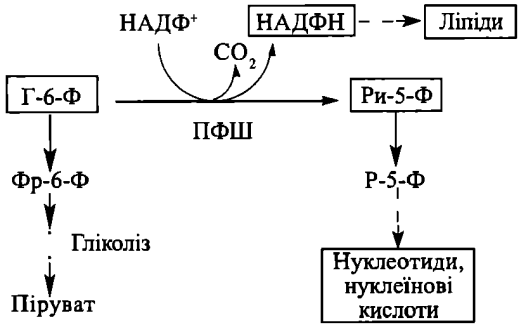
1.2. Окислювальне декарбоксилування 6-фосфоглюконату до кетопентози - D-рибулозо-5-фосфату (фермент - НАДФ-залежна 6-фосфоглюконатдегідрогеназа):



Утворенням рибулозо-5-фосфату (який може легко перетворюватися у свій ізомер рибозо-5-фосфат), тобто окислювальною стадією, функціонування пентозофосфатного шляху може завершуватися. Така метаболічна ситуація відбувається в печінці, надниркових, статевих залозах, лактуючій молочній залозі, тобто в тканинах з переважанням анаболічних процесів із збалансованою потребою в НАДФН (необхідному для синтезу жирних кислот, стероїдів) та рибозо-5-фосфаті (необхідному для синтезу нуклеотидів, нуклеїнових кислот).

II стадія. Ця стадія починається з ізомеризації рибулозо-5-фосфату і полягає в ізомерних перетвореннях цукрофосфатів.



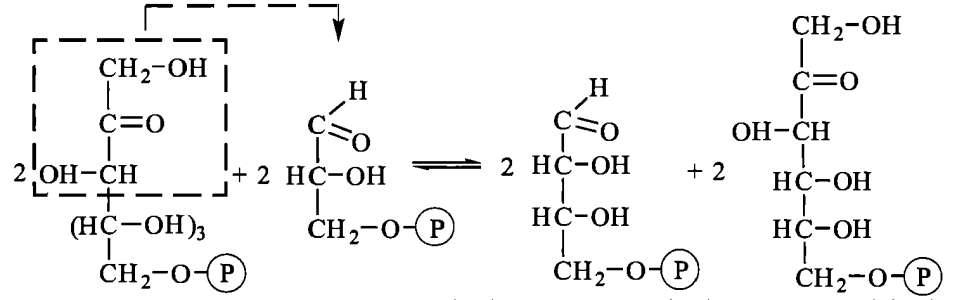


II. 1. Ізомеризація шести молекул рибулозо-5-фосфату шляхом його перетворення в чотири молекули ксилулозо-5-фосфату (фермент -

фосфопентоепімераза) та в дві молекули рибозо-5-фосфату (фермент-фосфопентоізомераза):

II.2. Перша транскетолазна реакція - взаємодія двох молекул ксилулозо-5-фосфату з двома молекулами рибозо-5-фосфату з утворенням гліцеральдегід-3-фосфату та седогептулозо-7-фосфату (по дві молекули, відповідно):

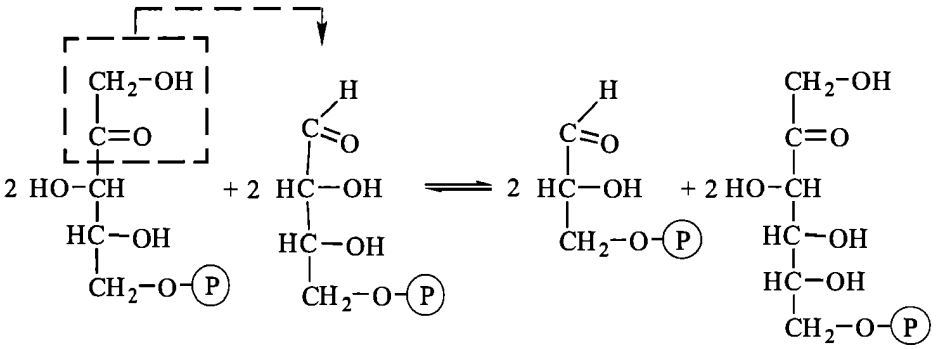
II.3. Трансальдолазна реакція — взаємодія двох молекул седогептулозо-7-фосфату з двома молекулами гліцеральдегід-3-фосфату з утворенням еритрозо-4-фосфату та фруктозо-6-фосфату (по дві молекули, відповідно):



Седогептулозо-7-фосфат Гліцеральдегід-3-фосфат Еритрозо-4-фосфат Фруктозо-6-фосфат

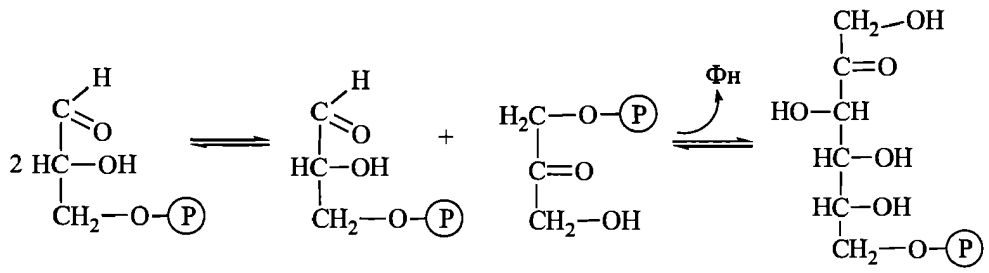
Ці етапи є перетином ПФШ із гліколізом: гліцеральдегід-3-фосфат, що утворився на етапі II.2., може надходити до фонду метаболітів гліколізу, або продукти реакції II.3. вступають в другу транскетолазну реакцію, тобто перетворюються по шляху ПФЦ.

II.4. Друга транскетолазна реакція полягає у взаємодії двох молекул ксилулозо-5-фосфату (утворених в реакції II. 1.) із двома молекулами еритрозо-4-фосфату (утвореним у попередній реакції - П.3.); продукти реакції - гліцеральдегід-3-фосфат та фруктозо-6-фосфат (по дві молекули):



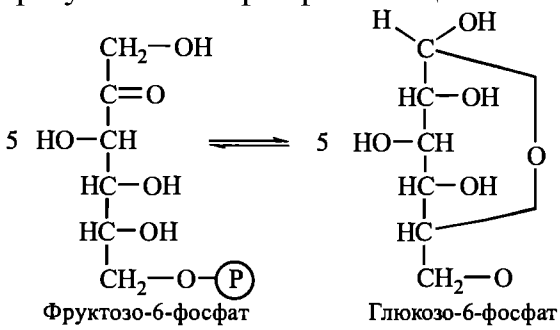
Ксилулозо-5-фосфат Еритрозо-4-фосфат Гліцеральдегід-3-фосфат Фруктозо-6-фосфат

II.5. Дві молекули глщеральдегід-3-фосфату, утворені в реакції II.4, можуть (через стадію ізомеризації в діоксіацетонфосфат) конденсуватися в молекулу фруктозо-6-фосфату:



Гліцеральдегід-3-фосфат Гліцеральдегід-3-фосфат Діоксіацетонфосфат Фруктозо-6-фосфат

II.6. Ізомеризація п'яти молекул фруктозо-6-фосфату (утворених у реакціях II.3, II.4 та II.5) в п'ять молекул глюкозо-6-фосфату (фермент - фосфогексоізомераза) завершує пентозофосфатний цикл.



Пентозофосфатний шлях окислення глюкози має важливе фізіологічне значення для функціонування інших анаболічних механізмів, а саме:

1) за рахунок функціонування пентозофосфатного шляху метаболізму глюкози в організмі утворюється приблизно половина пулу НАДФН (решта - в результаті дії НАДФ-залежних ізоцитратдегідрогенази та малатдегідрогенази), що використовується у відновлювальних синтезах жирних кислот та стероїдів;

2) пентозофосфатний шлях є постачальником рибозо-5-фосфату, який використовується для утворення нуклеотидів нуклеїнових кислот ДНК та РНК, коферментних біомолекул НАД (НАДФ), ФАД, АТФ, КоА, циклічних нуклеотидів 3',5'-АМФ та 3',5'-ГМФ.

У зв'язку із зазначеними біохімічними функціями, реакції пентозофосфатного шляху найбільш активно перебігають у тканинах із вираженим анаболізмом, у клітинах яких особливо інтенсивно відбуваються синтези ліпідів, вільних нуклеотидів та нуклеїнових кислот - у жировій тканині, печінці, молочній залозі в період лактації, корі надниркових залоз, сім'яниках. У тканинах з переважанням окислювального метаболізму, зокрема скелетних м'язах, реакції пентозофосфатного шляху перебігають на дуже низькому рівні.

Оскільки при циклічному функціонуванні пентозофосфатного шляху основним продуктом усього процесу є саме генерація НАДФН, ПФШ має характер метаболічного циклу в адипоцитах жирової тканини, де головною його функцією є саме генерація відновлювальних еквівалентів для синтезу ліпідів (тобто існує переважання потреб у НАДФН над потребами в пентозофосфатах). У решті клітин із високим анаболічним потенціалом (де відбувається активний синтез як ліпідів, так і нуклеотидів) - тканини із збалансованими потребами в НАДФН та пентозофосфатах - пентозофосфатний шлях або закінчується на окислювальній стадії, або переходить у гліколітичний шлях окислення глюкози на етапі утворення тріозофосфатів;

3) пентозофосфатний шлях активно функціонує в еритроцитах людини. Біологічне значення функціонування ПФЦ у цих клітинах полягає в генерації НАДФН, що необхідний для протидії перешеному окисленню ненасичених жирних кислот фосфоліпідів еритроцитарних мембран, тобто для попередження гемолізу еритроцитів.

Біосинтез глюкози. Головним джерелом глюкози як метаболічного палива для організму людини є її надходження з харчовими продуктами у

вигляді полісахариду крохмалю та сахарози. Надлишок глюкози, що не використовується в окислювальних реакціях аеробного та анаеробного гліколізу, відкладається у вигляді енергетичних депо - глікогену та триацилгліцеролів. Втім, існують метаболічні шляхи, що забезпечують організм глюкозою за рахунок її синтезу з невуглеводних біомолекул.

Глюконеогенез (гліконеогенез) - синтез глюкози з невуглеводних метаболічних попередників, до яких належать: піруват (та лактат); деякі амінокислоти (глюкогенні амінокислоти); певна кількість глюкози може утворюватися з гліцеролу та продуктів катаболізму жирних кислот з непарною кількістю вуглецевих атомів у вуглеводневому ланцюгу.

Реакції глюконеогенезу відбуваються переважно в печінці та в деякій мірі у корковому шарі нирок, оскільки в клітинах саме цих органів присутній повний набір необхідних ферментів.

