



БИОЛОГИЧЕСКИЙ
ФАКУЛЬТЕТ
МГУ ИМЕНИ
М.В. ЛОМОНОСОВА



teach-in
ЛЕКЦИИ УЧЕНЫХ МГУ

ОСНОВЫ БИОХИМИИ

АСЕЕВ
ВИКТОР ВАСИЛЬЕВИЧ

БИОФАК МГУ

КОНСПЕКТ ПОДГОТОВЛЕН
СТУДЕНТАМИ, НЕ ПРОХОДИЛ
ПРОФ. РЕДАКТУРУ И МОЖЕТ
СОДЕРЖАТЬ ОШИБКИ.
СЛЕДИТЕ ЗА ОБНОВЛЕНИЯМИ
НА [VK.COM/TEACHINMSU](https://vk.com/teachinmsu).

ЕСЛИ ВЫ ОБНАРУЖИЛИ
ОШИБКИ ИЛИ ОПЕЧАТКИ,
ТО СООБЩИТЕ ОБ ЭТОМ,
НАПИСАВ СООБЩЕСТВУ
[VK.COM/TEACHINMSU](https://vk.com/teachinmsu).



БЛАГОДАРИМ ЗА ПОДГОТОВКУ КОНСПЕКТА
СТУДЕНТА БИОЛОГИЧЕСКОГО ФАКУЛЬТЕТА МГУ
БАРАНОВА ИВАНА АНДРЕЕВИЧА

Оглавление

Лекция 1. Статическая биохимия. Полимеры. Углеводы	9
1.1. Вступление	9
1.2. Полимеры	10
1.3. Углеводы	11
1.4. D- и L-изомеры	12
1.5. Разнообразие моносахаров	13
1.6. Альдозы	14
1.7. Кетозы	15
1.8. Формы моносахаридов	17
Лекция 2. Углеводы	20
2.1. Сахарные кислоты	20
2.2. Многоатомные спирты	22
2.3. Дезоксисахара и дезоксирибонуклеиновые кислоты	23
2.4. Обменные реакции и их продукты	24
2.5. Гликозиды	26
2.6. Дисахариды	28
2.7. Сахароза	29
2.8. Трегалоза	30
2.9. Кестозы	30
2.10. Раффиноза	31
2.11. Стахиоза	31
2.12. Инулин	32
2.13. Леван	32
2.14. Гомо- и гетерополисахариды	33
2.15. Обозначения полисахаридов	33
2.16. Олигосахариды и полисахариды	34
Лекция 3. Полисахариды в организмах	36
3.1. Целлюлоза	36
3.2. Гемицеллюлозы	37

3.4. Декстран.....	39
3.5. Полисахариды водорослей	39
3.6. Хитин	41
3.7. Гликокаликс.....	42
3.8. Гиалуриновая кислота	42
3.9. Хондроитин-сульфат	43
3.10. Кератансульфат.....	44
3.11. Взаимодействие полимеров соединительной ткани	45
3.12. Гепарин	46
3.13. Дерматансульфат.....	48
3.14. Гликозилирование.....	48
3.15. Клеточные стенки бактерий	50
Лекция 4. Липиды	51
4.1. Барьерные функции липидов	51
4.2. Другие функции липидов	52
4.3. Гидролиз и жирные кислоты	52
4.4. Упаковка жирных кислот. Насыщенные и ненасыщенные жирные кислоты	53
4.5. К чему присоединяются жирные кислоты. Триглицериды	55
4.6. Фосфоглицериды.....	57
4.7. Другие производные глицерина	59
4.8. Воска.....	61
Лекция 5. Липиды в организме	63
5.1. Сфинголипиды	63
5.2. Группы крови человека.....	65
5.3. Производные арахидоновой кислоты.	66
5.4. Изопреноидные соединения. Терпены	67
5.5. Присоединение «голова к голове»	70
5.6. Каротиноиды.....	70
5.7. Долихолы.....	72
5.8. Липиды в мембранах археобактерий.....	73
5.9. Убихиноны и пластохиноны	73

5.10. Витамин Е.....	74
5.11. Витамин К	75
5.12. Стерины.....	75
Лекция 6. Нуклеотиды	78
6.1. История изучения нуклеотидов	78
6.2. Строение нуклеотида	78
6.3. Присоединение основания и фосфата	79
6.4. Азотистые основания	79
6.5. Пиримидины	80
6.6. Пурины	81
6.7. Варианты присоединения фосфора	81
6.8. Вариации нуклеотидов	82
6.7. АТФ	83
6.8. Необычные присоединения фосфата	84
6.9. НАД	85
6.10. ФАД.....	86
6.11. Коэнзим А	87
6.12. Минорные основания	88
Лекция 7. Нуклеиновые кислоты.....	90
7.1. Фосфодиэфирная связь.....	90
7.2. Различия ДНК и РНК	91
7.3. 3'- и 5'-концы	91
7.4. Азотистые основания. Модификации нуклеиновых кислот	92
7.5. Изучение структуры нуклеиновых кислот. Правило Чаргаффа	93
7.6. Рентгеноструктурный анализ	93
7.7. Принцип комплементарности.....	94
7.8. Структура и разновидности ДНК.....	95
7.9. Плавление ДНК	99
Лекция 8. Белки и аминокислоты.....	103
8.1. Свойства аминокислот	103
8.2. Протеиногенные аминокислоты. Заменяемые и незаменимые аминокислоты	103