За добу в організмі дорослої людини синтезується до 80 г глюкози. Біосинтез глюкози забезпечує її нормальну концентрацію в умовах зменшеного надходження моносахариду із зовнішнього середовища та вичерпання головного акумульованого джерела глюкози - глікогену печінки та м'язів. Така фізіологічна ситуація спостерігається через декілька годин після прийому їжі (постабсорбтивний стан, що відбувається зранку, натщесерце), в умовах тривалого голодування, після виснажливої фізичної роботи. Особливо чутливий до зменшення внутрішньоклітинної концентрації глюкози головний мозок людини, для якого глюкоза є основним субстратом енергетичного обміну, що споживається в кількості близько 120 г за добу.

Сумарна реакція глюконеогенезу має вигляд:

$$\begin{aligned} &\textbf{2 Піруват + 4 АТФ + 2 ГТФ +} \\ &\textbf{+ 2 НАДН + 2 } H^+ \textbf{ + 4 } H_2O \longrightarrow \\ &\textbf{Глюкоза + 2 НАД + + 4 АДФ +} \\ &\textbf{+ 2 ГДФ + 6 } Ф_н \end{aligned}$$

Загальну схему глюконеогенезу подано на рис. 21.1, де суцільними стрілками позначені реакції глюконеогенезу, перервними - реакції гліколізу та ЦТК. Безпосередніми попередниками глюкози при її синтезі (та, власне, метаболітами глюконеогенезу) є піруват, оксалоацетат та фосфоенолпіруват. Амінокислоти, які в результаті втрати аміногрупи (в реакціях дезамінування або трансамінування) перетворюються в зазначені безазотисті сполуки, можуть, таким чином, розглядатися як субстрати глюконеогенезу; такі амінокислоти отримали назву глюкогенних амінокислот (амінокислоти, вуглеводнева частина яких перетворюється в ацетоацетат або ацетил-КоА, з яких синтез глюкози за рахунок глюконеогенезу неможливий - кетогенні амінокислоти).

Глюконеогенез за участю амінокислот найбільш активний за умов повного голодування, коли підтримання рівня енергетичних процесів в організмі, зокрема нормальної концентрації глюкози крові та головного мозку, здійснюється за рахунок катаболізму власних тканинних білків.

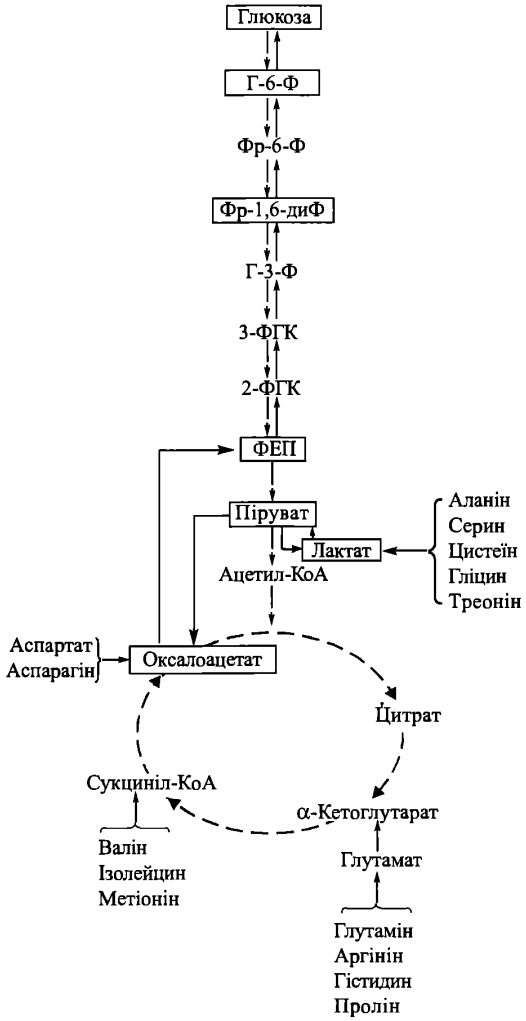


Рис. 21.1 Схема біосинтезу глюкози

Контрольні питання

1. В чому полягає сутність пентозофосфатного шляху катаболізму глюкози?
2. Наведіть реакції пентозофосфатного шляху.
3. Які ферменти приймають участь у ПФШ?
4. Охарактеризуйте енергетику реакцій ПФШ.
5. Охарактеризуйте схему біосинтезу глюкози в організмі людини.

ЛЕКЦІЯ 22

МЕТАБОЛІЗМ ЛІПІДІВ

Ліпіди - нейтральні жири (триацилгліцероли), складні ліпіди (гліцерофосфоліпіди, сфінгофосфоліпіди, гліколіпіди) та стероїди потрапляють до організму людини з їжею і синтезуються внутрішньоклітинно, виконуючи енергетичні, структурні та регуляторні функції.

Шляхи метаболізму ліпідів. Після перетворення у травному каналі та всмоктування ентероцитами кишечнику ліпіди та продукти їх гідролізу

транспортуються кров'ю до різних органів і тканин, де депонуються, утворюючи жирові резерви, які використовуються відповідно до фізіологічних потреб організму.

Основні шляхи внутрішньоклітинного метаболізму ліпідів:

- гідроліз нейтральних жирів до жирних кислот та гліцеролу (ліполіз);
- окислення та біосинтез жирних кислот;
- біосинтез триацилгліцеролів та складних ліпідів;
- біосинтез холестерину та його перетворення в біологічно активні стероїди.

Найбільшу енергетичну роль в організмі людини та тварин відіграють нейтральні жири - триацилгліцероли (тригліцериди) - складні ефіри гліцеролу та вищих карбонових (жирних) кислот, що є, разом з вуглеводами, головними джерелами АТФ, необхідної для всіх ендергонічних функцій клітин та цілісного організму. Різні класи складних ліпідів та похідні стеринів виконують численні структурні та регуляторні функції.

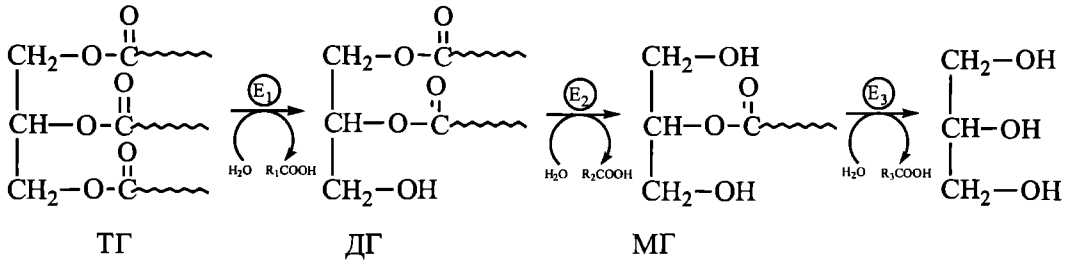
Катаболізм триацилгліцеролів. Ліпіди цього класу розщеплюються у травному каналі до моногліцеридів, вільних жирних кислот та гліцеролу, які після всмоктування в кишечнику та складних біохімічних перетворень в ентероцитах, крові та печінці депонуються в жировій тканині. Накопичення резервів нейтральних жирів є найефективнішим механізмом акумулювання метаболічної енергії, оскільки завдяки високому ступеню відновлення жирнокислотних залишків, що входять до складу молекул триацилгліцеролів, при їх окисленні вивільняється значно більше хімічної енергії, ніж при катаболізмі вуглеводів та білків.

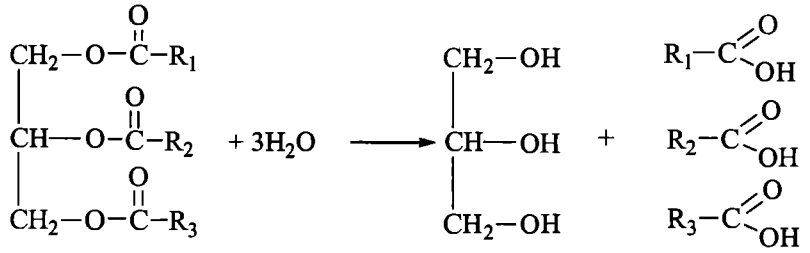
Основне місце локалізації резервних тригліцеридів в організмі людини - адипоцити жирової тканини (ліпоцити), значна частина цитоплазми яких зайнята гігантською сферичною ліпідною краплею.

Жирова тканина, до 65% маси якої припадає на нейтральні жири, є високоспеціалізованою тканиною, що акумулює значні кількості метаболічного палива, енергетична цінність якого суттєво перевищує енергетичні резерви вуглеводів і білків. Маса жирової тканини у дорослої людини середньої ваги дорівнює в середньому 10 кг, і загальний вміст тригліцеридів у ній достатній для забезпечення енергетичних потреб організму протягом принаймні 40 днів голодування.

Ферментативний гідроліз (ліполіз) триацилгліцеролів в адипоцитах та інших клітинах, де накопичуються нейтральні жири, є фізіологічним механізмом, що має суттєве значення як постачальник хімічної енергії, особливо в умовах вичерпання вуглеводних резервів та при стресових ситуаціях. Процес розщеплення триацилгліцеролів із вивільненням жирних кислот, які виходять у кров, отримав назву мобілізації жирних кислот із жирової тканини.

Внутрішньоклітинний ліполіз триацилгліцеролів (ТГ) здійснюється в декілька стадій, продуктами яких є діацилгліцероли (дигліцериди - ДГ), моноацилгліцероли (моногліцериди - МГ), гліцерол та вільні жирні кислоти:





Вільні жирні кислоти (неетерифіковані жирні кислоти - НЕЖК) є субстратами окислення для клітин багатьох тканин, зокрема міокарда, скелетної, гладенької мускулатури тощо, крім головного мозку. Після надходження в плазму крові нерозчинні у водній фазі плазми крові високомолекулярні жирні кислоти транспортуються у зв'язаній із сироватковим альбуміном молекулярній формі.

Продуктами ліполізу триацилгліцеролів та інших гліцеридів є жирні кислоти і гліцерол, що здатні до окислення з генерацією значної кількості АТФ.

Окислення жирних кислот. Субстратами біологічного окислення в організмі людини і тварин є переважно парні жирні кислоти з кількістю вуглецевих атомів 16 та 18, тобто пальмітинова та стеаринова. Окислення жирних кислот відбувається в матриксі мітохондрій у результаті циклічного процесу, який включає в себе послідовне відщеплення від довголанцюгових насичених жирних кислот двовуглецевих фрагментів. Оскільки при цьому

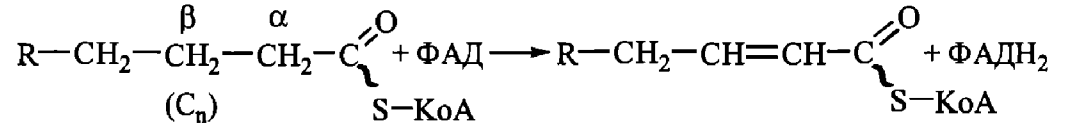
відбувається окислення вуглеводневого радикалу жирної кислоти в 2-му (β-)положенні відносно карбоксильної групи, вся послідовність ферментативних реакцій дістала назви циклу β-окислення.

Передумовою входження жирної кислоти на шлях окислення є її ферментативна активація, тобто перетворення в активну похідну в результаті реакції, що потребує використання молекули АТФ.