8.3. L- и D-аминокислоты	104
8.4. Алифатические аминокислоты	104
8.5. Ароматические аминокислоты	105
8.6. Полярные аминокислоты	107
8.7. Положительно заряженные аминокислоты	108
8.8. Отрицательно заряженные аминокислоты	108
8.9. Степень протонирования аминокислот	109
8.10. Оксипролин	109
8.11. Оксилизин	110
8.12. Метиллизин	110
8.13. Ацетиллизин	111
8.14. Карбоксиглутамат	111
8.15. Селеноцистеин	111
8.16. Десмозин	112
8.17. Орнитин и цитруллин	112
8.18. Кислотно-основные свойства аминокислот. Изoeлектрическая точка.	113
8.19. Окисление цистеина	115
8.20. Оптическая изомерия аминокислот	115
8.21. Аминокислотные гормоны	116
Лекция 9. Полипептиды	117
9.1. Пептидная связь	117
9.2. Гидролиз пептидной связи	117
9.3. Ферментный гидролиз пептидной связи.	118
9.4. Вариации пептидных связей	118
9.5. Карнозин	118
9.6. Аспартам	119
9.7. Глутатион	119
9.8. Окситоцин и вазопрессин	120
9.9. Грамицидин S	120
9.10. Бацитрацин А	121
9.11. Токсины бледной поганки	122

9.12. Структура белка. N- и C-концы	122
9.13. Первичная структура белка	123
9.14. Вторичная структура белка	124
Лекция 10. Структура белков	130
10.1. Третичная структура белка	130
10.2. Базы данных структурных белков. Рентгеноструктурный анализ	133
10.3. Глобула	133
10.4. Четвертичная структура белка. Глобулярные белки	134
10.5. Фибриллярные белки	137
10.6. Фолдинг белка. Прионы	141
Лекция 11. Функции белков	142
11.1. Гликопротеиды и способы их образования	142
11.2. Функции гликопротеидов	143
11.3. Болезни, связанные с нарушением гликозилирования	144
11.4. Протеогликаны	144
11.5. Клеточная стенка бактерий	145
11.6. Способы образования липопротеинов	146
11.7. Комплексы белков	147
11.8. Свойства белков. Размеры молекул	147
11.9. Заряд молекул	147
11.10. Денатурация и ренатурация	148
11.11. Каталитическая функция белков	150
11.12. Структурная функция белков	150
11.13. Механо-химическая функция белков	151
11.14. Регуляторная функция белков	151
11.15. Транспортная функция белков	152
11.16. Защитная функция белков	152
11.17. Энергетическая функция белков	152
11.18. Запасающая функция белков	152
Лекция 12. Ферменты	153
12.1. Свойства ферментов	153

12.2. Скорость ферментативной реакции. Вывод уравнения Михаэлиса-Ментен	154
12.3. Влияние pH на активность фермента	157
12.4. Влияние температуры на активность фермента	158
12.5. Специфичность ферментов	158
Лекция 13. Разновидности ферментов	161
13.1. Номенклатура ферментов	161
13.2. Коферменты	162
Лекция 14. Мембраны	179
14.1. Мембраны и транспорт	179
14.2. История изучения мембран. Модель сэндвича.	179
14.3. Мозаичная модель мембраны	179
14.4. Распределение липидов в слоях	181
14.5. Латеральная диффузия липидов	182
14.6. Перескок липидов между слоями (флип-флопы)	183
14.7. Соотношение белков и липидов	183
14.8. Агрегатные состояния липидов	184
14.9. Периферические и интегральные мембранные белки	184
14.10. Заякоривание белков в мембране	185
14.11. Коэффициент гидропатии	187
14.12. Транспорт через мембрану	188
14.13. Облегчённая диффузия	189
14.14. Транспорт за счёт переносчиков	189
14.15. Активный транспорт	190

Лекция 1. Статическая биохимия. Полимеры. Углеводы

1.1. Вступление

Статическая биохимия – раздел биохимии, изучающий вещества, входящие в состав живых организмов. Вещества эти крайне многообразны, но в основе структуры всех организмов и всех процессов жизнедеятельности лежат обратимые и, как правило, нековалентные взаимодействия крупных молекул. Иными словами, любые процессы жизнедеятельности можно свести к тому, что крупные молекулы взаимодействуют между собой и с низкомолекулярными лигандами меняют свою конформацию, меняют структуру этих низкомолекулярных соединений, а в результате осуществляется множество процессов: от синтеза нуклеиновых кислот и мембранного транспорта до высшей нервной деятельности, которая зависит от перестройки белковых комплексов в синаптических участках различных молекул.

Из-за достаточно сложного устройства крупных молекул возникает проблема их образования. Более того, большинство крупных молекул – **полимеры**, состоящие из большого количества повторяющихся низкомолекулярных единиц (**мономеров**). Исходя из этого, все вещества, входящие в состав живых организмов, можно разделить на две большие группы: полимеры, осуществляющие различные процессы жизнедеятельности, и низкомолекулярные вещества, которые служат либо предшественниками для синтеза полимеров, либо лигандами, взаимодействующими с ними. При этом предшественники – крайне универсальная часть обмена веществ, поскольку у совершенно разных типов организмов набор этих самых предшественников крайне схож. Однако с лигандами ситуация другая. К примеру, существуют низкомолекулярные гормоны, специфичные для взаимодействия с конкретными макромолекулами, или метаболиты, регулирующие свой собственный обмен.

Низкомолекулярные компоненты разнородны не только по своим химическим свойствам, но и по своим функциям. Первой важной группой среди них являются мономеры, нужные для синтеза полимеров. Далее идут вещества, образующиеся в качестве промежуточных продуктов при синтезе мономерных единиц. Многие мономеры и другие промежуточные соединения клеткам приходится синтезировать самостоятельно. И большая часть из них способна это делать. Исключение могут составлять, например, микоплазмы. Это внутриклеточные паразиты, которые фактически живут на всём готовом и не имеют необходимости производить многие вещи дополнительно. Другими же исключениями можно считать, к примеру, незаменимые для конкретного организма. 10 из 22 аминокислот, необходимых человеку для синтеза белков, мы можем получать только с пищей. А для упомянутых выше микоплазм, следовательно, все аминокислоты являются незаменимыми. Но при этом многие другие организмы не испытывают трудностей с их синтезом вообще. То же самое можно сказать, про аскорбиновую кислоту (витамин С), некоторые жирные кислоты.

Существуют также группы веществ, которые с биохимической точки зрения крайне разнородны, но при этом обладают схожими функциями. Хороший пример: гормоны. Понятие «гормон» - чисто физиологическое, поскольку химически гормоны могут иметь самую разную природу. То же самое можно сказать про ещё несколько групп веществ, которые можно отнести к вторичным метаболитам, то есть веществам, образующимся как побочные продукты при основном синтезе.

Нужно отметить, что клетка почти никогда не может сразу превратить вещество, полученное из окружающей среды, в необходимый компонент для синтеза биополимера. Между необходимым и полученным веществом всегда существует цепь реакций, называемая **метаболическим путём**. Зачастую, промежуточные соединения, возникающие во время реакций метаболических путей, не нужны клетке и, следовательно, не накапливаются в большом количестве. Но с другой стороны, их количество превышает количество целевого продукта. Подытожив, можно сказать, что эта группа веществ характеризуется низкой итоговой концентрацией в клетке и быстрым обменом.

1.2. Полимеры

Полимеры крайне разнообразны. К **гомополимерам** относятся полимерные вещества, которые образуются из одного строго определенного вида мономеров. К гомополимерам относятся многие пластики (полистирол, полиэтилен). Свойства таких полимеров определяются прежде всего длиной цепочек. Изменяя количество мономеров в полимере (то есть, длину молекулы полимера) можно варьировать свойства конечного вещества, но в какой-то момент увеличение длины цепи не будет приводить к значительному изменению свойств конечного вещества.

В отличие от гомополимеров, **гетерополимеры** построены из неодинаковых мономеров. Но и здесь возможны определённые вариации. Возьмем, к примеру, полимер, в состав которого входят два различных мономера (мономер А и мономер В), может иметь структуру -А-В-А-В-А-В-А-В-. В таком случае можно вполне уверенно сказать, что несмотря на, казалось бы, наличие различных мономеров в составе, фрагмент -А-В- является повторяющимся на всём промежутке цепи. Такое соединение будет считаться **регулярным гетерополимером**. По такому принципу построены муреиновая клеточная стенка бактерий, гиалуроновая кислота.

Бывают гетерополимеры, в которых повторяющийся фрагмент выделить не получается, и такие соединения будут называться **нерегулярными гетерополимерами**. Получается, что из ограниченного количества мономеров на ограниченной длине можно получить большое разнообразие соединений. Наиболее яркий пример – белки, каждый из которых состоит из различных наборов 20 аминокислот и имеет длину в несколько сотен аминокислотных остатков.

Также необходимо отметить наличие у некоторых мономеров особых **функциональных групп**, к которым может присоединяться ещё один мономер. Таким образом, получается разветвление, которое дополнительно увеличивает вариативность

веществ, но и усложняет процесс синтеза. Наиболее характерные полимеры с таким свойством – углеводы.

Образование полимеров – энергозатратный процесс. Соединение мономеров между собой чаще всего идёт (с химической точки зрения) за счёт **реакций конденсации**, т.е. отщепления воды. Но внутри клетки синтез биополимеров идет путём **предварительной активации** мономера за счёт присоединения молекулы-переносчика, которая уникальна для каждого типа мономеров.

1.3. Углеводы

Углеводы – наиболее простые (обладают наименьшим разнообразием функциональных групп и наименьшим количеством элементов в своём составе) из биополимеров. С химической точки зрения, углеводы – многоатомные спирты, имеющие одну альдегидную или кетонную группу в составе мономера. Соответственно этому определению, углеводы можно разделить на **альдосахара** и **кетосахара**. **Общая формула углеводов** – $C_n(H_2O)_m$. Если $n = m$, то вещество является моносахаридом (простой сахар). Если $n > m$, то вещество – полисахарид (сложный сахар). При этом n начинается от 3 и уходит практически в бесконечность. Простейшими углеводами можно считать глицеральдегид и диоксиацетон, структурные формулы которых представлены на рис. 1.1.

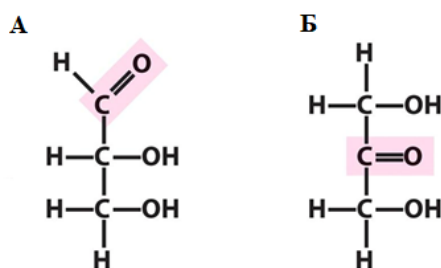


Рис.1.1. Простейшие углеводы: А – глицеральдегид, Б – диоксиацетон.

Углеводы, имеющие в составе 4 и больше атомов углерода, в названии имеют окончание «-оза», а у кетосахаров дополнительно перед этим ставится суффикс «-ул-». Естественно, для ряда тривиальных названий эта номенклатура не характерна.