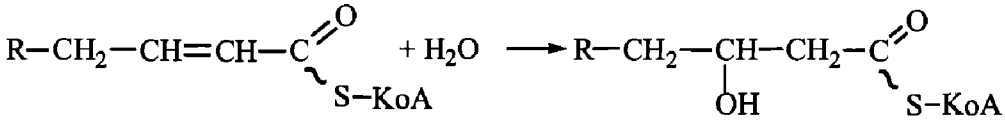
Активація жирних кислот відбувається в цитоплазмі за участю специфічних ферментів ацил-КоА-синтетаз (тіокіназ), що утворюють КоА-похідні жирних кислот:

$$\underset{\text{Жирна кислота}}{R\text{–}COOH} + KoA\text{–}SH + АТФ \longrightarrow \underset{\text{Ацил-КоА}}{R\text{–}CO\text{–}S\text{–}KoA} + АМФ + ФФн$$

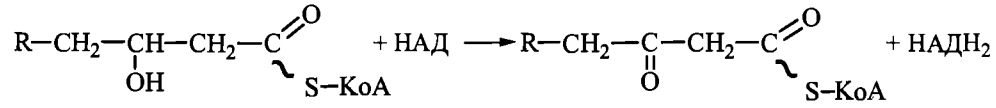
1. Дегідрування КоА-похідних жирних кислот за участю ФАД-залежного ферменту ацил-КоА-дегідрогенази. У результаті реакції утворюється трансненасичена (в положеннях 2,3, або α, β) КоА-похідна жирної кислоти:



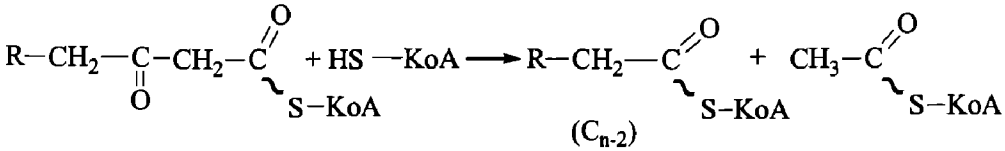
2. Гідратація ненасиченого КоА-ацилу ферментом еноїл-КоА-гідратазою з утворенням спиртової похідної ацил-КоА - 3-оксіацилу-КоА (β-гідроксіацилу-КоА):



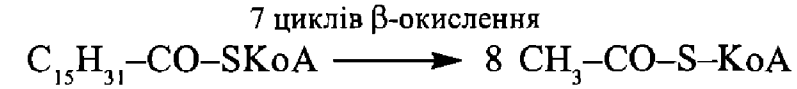
3. Дегідрування оксипохідної ацил-КоА НАД-залежним ферментом 3-оксіацил-КоА-дегідрогеназою. Продукт реакції - 3-кетоацил-КоА (β-кетоацил-КоА):



4. Тіолітичне розщеплення 3-кетоацил-КоА за рахунок взаємодії з молекулою КоА при участі ферменту β-кетоацил-КоА-тіолази. В результаті реакції утворюється молекула КоА-похідної жирної кислоти, скороченої на два вуглецеві атоми, та ацетил-КоА:



У результаті одного циклу β-окислення з молекули жирної кислоти вивільняється одна молекула ацетил-КоА і, відповідно, вихідна молекула ацил-КоА скорочується на два вуглецевих атоми. Легко зрозуміти, що для повного розщеплення до ацетил-КоА будь-якої молекули жирної кислоти з парною кількістю вуглецевих атомів (п) потрібно (п/2 - 1) циклів β-окислення. Виходячи із зазначеного, сумарне рівняння β-окислення поширеної в природних триацилгліцеролах пальмітинової кислоти має вигляд:



У кожному циклі β-окислення вивільняється одна молекула ацетил-КоА, окислення якої в циклі трикарбонових кислот супроводжується утворенням 12 молекул АТФ. β-Окислення пальмітату призводить до утворення 8 молекул ацетил-КоА, повне окислення яких до CO_2 та H_2O дасть 96 (12х8) молекул АТФ.

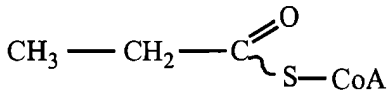
У кожному циклі β-окислення утворюються дві молекули відновлених коферментів - $ФАДН_2$ та НАДН, які можуть віддавати свої відновлювальні еквіваленти до ланцюга електронного транспорту в мітохондріях, що генерує в результаті окисного фосфорилування 2 ($ФАДН_2$) та 3(НАДН), тобто сумарно 5 молекул АТФ. У разі повного окислення пальмітату в 7 циклах β-окислення за рахунок даного механізму утвориться 35 (5х7) молекул АТФ.

Враховуючи витрату 1 молекули АТФ на етапі активації жирної кислоти, загальна кількість молекул АТФ, що може синтезуватися в умовах повного окислення до двооксиду вуглецю та води молекули пальмітату, дорівнює 130

(96+35-1). Виходячи з цього, можна подати сумарне рівняння окислення пальмітинової кислоти в мітохондріях:

$$C_{15}H_{31}COOH + 23\ O_2 + 130\ АДФ + 130\ Ф_н \longrightarrow 16\ CO_2 + 16\ H_2O + 130\ АТФ$$

До складу природних ліпідів входить деяка кількість вищих жирних кислот з непарною кількістю вуглецевих атомів (C_{2n+1}). Перші етапи розщеплення цих жирних кислот також протікають за механізмом β-окислення, яке закінчується утворенням тривуглецевого фрагменту - похідного пропіонової кислоти (C_3) пропіоніл-КоА:



Пропіоніл-КоА є також продуктом розщеплення вуглецевого скелета амінокислот ізолейцину та метіоніну і в подальшому перетворюється через проміжний продукт метилмалоніл-КоА на метаболіт трикарбонового циклу сукциніл-КоА.

Гліцерол, що утворюється при розщепленні триацилгліцеролів або гліцерофосфоліпідів, може вступати на шлях катаболізму (окислення) або знову використовуватися для біосинтезу різних класів гліцеридів

1. Включенню гліцеролу до метаболічних перетворень передує його активація, яка полягає у трансформації за участю АТФ до гліцерол-3-фосфату при дії ферменту гліцеролфосфокінази.

2. Гліцерол-3-фосфат здатний до окислення мітохондріальним ферментом НАД-залежною дегідрогеназою з утворенням гліцеральдегід-3-фосфату.

Гліцеральдегід-3-фосфат є також одним із центральних метаболітів гліколітичного окислення глюкози. Тому подальше перетворення, Г-3-Ф, утвореного при окисленні гліцеролу, співпадає з катаболізмом гліколітичного Г-3-Ф:

В умовах нормального метаболізму здорового організму основним шляхом використання ацетил-КоА, що утворюється при β-окисленні жирних кислот, є цикл трикарбонових кислот. В умовах переключення метаболізму на біосинтетичні шляхи цитоплазматичний ацетил-КоА знову використовується для формування жирних кислот, тобто утворення резервів ліпідів. Разом з тим, у печінці існує фізіологічно важливий шлях утилізації ацетил-КоА, що призводить до утворення молекул альтернативного метаболічного палива, які використовуються в інших тканинах - так званих кетонових {ацетонових) тіл. До кетонових тіл належать ацетоацетат, β-гідроксибутират та ацетон.

Біосинтез вищих жирних кислот. Біосинтез вищих жирних кислот із подальшим їх включенням до складу триацилгліцеролів жирової та інших тканин - ліпогенез - є метаболічним шляхом, що дозволяє акумулювати в організмі людини та тварин значні енергетичні резерви метаболічного палива.

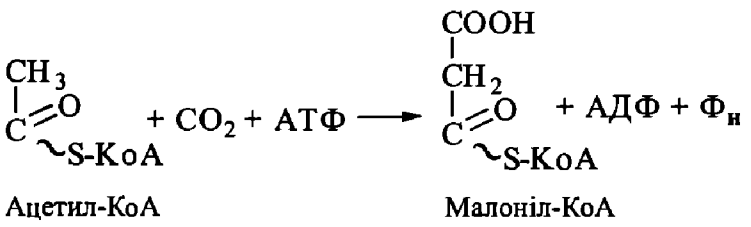
Фізіологічне значення цього процесу пояснюється тією обставиною, що здатність тваринних клітин до створення запасів полісахаридів у вигляді глікогену досить обмежена, і тому глюкоза, що надходить із їжею в кількостях,

які перевищують безпосередні енергетичні потреби організму, перетворюється на жирні кислоти. Найбільш активно синтез жирних кислот відбувається в адипоцитах жирової тканини, гепатоцитах печінки, епітеліальних клітинах молочної залози під час лактації.

В організмі людини і тварин здійснюється синтез насичених жирних кислот із парною кількістю вуглецевих атомів (переважно пальмітату та стеарату); метаболічним джерелом для цього синтезу є ацетил-КоА, який утворюється за рахунок аеробного окислення глюкози.

Ферментні реакції біосинтезу жирних кислот з ацетил-КоА, на відміну від їх окислення, відбуваються в цитоплазмі клітин; основним продуктом цього синтезу є пальмітинова кислота $C_{15}H_{31}COOH$. Безпосереднім донором двовуглецевих фрагментів, що використовуються клітиною для синтезу довголанцюгових жирних кислот, є ацетил-КоА, утворюваний у реакції окислювального декарбоксилування піровату, яка перебігає в матриксі мітохондрій. Оскільки внутрішня мембрана мітохондрій непроникна для ацетил-КоА, то для використання ацетил-КоА в процесі біосинтезу жирних кислот застосовується спеціальна човникова система, яка транспортує мітохондріальний ацетил-КоА в цитозоль.

Ініціація росту вуглецевого ланцюга вищої жирної кислоти відбувається шляхом взаємодії ацетил-КоА з активною формою малонової кислоти - малоніл-КоА, який безпосередньо постачає двовуглецеві субстрати для цього синтезу. Таким чином, у разі біосинтезу пальмітату малоніл-КоА є метаболічним попередником, який стає джерелом 14 з 16 атомів вуглецю пальмітату. Малоніл-КоА утворюється з цитоплазматичного ацетил-КоА та діоксиду вуглецю під дією біотинвмісного ферменту ацетил-КоА-карбоксилази.



Ацетил-КоА Малоніл-КоА

Синтетаза жирних кислот є мультиензимним комплексом, до складу якого входять декілька ферментних білків із каталітичною активністю, що забезпечує послідовне подовження вуглецевого ланцюга (С2, С4, С6 ...) до утворення ацильного залишку з необхідною кількістю вуглецевих атомів (переважно C_{16}). Сукупність ферментних реакцій біосинтезу пальмітинової кислоти називається циклом Лінена.

Пальмітинова кислота (C_{16}), що продукується в результаті дії синтетази вищих жирних кислот, є попередником в утворенні жирних кислот із більшою довжиною ланцюга - C_{18}, C_{20}, C_{22}, C_{24}.