На рис. 1.2 представлены структурные формулы двух наиболее распространённых моносахаров: D-глюкозы и D-фруктозы соответственно. D-глюкоза по классификации является альдогексозой, а D-фруктоза – кетогексозой.

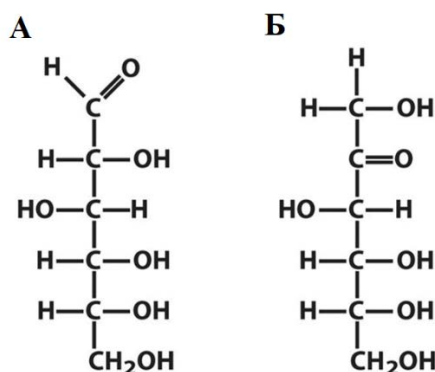


Рис. 1.2. А – D-глюкоза, Б – D-фруктоза.

1.4. D- и L-изомеры

Зачастую как минимум у одного атома углерода в составе моноуглевода, все 4 заместителя различны. Такой атом будет называться **хиральным** и, следовательно, можно получить две различных вариации расположения заместителей у этого атома, при этом один изомер по своему строению будет как бы зеркальным отражением другого. На рис. 1.3 показана модель молекулы глицеральдегида, которая показывает различия между двумя возможными изомерами. На рис. 1.4 изомеры той же молекулы представлены через проекционные формулы Фишера и перспективные формулы (т.е. с учетом трёхмерного расположения заместителей).

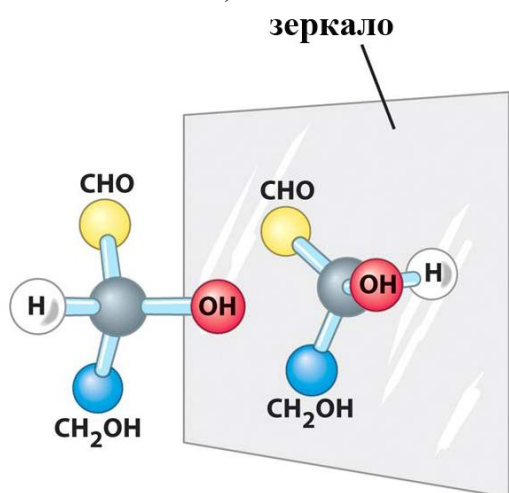
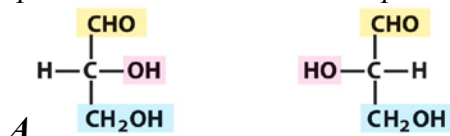


Рис. 1.3. Моделирование оптической изомерии глицеральдегида.



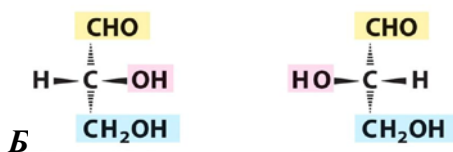


Рис. 1.4. Проекционные формулы Фишера (А) и перспективные формулы (Б) для D- (слева) и L-глицеральдегида (справа).

В биологии наличие одного асимметрического атома в молекуле, свободно меняющей свою конформацию, и, как следствие, двух возможных изомеров, не влияют на свойства молекулы. Однако, в биополимерах наличие различных вариантов одного и того же мономера может привести к изменению свойств самого полимера из-за различных вариантов структуры одной и той же длинной молекулы.

Для живых организмов характерна строго определённая селекция D- и L-форм различных соединений. Поэтому разные углеводы, возникающие из-за разной оптической активности, имеют различные свойства и названия.

Если атомов углерода много, то для альдоз число хиральных атомов углерода будет равно общему числу атомов углерода за вычетом двух концевых атомов. На рис. 5 приведены три часто встречающихся моносахарида, которые различаются конфигурацией при одном атоме: D-глюкоза, взятая за эталон, D-манноза, отличающаяся от глюкозы по расположению заместителей у второго атома углерода, и D-галактоза, отличающаяся от глюкозы по расположению заместителей у четвёртого атома углерода. Такие вещества, отличающиеся друг от друга конфигурацией только одного атома, называются **эпимеры**.

Также необходимо отметить, если два асимметрических атома расположены рядом, в случае, когда наиболее крупная и важная группа в обоих положениях направлена в одну сторону, говорят про **эритроконфигурацию**. Когда же в противоположную, то говорят про **треоконфигурацию**.

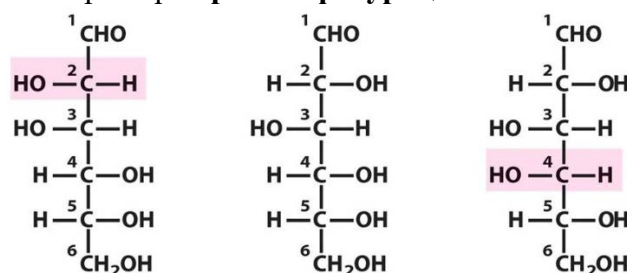


Рис. 1.5. Проекционные формулы Фишера для D-маннозы (эпимер D-глюкозы по C-2), D-глюкозы и D-галактозы (эпимер D-глюкозы по C-4).

1.5. Разнообразие моносахаров

Чтобы обобщенно называть различные группы моносахаридов, отличающиеся по длине, используют суффикс «-оза», но ставят его после латинского числительного. Так, к примеру, трёхуглеродные сахара будут называться **триозы**, четырехуглеродные –

тетрозы, пятиуглеродные – **пентозы**, шестиуглеродные – **гексозы**, семиуглеродные – **гептозы**, а больше обычно не бывает. В некоторых растительных объектах найдены восьми- и девятиуглеродные углеводы, но это частные случаи, которые подчас не претендуют на научную достоверность. Гептозы же почти всегда выступают как промежуточные соединения для синтеза ароматических соединений, других моносахаридов и так далее.

1.6. Альдозы

Из самых простых трёхуглеродных сахаров (триоз) в живых организмах встречается только **D-глицеральдегид**, но и то не в чистом виде, а как фосфорилированное производное, т.е. как промежуточный продукт обмена в гликолизе. Присоединив к D-глицеральдегиду ещё один углеродный остаток, можно получить два разных эписмера: **D-треозу** и **D-эритрозу** (рис. 1.6). D-треоза не является частью каких-либо метаболических путей в клетке, а D-эритроза в фосфорилированном виде (и только в нём) является промежуточным соединением в пентозофосфатном пути, необходимым для синтеза ароматических соединений.

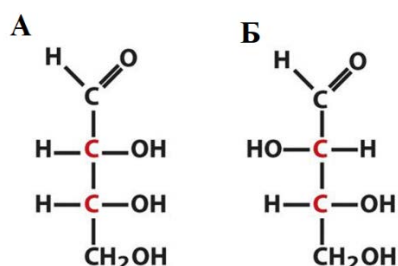


Рис. 1.6. D-альдотетрозы: А – D-эритроза, Б – D-треоза.

Из пентоз, то есть пятиуглеродных сахаров, в метаболизме клетки непосредственное участие принимают **D-рибоза**, **D-арабиноза** и **D-ксилоза**. Есть ещё **D-лихсоза**, но в клетках она не встречается (рис. 1.7). Арабиноза – единственный углевод, встречающийся в клетках в L-форме. Она и D-ксилоза образуют так называемую гемицеллюлозу, которая заполняет промежутки между целлюлозными волокнами во вторичных клеточных стенках у растений. Кроме этого, они есть в многих гликопротеидах и гликолипидах. В частности, D-ксилоза входит в состав гликопротеидов хрящей и служит там связкой между регулярными гетерополимерами и белками. D-рибоза в свободном виде практически не встречается, но входит в состав нуклеотидов и нуклеиновых кислот.

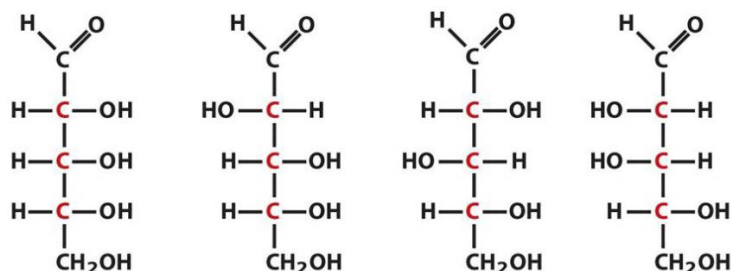


Рис. 1.7. D-альдопентозы: (слева направо) D-рибоза, D-арабиноза, D-ксилоза, D-ликсоза.

Гексозы, или шестиуглеродные сахара, - самая распространённая группа моносахаров. **D-глюкоза**, **D-манноза** и **D-галактоза** встречаются в живых организмах в чистом виде, однако, есть ещё ряд гексоз, которые можно увидеть в клетке в качестве каких-либо производных (рис. 1.8). Интересно, что такие производные зачастую образуются не через тот сахар, к которому они относятся, а из той же глюкозы, к примеру, за счёт окисления. Те же сахара, которые есть в клетке без всяких условностей, чаще всего входят в состав полимеров. При этом полимеризация, как говорилось раньше, осуществляется не присоединением свободных мономеров, а неких активированных форм, которые помимо прочего несут запас энергии для их присоединения.

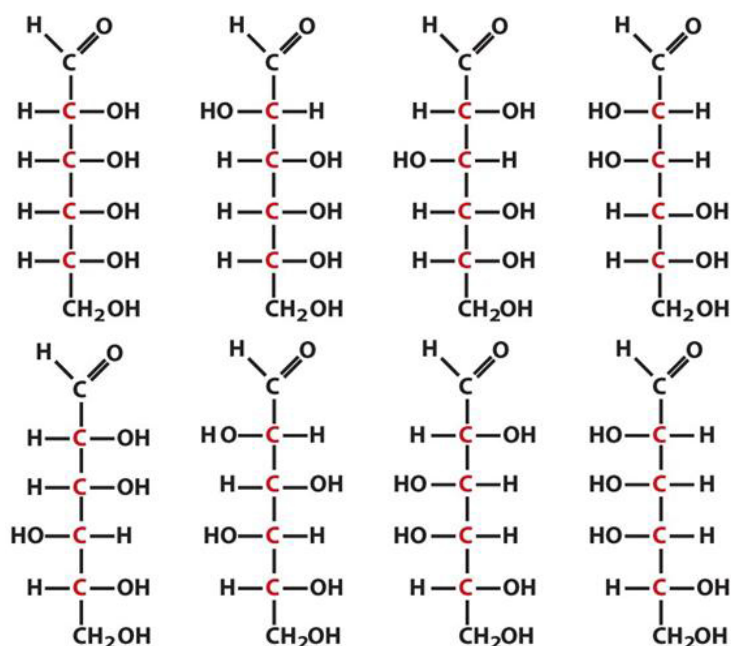


Рис. 1.8. D-альдогексозы: (верхний ряд) D-алоза, D-альтроза, D-глюкоза, D-манноза; (нижний ряд) D-идоза, D-гулоза, D-галактоза, D-таллоза.