Утворення ненасичених жирних кислот. Мононенасичені кислоти - пальмітоолеїнова та олеїнова містять подвійний зв'язок між 9-м та 10-м атомами вуглецю. Ці жирні кислоти можуть утворюватися в організмі людини за рахунок дегідрування відповідних насичених кислот (пальмітинової C_{16} та стеаринової C_{18}):

$$C_{16} - 2H \longrightarrow C_{16:1}$$
$$C_{18} - 2H \longrightarrow C_{18:1}$$

Утворення зазначеного подвійного зв'язку здійснюється за участю системи десатурації жирних кислот (ацил-КоА-оксигенази).

Поліненасичені кислоти - лінолева та α-ліноленова - попередники в утворенні інших, життєво необхідних ацилів, не можуть синтезуватися в клітинах людського організму у зв'язку з відсутністю ферментних систем, що необхідні для утворення додаткових подвійних зв'язків. Зазначені ферменти присутні в багатьох рослинних організмах, і тому існує потреба в постійному надходженні лінолевої та α-ліноленової кислот в організм як компонентів рослинної їжі, що є незамінними факторами харчування.

У разі надходження цих жирних кислот у складі дієти, ферментні системи ендоплазматичного ретикулуму гепатоцитів за механізмами десатурації та елонгації можуть трансформувати лінолеву кислоту в такі поліненасичені кислоти, як γ-ліноленову та арахідонову, а α-ліноленову - в докозангексенову кислоту.

Біосинтез триацилгліцеролів. Триацилгліцероли (нейтральні жири) - ліпіди, що складають основну частину харчових ліпідів і в найбільшій кількості представлені в адипоцитах жирової тканини, де вони виконують функцію резерву метаболічного палива. Кількість нейтральних жирів в організмі дорослої людини масою 70 кг дорівнює в середньому 10-15 кг. Крім жирової тканини, біосинтез триацилгліцеролів в обмеженій кількості відбувається також в інших тканинах, зокрема печінці, кишечнику, молочній залозі в період лактації.

Метаболічними попередниками в біосинтезі триацилгліцеролів є активовані жирні кислоти (ацил-КоА) та гліцерол-3-фосфат, що, у свою чергу, постачаються за рахунок окислення глюкози.

1. Утворення активованої форми гліцеролу - гліцерол-3-фосфату може відбуватись за одним з двох механізмів: шляхом фосфорилування гліцеролу або шляхом відновлення діоксіацетонфосфату - інтермедіату гліколітичного розщеплення глюкози:

$$\text{Гліцерол} + \text{АТФ} \longrightarrow \text{Гліцерол-3-фосфат} + \text{АДФ}$$

$$\text{Діоксіацетонфосфат} + \text{НАДН} + \text{H}^+ \longrightarrow \text{Гліцерол-3-фосфат} + \text{НАД}$$

2. Ацилування гліцерол-3-фосфату з утворенням фосфатидної кислоти за рахунок двох молекул активованих жирних кислот - ацил-КоА. Процес відбувається в два етапи: перше ацилування з утворенням 1-ацилгліцерол-3-фосфату і друге ацилування з утворенням 1,2-діацилгліцерол-3-фосфату (фосфатидної кислоти), в якому бере участь залишок ненасиченої жирної кислоти.

3. Гідроліз фосфатидної кислоти до 1,2-діацилгліцеролу.

4. Ацилування 1,2-діацилгліцеролу третьою молекулою ацил-КоА з утворенням триацилгліцеролу.

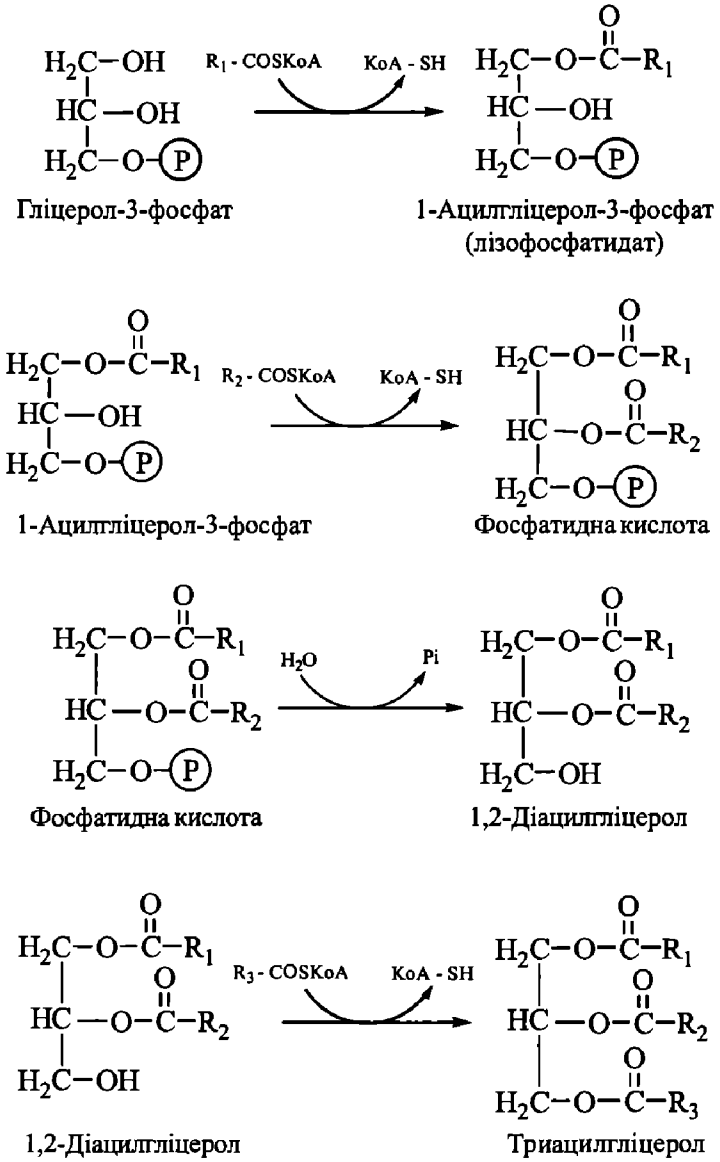


Рис. 14.1. Реакції біосинтезу триацилгліцеролів

Біосинтез гліцерофосфоліпідів. Гліцерофосфоліпіди (фосфогліцериди) - фосфатидилхолін, фосфатидилетаноламін, фосфатидилсерин і кардіоліпін - належать до структурних ліпідів, що складають ліпідний матрикс біологічних мембран. Це - складні ліпіди, побудовані на основі гліцеролу, тому перші етапи їх біосинтезу однакові з розглянутими вище ферментативними реакціями утворення триацилгліцеролів:

Гліцерол ⟶ Гліцерол-3-фосфат ⟶ Фосфатидна кислота

У разі біосинтезу зазначених фосфогліцеридів до 1,2-діацилгліцеролу, що утворюється в результаті гідролізу фосфатидної кислоти, приєднується гідрофільна головка, яка містить аміноспирт (холін або етаноламін). Особливістю процесу є використання в реакції активованих форм аміноспиртів - комплексів холіну (етаноламіну) з нуклеозиддифосфатом ЦДФ, які утворюються за рахунок таких реакцій:

– активації холіну (етаноламіну) шляхом АТФ-залежного фосфорилування аміноспирту;
– взаємодії фосфохоліну (або фосфоетаноламіну) з нуклеозидтрифосфатом ЦТФ з утворенням ЦДФ-холіну (ЦДФ-етаноламіну);
– при взаємодії ЦДФ-холіну (ЦДФ-етаноламіну) з 1,2-діацилгліцеролом утворюються фосфатидилхолін або фосфатидилетаноламін.

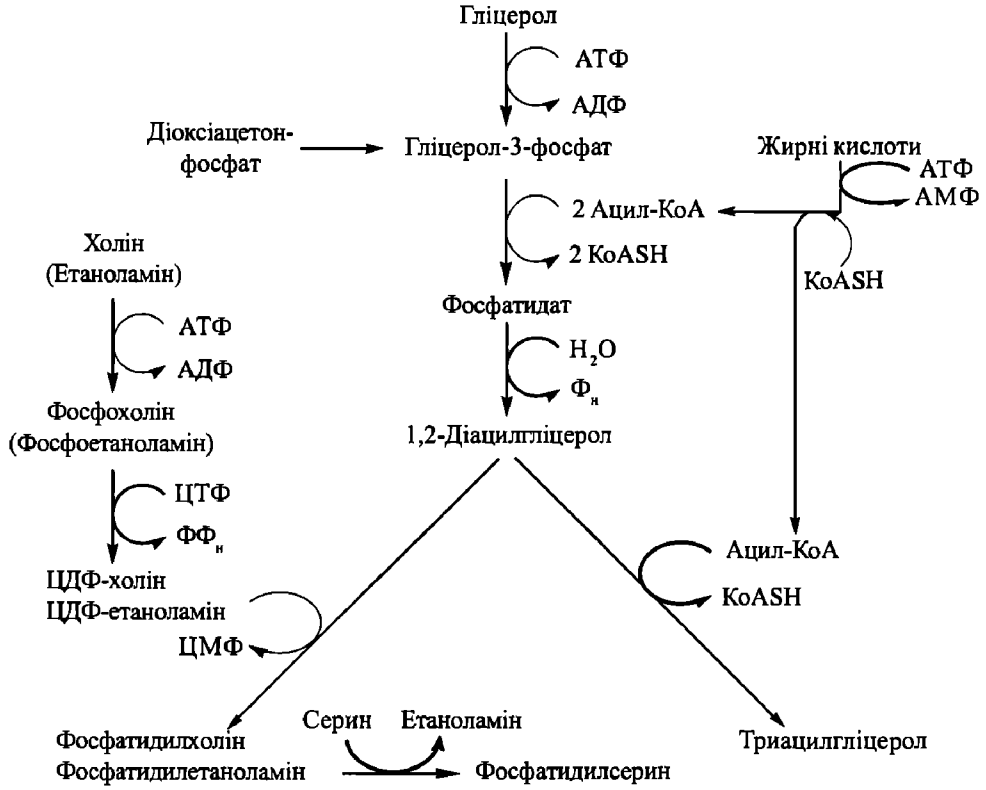


Рис. 14.2 Метаболічна карта шляхів синтезу триацилгліцеролів і фосфогліцеридів

Метаболізм сфінголіпідів. Сфінголіпіди - складні ліпіди біологічних мембран, що побудовані на основі високомолекулярного спирту сфінгозину. Ці ліпіди - сфінгомієліни та гліко- сфінголіпіди - в найбільшій кількості наявні у структурах центральної та периферичної нервової системи, зокрема в мієлінових оболонках нервів.

Для синтезу високомолекулярного аліфатичного аміноспирту сфінгозину використовуються вуглеводневий радикал пальмітату і залишок амінокислоти серину:

а) Пальмітоїл-КоА + Серин + НАДФН + H^+ ⟶
⟶ Дигідросфінгозин + CO_2 + НАДФ + КоА-SH

б) Дигідросфінгозин + ФАД ⟶ Сфінгозин + $ФАДН_2$

Цераміди є базовою молекулярною структурою всіх сфінголіпідів. Вони утворюються шляхом N-ацилування аміногрупи сфінгозину певною високомолекулярною жирною кислотою:

Сфінгозин + Ацил-КоА ⟶ N-ацилсфінгозин (церамід) + КоА-SH

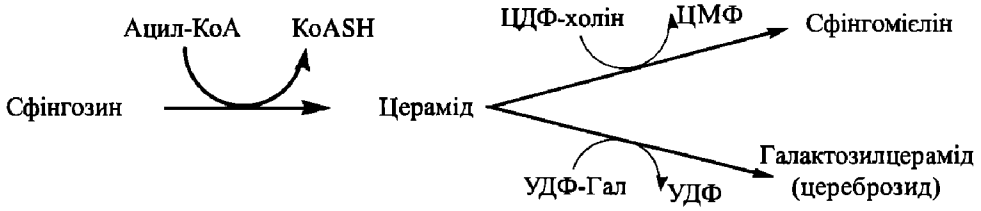
Сфінгомієліни - молекулярні структури, що утворюються шляхом приєднання фосфохоліну до церамідів, які містять у своєму складі залишки різних жирних кислот. Донором фосфохоліну є ЦДФ-холін:

$$\text{Церамід} + \text{ЦДФ-холін} \longrightarrow \text{Сфінгомієлін} + \text{ЦМФ}$$

Глікосфінголіпіди - глікозиловані похідні церамідів, які, залежно від будови вуглеводної частини молекули, поділяються на: цереброзиди (моногексозиди церамідів), сульфатиди (сульфатовані похідні галактоцерамідів), глобозиди (олігогексозиди церамідів) та гангліозиди (олігосахаридні похідні церамідів, до складу яких входить N-ацетилнейрамінова кислота). Вважають, що основною біологічною функцією глікосфінголіпідів як компонентів зовнішнього шару плазматичних мембран є участь у міжклітинних взаємодіях і контактах.

Формування молекул глікосфінголіпідів здійснюється шляхом послідовного нарощування залишків моносахаридів та їх похідних на CH_2OH-групи церамідів (N-ацилсфінгозинів). Донорами вуглеводів у цих реакціях є нуклеотидцукри.

Послідовність реакцій біосинтезу сфінголіпідів можна подати у вигляді такої схеми:



Катаболізм сфінголіпідів здійснюється шляхом послідовного розщеплення їх молекул за участю лізосомальних гідролаз. Сфінгомієліни розщеплюються до цераміду та фосфохоліну за участю сфінгомієлінази. Розщеплення глікосфінголіпідів починається із поступового відщеплення моно сахарид них залишків від олігосахаридного кінця молекул.

Контрольні питання

1. Перелічте шляхи катаболізму ліпідів.
2. В чому полягає сутність катаболізму триацилгліцеролів?
3. Наведіть реакції окислення жирних кислот.
4. Охарактеризуйте реакції біосинтезу вищих жирних кислот.
5. Охарактеризуйте метаболізм складних ліпідів.

ЛЕКЦІЯ 23

МЕТАБОЛІЗМ АМІНОКИСЛОТ

У тілі дорослої людини міститься в середньому 12-15 кг білків, що виконують численні каталітичні, регуляторні, структурні функції. Приблизно половину цієї маси (6-7 кг) складають екстрацелюлярні білки різних типів сполучної тканини, серед яких перше місце за кількістю займає колаген. Другу

половину білків тіла складають інтрацелюлярні білки тканин та білки крові з високою швидкістю обміну. Завдяки обміну білків у катаболічних та анаболічних реакціях, тобто безперервному перебігу процесів протеолізу та білкового синтезу, в організмі існує постійний фонд (пул) вільних амінокислот, які підлягають різноманітним біохімічним перетворенням (рис. 23.1).

Шляхи перетворення амінокислот у тканинах. Сумарна кількість амінокислот, що перетворюються за добу, складає в організмі дорослої здорової людини в стані азотистої рівноваги 300-500 г, а стаціонарна їх концентрація дорівнює близько 50-100 г на масу тіла. Потік амінокислот, що входить до амінокислотного пулу, складається з таких джерел:

1. Амінокислоти, які всмоктуються ентероцитами кишечника внаслідок гідролізу харчових білків у травному каналі (шлунку, тонкому кишечнику). Кількісне значення цієї складової становить (залежно від характеру харчування) 60-100 г на добу. Додаткову компоненту в цей потік (від 35 до 200 г білка) вносить протеоліз ендогенних білків з епітелію ентероцитів, що злущується.

2. Амінокислоти, які вивільняються в результаті розщеплення власних клітинних і позаклітинних білків. Середня тривалість напівжиття ($T_{1/2}$) індивідуальних білків значно варіює, становлячи від декількох годин для певних ферментів гепатоцитів до декількох років для структурного білка колагену.

У здорової дорослої людини середнє добове оновлення тканинних білків складає 1-2 % від загальної маси білків тіла і відбувається переважно за рахунок деградації до амінокислот білків м'язів (30-40 г білків за добу). Розщеплення тканинних білків каталізується протеазами лізосом і значно збільшується за умов білкового та повного голодування, під час виснажливих хвороб (особливо інфекційних, онкологічних захворювань), що порушують процеси біосинтезу білків і спричиняють переважання катаболічних процесів над анаболічними.

3. Амінокислоти, які синтезуються в організмі. Організм людини має обмежені можливості щодо утворення амінокислот de novo: його ферментні системи здатні синтезувати з інших інтермедіатів у кількості, достатній для синтезу власних білків, лише вісім "замінних" L-амінокислот.

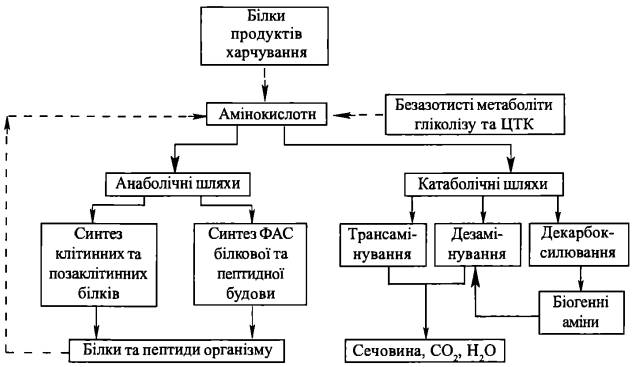


Рис. 23.1 Схема загальних шляхів перетворення амінокислот

Амінокислоти, які в організмі людини не синтезуються, надходячи тільки з продуктами харчування, є "незамінними".

До замінних амінокислот належать: аланін, аспарагінова кислота, аспарагін, глутамінова кислота, глутамін, пролін, гліцин, серин. При біосинтезі замінних амінокислот їх вуглецева частина утворюється з інтермедіатів окислення глюкози та цитратного циклу, а аміногрупа постачається з інших амінокислот у реакціях трансамінування. "Умовно замінними" є амінокислоти цистеїн та тирозин, які можуть синтезуватися із незамінних - метіоніну та фенілаланіну, відповідно; "частково замінні" амінокислоти (гістидин, аргінін) синтезуються в недостатній кількості.

Потік амінокислот, що виходить з амінокислотного пулу, включає перетворення вільних амінокислот і складається з таких компонентів:

1. Використання амінокислот для синтезу білків організму. Цей потік у дорослих людей, що споживають збалансовану дієту, забезпечує покриття протеолізу власних білків - стан азотистої рівноваги. Для синтезу власних сполук білкової і пептидної природи (на анаболічні потреби) використовується близько 75-80 % амінокислот, що вивільняються при розщепленні тканинних білків, та амінокислот, які надходять із кишечника.

2. Використання амінокислот, які не включені в анаболічні процеси, в катаболічних реакціях. При цьому молекули амінокислот розщеплюються з утворенням двооксиду вуглецю, води (через цикл лимонної кислоти) та кінцевих продуктів азотистого обміну (у людини - переважно сечовини). Певна частина безазотистого вуглецевого скелета амінокислот використовується для утворення глюкози (глюконеогенезу) та кетонових тіл (кетогенезу).

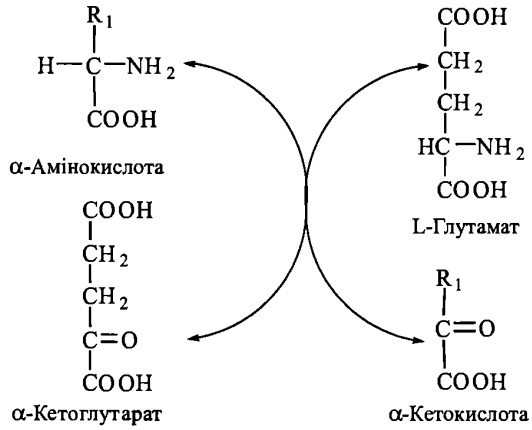
Розщепленню підлягають усі амінокислоти, що не використовуються для синтезу тканинних білків або фізіологічно активних сполук (ФАС) незалежно від джерела походження, оскільки резерви білків у тваринних організмах не утворюються (на відміну від вуглеводів та ліпідів). Разом з тим, біоенергетичне значення катаболізму амінокислот у здорової людини незначне, порівняно з вуглеводами та ліпідами (близько 10% від загальних енергетичних потреб), суттєво збільшуючись лише за умов голодування.

Першим етапом катаболізму вільних L-амінокислот є відщеплення α-аміногрупи в реакціях трансамінування та дезамінування. Деякі амінокислоти використовуються в реакціях декарбоксилування з утворенням амінів гормональної та нейромедіаторної дії, які в подальшому також розщеплюються шляхом дезамінування.

Трансамінування амінокислот. Реакції трансамінування полягають у переносі α-аміногрупи від амінокислоти на α-вуглецевий атом α-кетокислоти - акцептора аміногрупи (здебільшого - α-кетоглутарату та пірувату); в результаті реакції утворюється α-кетоаналог вихідної амінокислоти та нова амінокислота (L-глутамат, L-аланін т. і.). Ферменти, що каталізують реакції трансамінування, - амінотрансферази (трансамінази).

Реакції трансамінування, що каталізуються амінотрансферазами, активно перебігають в багатьох органах, найактивніше - в печінці, скелетних м'язах, міокарді, головному мозку, нирках. Визначення активності аланінамінотрансферази (аланінової трансамінази - АлАТ) та

аспартатаміношрансферази (аспарагінової трансамінази - АсАТ) широко застосовується в медичній практиці з метою діагностики пошкоджень внутрішніх органів. Внаслідок виходу цих ферментних білків через ушкоджені клітинні мембрани в кров при інфаркті міокарда спостерігається значне підвищення активності в сироватці крові АсАТ, при вірусних та токсичних пошкодженнях печінки - АлАТ.