1.7. Кетозы

Кетотетроза D-эритроулоза – единственный D-изомер, который получен напрямую из диоксиацетона (рис. 1.9).

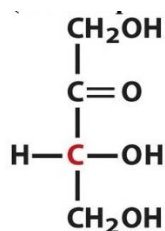


Рис. 1.9. D-эритрулоза.

Представители группы кетопентоз – **D-рибулоза** и **D-килулоза** (рис. 1. 10). Эти соединения играют важную роль в обмене веществ, в частности, в пентозофосфатном пути, но они выступают как промежуточные соединения, так что концентрация их в клетке всегда минимальна.

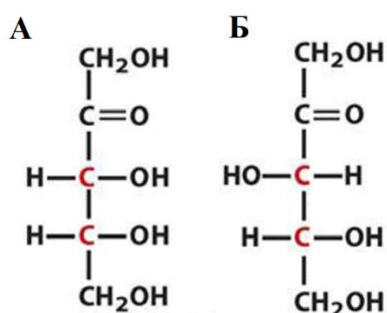


Рис. 1.10. D-кетопентозы: А – D-рибулоза, Б – D-килулоза.

Из четырёх вариантов дальнейшего присоединения атома углерода к кетопентозам и образованию соответствующих кетогексоз, только **D-фруктоза** встречается в природе (Рис. 1.11). Впервые её выделили из растительных плодов. Интересное свойство этого сахара заключается в том, что он очень сладкий. Вообще сладость – общее свойство для большинства моносахаридов и растворимых углеводов в целом, разница лишь в степени её проявления. Обычно сладость определяют методом предельных разведений, сравнивая с раствором сахарозы определённой концентрации. И если взять сладость сахарозы за 100, то сладость D-фруктозы составляет примерно 170.

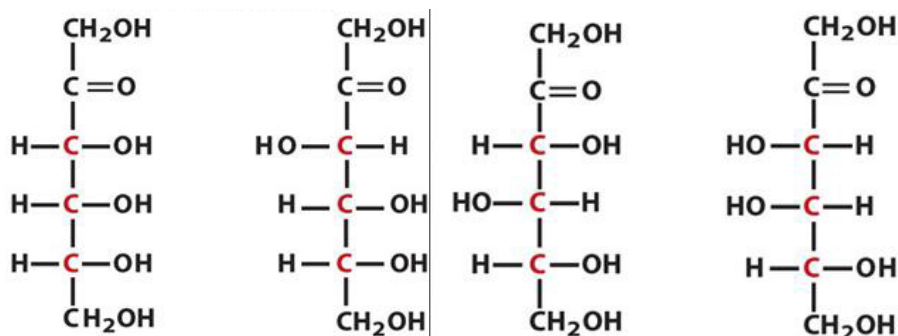


Рис. 1.11. D-кетогексозы: (слева направо) D-психоза, D-фруктоза, D-сорбоза, D-тагатаза.

1.8. Формы моносахаридов

Говоря о группах, входящих в состав моносахаридов, нужно сказать, что альдегидная группа очень активна: легко окисляется, восстанавливается, вступает в реакции с различными электроотрицательными группировками за счет того, что кислород сильно оттягивает электроны у углерода. Наиболее характерные реакции, происходящие внутри одной молекулы – взаимодействие карбонильной группы со спиртовой. В итоге получается так называемый **ацеталь** и вода. Похожим образом происходит взаимодействие спиртов с кетогруппой, и итогом этой реакции служат так называемые **кетали** (рис. 1.12).

Описанные выше процессы очень важны для клетки. В частности, на рис. 13 можно видеть, как эта реакция происходит внутри молекулы глюкозы. Молекула глюкозы за счет изгибания цепи, может, как в случае данной реакции своим пятым (а в теории ещё четвёртым и шестым) атомом углерода «дотянуться» до карбонильного углерода. Это взаимодействие приводит к тому, что формируется связь C₅-O-C₁ и замыкается кольцо. С точки зрения геометрии и энергетики, образование шестичленного кольца наиболее выгодно.

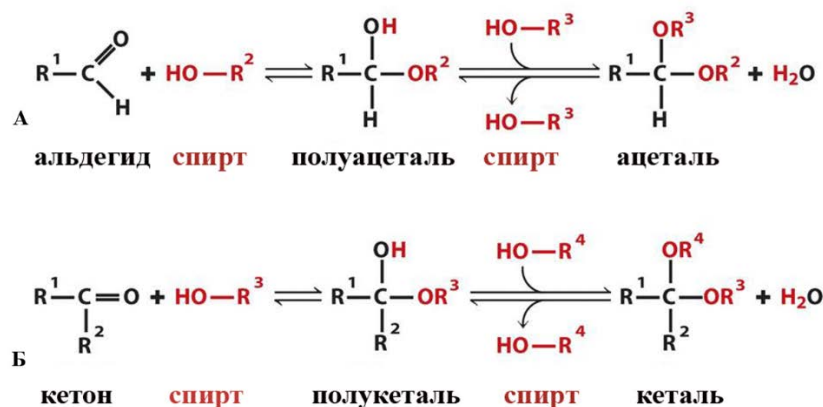


Рис. 1.12. Реакции взаимодействия альдегидов (А) и кетонов (Б) со спиртами.