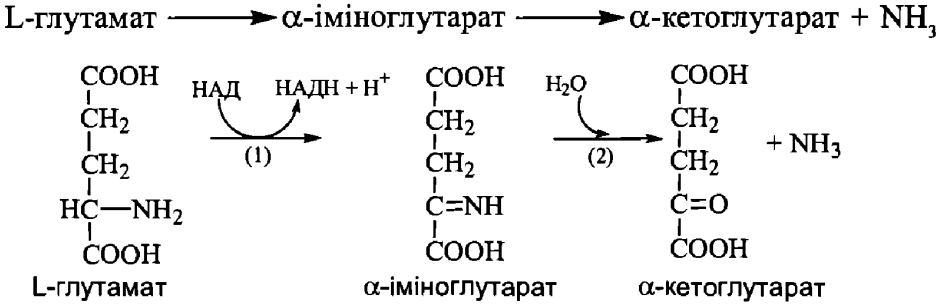


Біохімічне значення трансамінування суттєво відрізняється в різних органах.

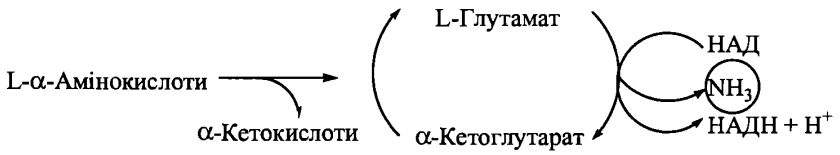
У печінці роль трансамінування полягає в його колекторній функції, тобто збиранні аміногруп від різних амінокислот переважно в одній молекулярній формі - у вигляді L-глутамінової кислоти. Біохімічний сенс такого процесу полягає в тому, що саме L-глутамат є основним субстратом реакцій дезамінування, тобто постачальником аміногруп на метаболічний шлях утворення сечовини - кінцевого продукту азотистого катаболізму.

У м'язах спрямованість реакцій трансамінування призводить до утворення значної кількості аланіну (за рахунок переамінування амінокислот з піруватом), що виділяється у кров'яне русло і поглинається гепатоцитами; в печінці аланін знову перетворюється на піруват, який використовується в глюконеогенезі (глюкозо-аланіновий цикл).

Дезамінування амінокислот. У клітинах людини і тварин найбільш активно дезамінується L-глутамінова кислота; процес відбувається за механізмом окислювального дезамінування, згідно з рівнянням:

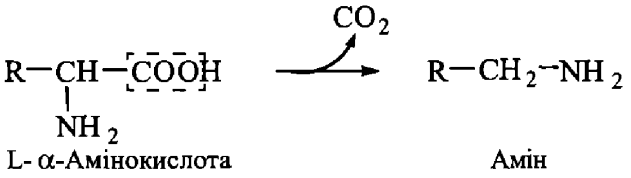


Дезамінування вільних L-амінокислот за механізмом спряження реакцій трансамінування з α-кетоглутаратом і окислювального дезамінування L-глутамату отримало назву непрямого дезамінування:



Найбільш активно непряме дезамінування амінокислот за участю глутаматдегідрогенази відбувається в печінці, де аміак, що звільнюється, надходить у цикл сечовиноутворення.

Декарбоксилування амінокислот. Реакція декарбоксилування амінокислот полягає у відщепленні двооксиду вуглецю від молекули амінокислоти з утворенням амінів {біогенних амінів), значна частина яких має високу фізіологічну активність як гормони, нейромедіатори, або є їх попередниками чи метаболітами:



$$\text{L-}\alpha\text{-Амінокислота} \longrightarrow \text{Амін}$$

Реакція каталізується ферментами - декарбоксилазами амінокислот. В сечі людини знайдено близько сорока різних біогенних амінів.

Процеси декарбоксилування амінокислот активно перебігають у порожнині товстої кишки під дією ферментів мікроорганізмів, що є компонентами нормальної мікрофлори травного тракту людини ("бактеріальне гниття білків у кишечнику").

Накопичення біогенних амінів в організмі спричиняє несприятливі патофізіологічні зміни з боку серцево-судинної системи, кишечника, інших гладком'язових органів. Знешкодження (детоксикація) фізіологічно активних амінів відбувається в клітинах печінки за участі моноамінооксидази мітохондрій - ФАД-залежного ферменту, що спричиняє окислювальне дезамінування амінів до альдегідів:

$$R\text{–}CH_2\text{–}NH_2 + \text{ФАД} \longrightarrow R\text{–}CH{=}NH + \text{ФАД}H_2$$
$$R\text{–}CH{=}NH + H_2O \longrightarrow R\text{–}CH{=}O + NH_3$$

Альдегіди - продукти дезамінування біогенних амінів - окислюються до відповідних кислот і підлягають подальшій окислювальній деградації або екскретуються з організму із сечею. Аміак надходить у систему синтезу сечовини.

Шляхи метаболізму без азотистого скелета амінокислот. Специфічні біохімічні шляхи катаболізму окремих двадцяти природних амінокислот конвергують з утворенням лише п'яти молекулярних продуктів - біомолекул, що вступають у цикл трикарбонових кислот, повністю окислюючись до двооксиду вуглецю та води. Цими продуктами є: ацетил-КоА, α-кетоглутарат, сукциніл-КоА, фумарат, оксалоацетат (рис. 23.2).

1. Ацетил-КоА - утворюється при катаболізмі десяти амінокислот, серед яких:

- п'ять амінокислот (аланін, цистеїн, серин, треонін, гліцин) розщеплюються до ацетил-КоА через піруват;

- п'ять амінокислот (фенілаланін, тирозин, лейцин, лізин, триптофан) розщеплюються до ацетил-КоА через ацетоацетил-КоА.

Частина вуглецевого скелета лейцину та триптофану, а також ізолейцину перетворюється на ацетил-КоА безпосередньо; частина молекули ізолейцину перетворюється на сукциніл-КоА.

2. α-Кетоглутарат - утворюється при катаболізмі п'яти амінокислот - глутамату, глутаміну, аргініну, гістидину, проліну. Вступ чотирьох із цих амінокислот в ЦТК відбувається через їх перетворення на глутамат.

3. Сукциніл-КоА - утворюється при катаболізмі трьох амінокислот - ізолейцину, валіну, метіоніну (частина молекули ізолейцину, як зазначено вище, перетворюється в ацетил-КоА).

4. Фумарат - утворюється при катаболізмі фенілаланіну та тирозину; вуглецеві скелети цих амінокислот утворюють два метаболіти ЦТК - ацетил-КоА (через ацетоацетил-КоА) та фумарат.

5. Оксалоацетат - утворюється при катаболізмі аспартату та аспарагіну; аспартат перетворюється в оксалоацетат через реакцію трансамінування.

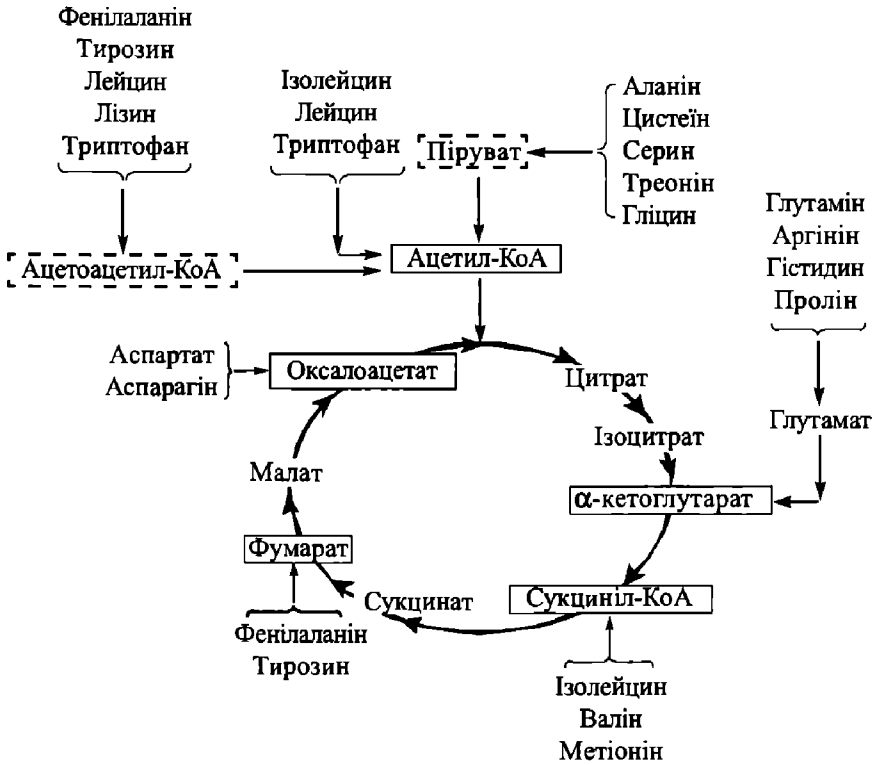


Рис. 23.2 Схема включення вуглецевих скелетів природних L-амінокислот у цикл лимонної кислоти

Глюкогенні та кетогенні амінокислоти. L-Амінокислоти, що метаболізуються в циклі трикарбонових кислот, можуть включати свої вуглецеві скелети в молекули глюкози. Ці амінокислоти, використання яких у синтезі глюкози реалізується після їх входження в ЦТК через ацетил-КоА, α-

кетоглутарат, сукциніл-КоА та фумарат, отримали назву глюкогенних амінокислот.

Дві L-амінокислоти включаються в катаболізм тільки через ацетоацетил-КоА, який у клітинах печінки може перетворюватися на кетонові тіла ацетоацетат та β-гідроксибутират. Це - кетогенні амінокислоти. Деякі амінокислоти віддають свої вуглецеві фрагменти на утворення як глюкози, так і кетонових тіл (табл. 23.1).

Жироподібні та не жироподібні амінокислоти. Нежироподібні - амінокислоти, що розщеплюються за шляхами катаболізму вуглеводів. До них належать: гістидин та замінні амінокислоти, окрім тирозину. Всі амінокислоти цієї групи є глюкогенними.

Жироподібні - амінокислоти, перетворення яких включає інтермедіати, що є спільними зі шляхами окислення жирних кислот. До жироподібних належать тирозин та незамінні амінокислоти, крім гістидину.

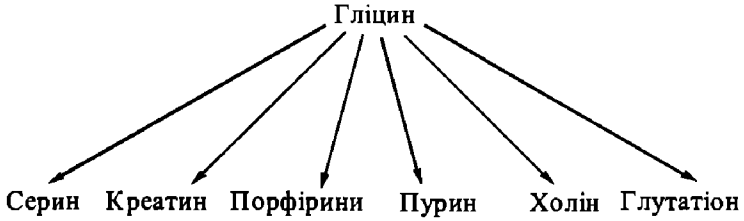
Таблиця 23.1

Глюкогенні та кетогенні амінокислоти

Глюкогенні		**Кетогенні**	**Глюко- та кетогенні**
Аланін	Гліцин	Лейцин	Ізолейцин
Аргінін	Гістидин	Лізин	Тирозин
Аспарагін	Метіонін		Триптофан
Аспартат	Пролін		Фенілаланін
Валін	Серин		
Глутамат	Треонін		
Глутамін	Цистеїн		

Біологічне значення амінокислот не вичерпується їх участю в синтезі білків організму. Вільні амінокислоти виступають попередниками в утворенні багатьох сполук, що виконують спеціалізовані функції: нуклеотидів, коферментів, порфіринів, вітамінів, гормонів, нейромедіаторів та інших структурних і регуляторних біомолекул.

Специалізовані шляхи метаболізму окремих амінокислот. Гліцин - α-аміноацтова кислота - важливий учасник багатьох біохімічних процесів. Двовуглецевий скелет гліцину використовується в різноманітних синтетичних реакціях утворення інших біомолекул, у тому числі фізіологічно активних сполук. Гліцин у тваринному організмі синтезується з L-серину, вуглецевий скелет якої утворюється з глюкози.



Біохімічні перетворення гліцину

L-метіонін - амінокислота, що є важливим учасником внутрішньоклітинного метаболізму і донором метильної (-CH_3) групи в численних реакціях метилування. Безпосереднім донором –CH_3-групи в реакціях трансметилування, є S-аденозилметіонін, який синтезується в організмі людини з метіоніну при дії ферменту метіонінаденозилтрансферази. амінокислоти. Реакціями, що перебігають за участю S-аденозилметіоніну, є утворення холіну з аміноспирту етаноламіну, синтез креатину, адреналіну з норадреналіну, тимідіну як структурного компоненту ДНК.

L-цистеїн - амінокислота, біологічні функції якої полягають переважно в підтриманні у відновленому стані SH-груп багатьох біорегуляторів та ферментів, зокрема, за рахунок синтезу глутатіону. Глутатіон - трипептид γ-глутамініл-цистеїніл-гліцин, що має у своєму складі вільну сульфгідрильну групу. Біохімічна функція глутатіону в організмі пов'язана з відновленням і детоксикацією органічних пероксидів.При взаємодії глутатіону з гідропероксидом утворюються нешкідливі органічні спирти, що підлягають подальшому окисленню.

Особливістю метаболізму в тваринних організмах циклічних амінокислот фенілаланіну та тирозину є утворення з них численних фізіологічно активних сполук гормональної та медіаторної дії, а саме: катехоламінів (адреналіну, норадреналіну), тиреоїдних гормонів, меланінів.

Контрольні питання

1. Перелічте шляхи метаболізму білків та амінокислот.
2. Наведіть типи біохімічних реакцій синтезу без азотистого скелету амінокислот.
3. Які амінокислоти відносяться до жироподібних і не жироподібних?
4. Яке біологічне значення для організму людини має метаболізм амінокислот?
5. Охарактеризуйте специфічні шляхи біосинтезу амінокислот.

ЛЕКЦІЯ 24

МЕТАБОЛІЗМ НУКЛЕОТИДІВ

Шляхи метаболізму нуклеотидів. Структурними компонентами інформаційних нуклеїнових кислот - ДНК та РНК - є нуклеотиди пуринового та піримідинового ряду (дезоксирибонуклеотиди та рибонуклеотиди). Біосинтез мононуклеотидів є життєво важливим процесом, оскільки він забезпечує утворення складових компонентів молекул нуклеїнових кислот, а також нуклеотидних коферментів, необхідних для реалізації всієї сукупності генетичної інформації, що міститься в живих клітинах.

Ферментні системи організму людини і тварин здатні до синтезу нуклеотидних структур на основі біомолекул-попередників. У процесі біосинтезу пуринових нуклеотидів беруть участь молекули амінокислот

(гліцину, аспартату та глутаміну) та каталітично активні одновуглецеві групи у формі похідних тетрагідрофолату (H_4-фолату) і активного CO_2, що приєднуються безпосередньо до пентозної частини нуклеотиду - рибозо-5-фосфату.

Організм людини і тварин може також в обмеженій кількості синтезувати пуринові та піримідинові нуклеотиди шляхом використання готових молекул азотистих основ, що вивільняються при катаболізмі нуклеїнових кислот і потрапляють в організм із їжею, але основним механізмом поповнення внутрішньоклітинного пулу нуклеотидів є їх синтез de novo, тобто з простіших метаболічних попередників.

Нуклеотиди надходять в організм з їжею, головним чином, у складі нуклеопротеїнів. Після впливу протеолітичних ферментів шлунка і кишечника з них вивільняються нуклеїнові кислоти і білкова частина. Білки перетравлюються звичайним порядком, нуклеїнові кислоти за допомогою додаткових ферментів. Панкреатичний сік містить рибонуклеази і дезоксирибонуклеази, що гідролізують нуклеїнові кислоти до полінуклеотидів.

Після дії панкреатичних нуклеаз полінуклеотідази (або фосфодіестерази) кишечника гідролізують нуклеїнові кислоти до мононуклеотидів. Далі, під дією нуклеотидази і фосфатаз відбувається гідроліз нуклеотидів до нуклеозидів, які абовсмоктуються, або під дією нуклеозідаз слизової кишечника деградують до пуринових і піримідинових основ.

У просвіті кишечника пуринові основи можуть піддаватися окисленню до сечової кислоти, яка всмоктується і потім виділяється з сечею. Велика частина тих пуринів, що всмоктались, в ентероцитах також перетворюється на сечову кислоту, при цьому не відбувається їх включення у знов утворювані молекули нуклеотидів і нуклеїнових кислот.

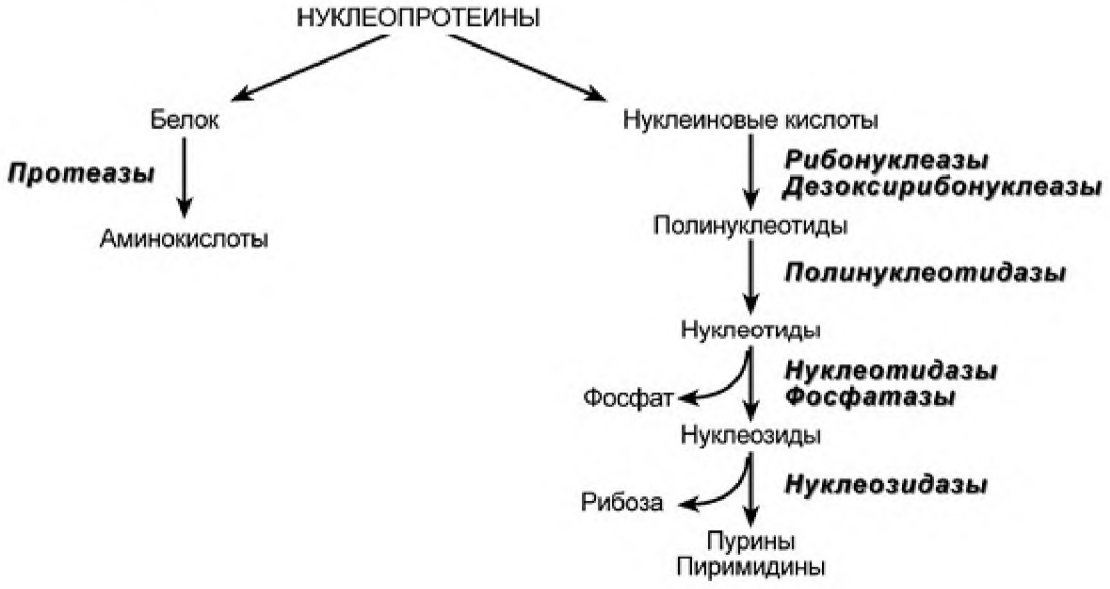


Рис. 24.1 Схема розщеплення нуклеїнових кислот у шлунково-кишечному тракті

Як і пурини, вільні піримідини в основному катаболізують і виділяються без їх використання в організмі.

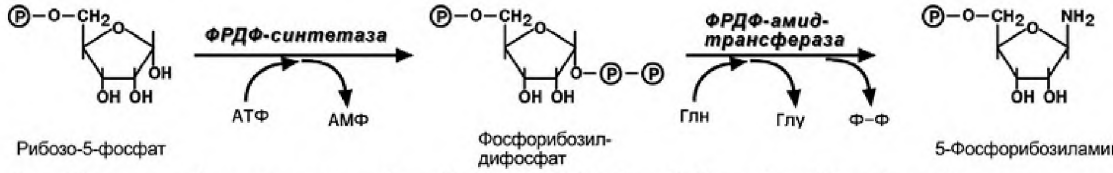
Таким чином, нуклеїнові кислоти їжі не надходять з кишечника в кровоток і не виступають в ролі постачальника безпосередніх попередників ДНК і РНК клітин організму. І хоча ссавці споживають значні кількості нуклеїнових кислот і нуклеотидів, їх життєдіяльність не залежить від всмоктування цих речовин або відповідних продуктів розпаду.

Біосинтез пуринових основ. Синтез пуринових основ відбувається у всіх клітинах організму, головним чином в печінці. Виняток становлять еритроцити, поліморфоядерні лейкоцити, лімфоцити.

Умовно всі реакції синтезу можна розділити на 4 етапи:

1. Синтез 5'-фосфорібозіламіну. Рибоза-5-фосфат є тим якорем, на основі якого синтезується складний пуриновий цикл. Перша реакція синтезу пуринів полягає в активації вуглецю в першому положенні рибоза-5-фосфату, це досягається синтезом 5-фосфорибозил-1-дифосфату (ФРДФ).

Друга реакція - це перенесення -NH_2-групи глутаміну на активований атом C_1 рибозо-5-фосфату з утворенням 5-фосфорібозиламіну. Зазначена -NH_2-група фосфорібозіламіну вже належить майбутньому пуриновому кільцю і її азот буде атомом під номером 9.



2. Синтез інозинмонофосфата (ІМФ). 5-фосфорібозіламін втягується у дев'ять реакцій, і в результаті утворюється перший пуриновий нуклеотид - інозинмонофосфорна кислота (ІМФ). У цих реакціях джерелами атомів пуринового кільця є гліцин, аспартат, ще одна молекула глутаміну, вуглекислий газ і похідні ТГФК. В цілому на сінтез пуринового кільця витрачається енергія 6 молекул АТФ.

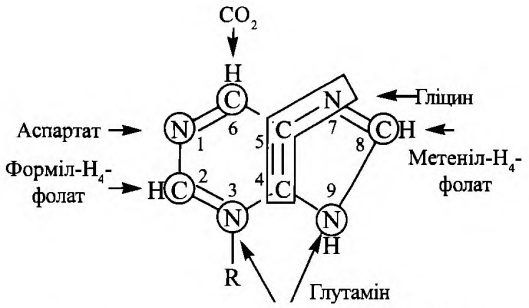


Рис. 24.2 Схема походження окремих атомів у молекулі пурину

Пуриновим рибонуклеотидом, який синтезується de novo в результаті послідовного приєднання атомів вуглецю та азоту до молекули рибозо-5-фосфату, є інозин-5'-моно-фосфат (ІМФ), який у подальшому перетворюється на аденозин-5'-монофосфат (АМФ) та гуанозин-5'-монофосфат (ГМФ).