Однако, у первого атома в таком случае получается 4 различных заместителя, что неизбежно ведёт к образованию двух различных форм, получивших название α- и β-форм. А поскольку в данном случае образуется шестичленное кольцо с кислородом, а ближайшим соединением с похожей структурой является пиран, то такие соединения было решено назвать **пиранозы** (рис. 1.13).

Поскольку связь C₅-O-C₁ достаточно легко образуется и разрушается, в растворе всегда присутствует равновесие между линейной, α- и β-циклической формой. Циклические формы при этом составляют около 98% от всей глюкозы в растворе, линейная – около 1%, а также всегда присутствует совсем немного других форм. Например, пятичленных циклических форм, т.н. **фураноз** (рис. 1.14).

Вообще представление фруктозы в фуранозной форме характерно, но не всегда верно. Дело в том, что в соединениях, где есть фруктоза (сахароза, инулин), она действительно в такой форме. Но она стабилизирована благодаря образованию ацетальной связи. Но в растворе она чаще встречается в пиранозной форме, хотя фуранозной формы, в сравнении с глюкозой, образуется больше.

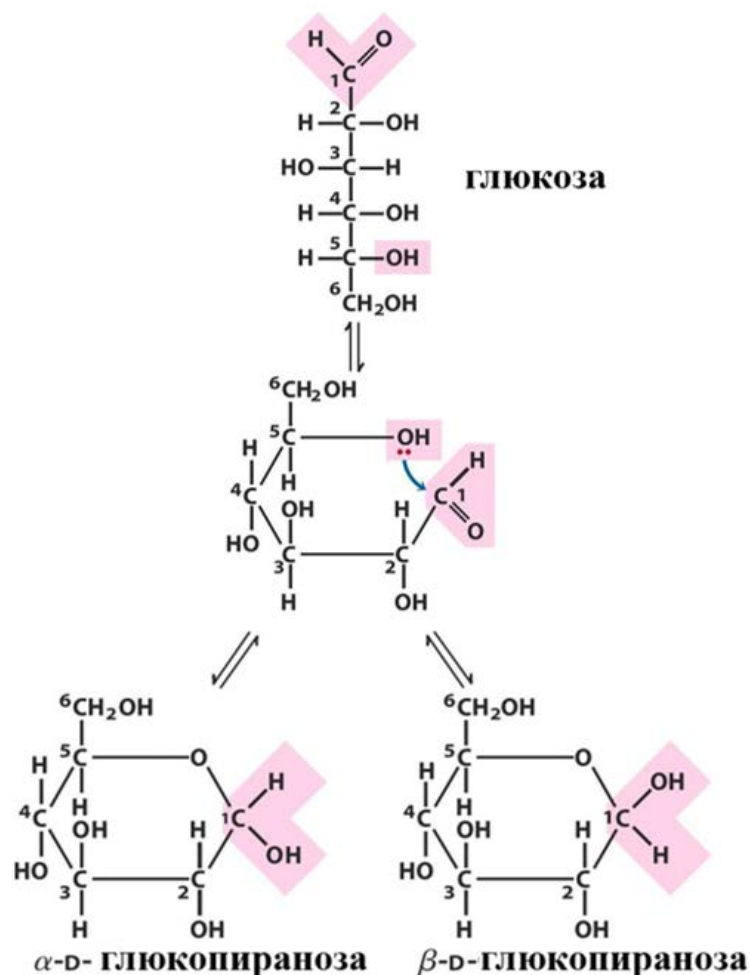


Рис. 1.13. Внутримолекулярные взаимодействия D-глюкозы в растворе.

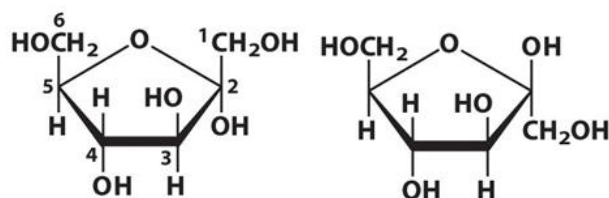


Рис. 1.14. Структурные формулы α-D-фруктофуранозы и β-D-фруктофуранозы.

Такого рода циклы не являются строго плоскими, поскольку иначе получится определённая напряженность. Ведь угол между связями в углероде равен 109° , а угол у правильного шестиугольника равен 120° . Напряженности удаётся избежать за счет изменения плоскости, в которой лежат эти углы. В результате возникают две формы: т.н. **форма «кресла»** (рис. 1.15) и **форма «ванны»**. Форма кресла наиболее устойчивая и распространенная. В случае этой конфигурации атом C_1 и атом C_4 лежат по разные стороны от плоскости, которую образуют оставшиеся в цикле атомы. В результате образуется неплоская структура с условной осью, проходящей через центр плоского четырехугольника. А группы, которые присоединены к атомам углерода, за счет необходимости поддержания угла в 109° оказываются или параллельны условной оси, или параллельны плоскости, образованной четырьмя атомами. Эти группы называют **аксиальными** и **экваториальными** соответственно. Аксиальные заместители оказываются более сближенными, чем экваториальные, и, следовательно, экваториальное положение более энергетически выгодно.