3. Синтез аденозинмонофосфату (АМФ) і гуанозинмонофосфату (ГМФ).

ГМФ утворюється у двох реакціях - спочатку він окислюється до ксантозилмонофосфату, джерелом кисню є вода, акцептором водню - НАД.

Після цього працює ГМФ-синтетаза, вона використовує універсальний клітинний донор NH_2-груп - глутамін, джерелом енергії для реакції слугує АТФ.

АМФ також утворюється в двох реакціях, але в якості донора NH_2-групи виступає аспарагінова кислота. У першій реакції на приєднання аспартату використовується енергія розпаду ГТФ, у другій реакції аденілосукцинатліаза робить видалення частини аспарагінової кислоти у вигляді фумарату.

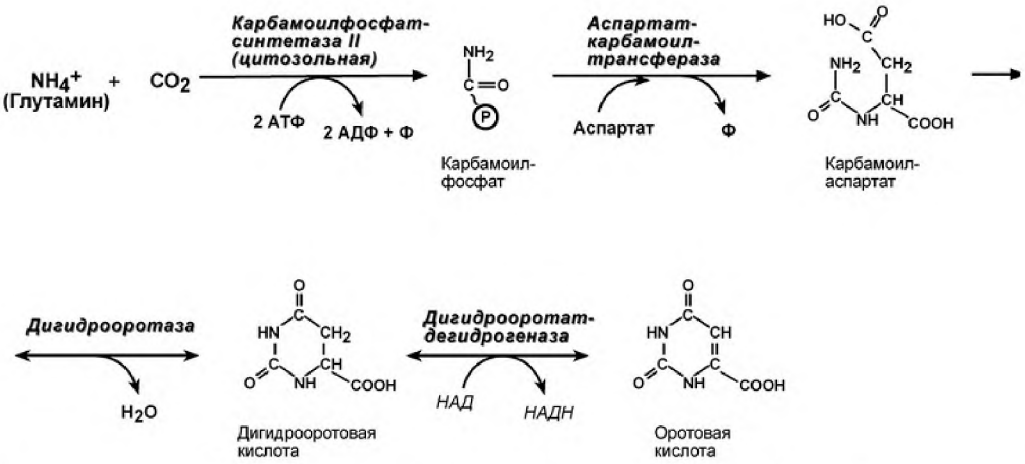
4. Утворення нуклеозидтрифосфатів АТФ і ГТФ. Синтез ГТФ здійснюється в 2 стадії за допомогою перенесення макроергічних фосфатних груп від АТФ.

Біосинтез піримідинових основ. Синтез піримідинових основ відбувається у всіх клітинах організму. У реакціях синтезу бере участь глутамін, CO_2, аспартат, витрачається 2 молекули АТФ.

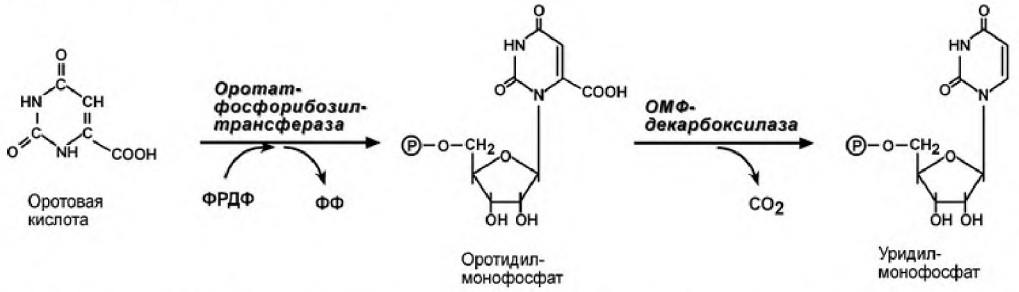
Умовно можна виділити етапи синтезу:

1. Утворення карбамоїлфосфату, але на відміну від синтезу сечовини ця реакція йде в цитозолі.

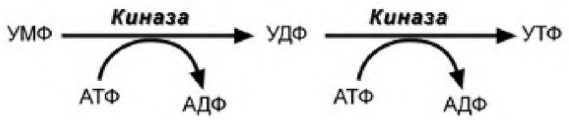
2. Утворення піримідинового кільця після приєднання аспарагінової кислоти і реакції дегідратації. Першою піримідіновою основою є оротова кислота.



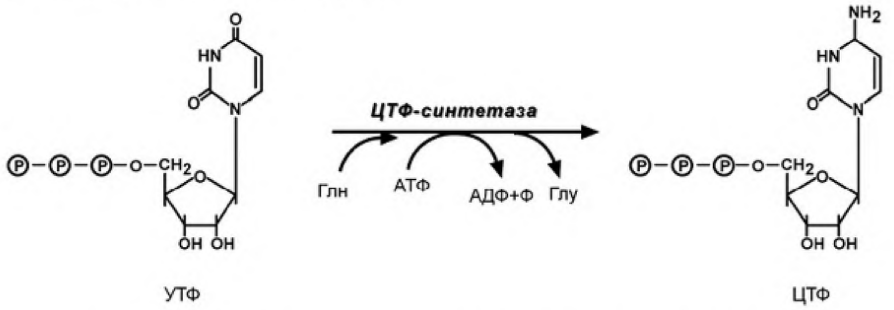
3. Синтез оротидилмонофосфата і уридинмонофосфорної кислоти (УМФ). У реакції з фосфорібозилдіфосфатом (ФРДФ) до оротової кислоти приєднується рибоза-5-фосфат і утворюється оротидилмонофосфат, безпосередній попередник УМФ.



4. Синтез УТФ здійснюється в 2 стадії допомогою перенесення макроергічних фосфатних груп від АТФ.



5. Синтез ЦТФ походить з УТФ з витратою енергії АТФ за участю глутаміну, що є джерелом NH_2-групи.



Катаболізм нуклеотидів. Джерелом вільних пуринових та піримідинових нуклеотидів є розщеплення власних нуклеїнових кислот гідролітичними ферментами ДНК-азами та РНК-азами та біосинтез нуклеотидів, що відбувається в тканинах. Вільні нуклеотиди, які не використовуються для синтезу нуклеїнових кислот, підлягають розщепленню з утворенням кінцевих продуктів азотистого (нуклеїнового) обміну.

Розщеплення пуринових нуклеотидів (АМФ та ГМФ) включає реакції:

- відщеплення фосфатної групи з утворенням нуклеозидів аденозину та гуанозину;
- дезамінування;
- відщеплення від нуклеозидів пентозного залишку D-рибози або пентозофосфату в цілому;
- подальший катаболізм гіпоксантину (що утворився з АМФ) або ксантину (що утворився з ГМФ) з утворенням кінцевого продукту сечової кислоти (2,6,8-триоксипурину).

Рис. 24.3 Схема перетворення пуринових нуклеотидів на сечову кислоту

Початкові етапи катаболізму піримідинових нуклеотидів, як і в разі пуринових нуклеотидів, полягають у відщепленні рибозофосфату з подальшим окисленням утворених піримідинів.

Катаболізм азотистих основ (урацилу, цитозину, тиміну) полягає в розриві піримідинових циклів з утворенням у якості продуктів похідних

амінокислот - β-аланіну та β-аміноізобутирату. В свою чергу, β-аланін розщеплюється до двоокису вуглецю та аміаку, тоді як β-аміноізобутират може метаболізуватися подібно до інших розгалужених амінокислот з утворенням сукциніл-КоА.

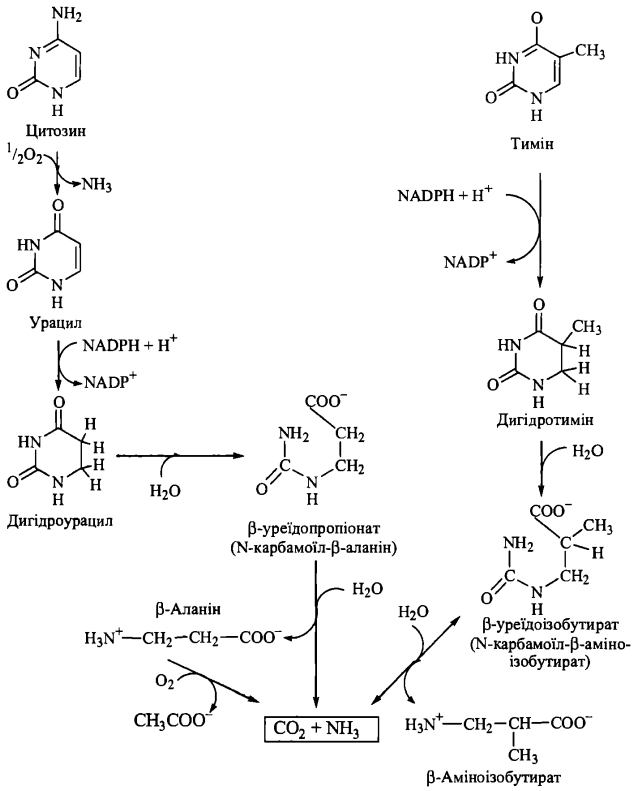


Рис. 24.4 Схема катаболізму піримідинових азотистих основ

Контрольні питання

1. Перелічте шляхи катаболізму нуклеотидів.
2. В чому полягає сутність метаболізму нуклеотидів?
3. Наведіть реакції метаболізму пуринових та піримідинових нуклеотидів.
4. Які ферменти приймають участь у метаболізмі нуклеотидів?
5. Охарактеризуйте енергетику реакцій метаболізму нуклеотидів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Губський Ю. І. Біологічна хімія; Київ - Тернопіль: Укрмедкнига, 2000. - 508 с.
2. БерезовТ.Т., Коровкин Б. Ф. Биологическая химия.-М.: Медицина, 1983.-752с.
3. Кучеренко Н. Е., Бабенюк Ю.Д., Васильєв А. Н. и др. Биохимия. К.: Вища шк. Изд-во при КГУ, 1988.-432 с.
4. Ленинджер А. Основи биохимии. В 3-хт. - М.: Мир, 1985.-1056 с.
5. Марри Р, Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В. Биохимия человека. В 2-х т. - М.: Мир, 1993. т. 1-381с., т.2-414с.
6. Николаев А. Я. Биологическая химия.-М.: Мед. информ. агентство, 1998.-496 с.
7. Овчинников Ю. А. Биоорганическая химия. -М.: Просвещение, 1987.-815 с.

Навчальне видання

Конспект лекцій з дисципліни «Біологічна хімія» для студентів спеціальностей 091«Біологія» та 014 «Середня освіта (Біологія)» за освітньо-професійними програмами «Біологія» та «Середня освіта (Біологія)»
Рівне: РДГУ, 2020

Укладач: *В.В. Демчук, к.с.-г.н., доцент кафедри природничих наук та методики їх викладання*

Рекомендовано до руку Вченою Радою Рівненського державного гуманітарного університету Протокол № від вересня 2020 р.