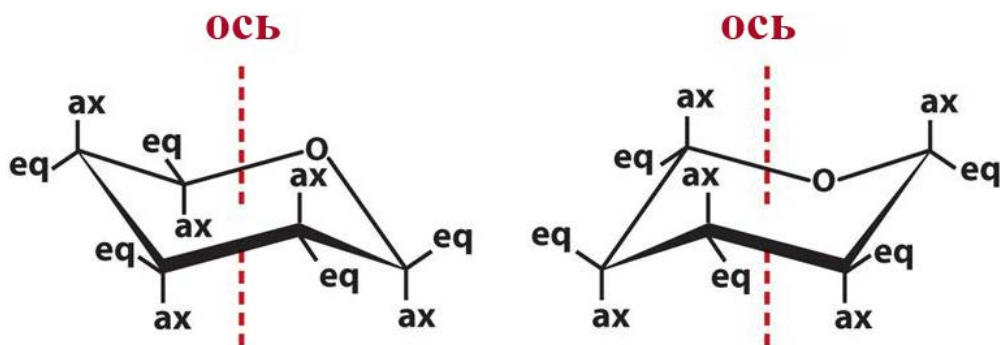


Рис. 1.15. Форма «кресла» для α -D-глюкопиранозы.

За счёт изомеризации быстро осуществляется переход одних форм в другие. В том числе и в форму ванны, когда атом C_1 и атом C_4 лежат по одну сторону от образованной плоскости центральной части кольца. Но эти изменения настолько быстры, что зафиксировать их не удаётся. В реальности имеем равновесную смесь из этих вариантов. Это может оказывать влияние то, как будет проходить реакция с определённую функциональную группой. В определённых конформациях эта группа может быть закрытой и недоступной для реакции, вплоть до момента изменения формы и перехода группы в более реактоспособное положение. Это касается прежде всего карбонильного углерода и реакций с ним сопряженных.

Лекция 2. Углеводы

2.1. Сахарные кислоты

Альдегидные группы достаточно легко окисляются с образованием карбоксильной группы. В случае углеводов эта реакция приводит к образованию **сахарных кислот**. Окисление C₁-атома в линейных альдосахарах приведёт к образованию альдоновой кислоты. В случае глюкозы образуется **глюконовая кислота** (рис. 2.1). Окисление в данном случае может производиться различными довольно слабыми окислителями, например, ионами железа или меди (рис. 2.2). Как правило, реакция происходит в щелочной среде для сдвига равновесного состояния системы в сторону увеличения количества линейной формы в растворе. Эта реакция – распространенный вариант для определения количества углеводов по их альдегидной группе.

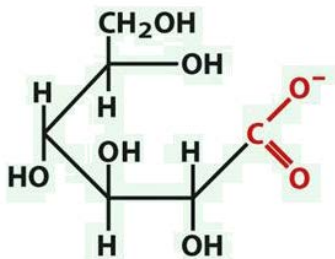


Рис. 2.1. Ион D-глюконовой кислоты.

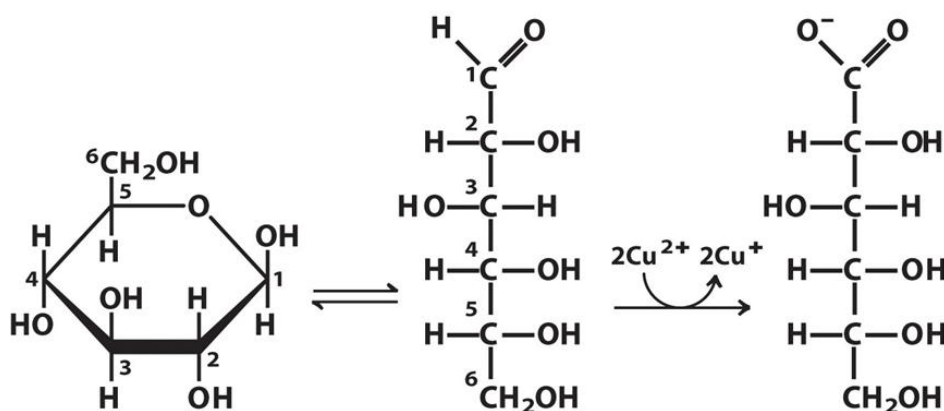


Рис. 2.2. Реакция образования глюконат-иона из глюкозы с использованием в качестве окислителя ионов меди.

Окисленный C₁-атом в циклической форме глюкозы приведёт к образованию **глюконолактона** (рис. 2.3). Фактически это не совсем кислота, поскольку образуется сложноэфирная связь внутри одной молекулы. Как раз такие соединения называют **лактонами**. С химической точки зрения этот процесс не очень удобен, реакция идёт медленно и, чаще всего, в открытой молекуле. Но в клетке субстратом служит именно циклическая форма глюкозы, из которой и образуется глюконолактон под действием

специальных ферментов. Эта реакция важна для обмена веществ, поскольку с неё начинается путь взаимопревращения углеродных молекул.

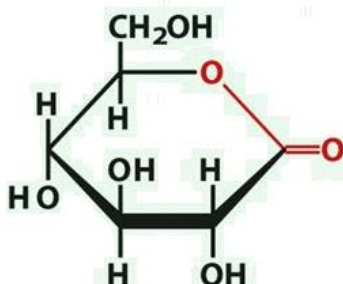


Рис. 2.3. D-глюконо-δ-лактон.

Спиртовые группы также могут окисляться, но под воздействием уже гораздо более сильных окислителей. Получится соединение, в котором на двух концах будут находиться карбоксильные группы. Эту реакцию можно осуществить хромовой кислотой или перманганатом. Такие вещества называются **альдаровые кислоты** и в обмене веществ они почти не встречаются. В какой-то форме их производные являются метаболитами в синтезе аскорбиновой кислоты.

Но если говорить про окисление C₆-атома в глюкозе, возникает ситуация, когда можно окислить только его путём защиты OH-группы у C₁, чтобы предотвратить раскрытие молекулы. После снятия защиты полученные соединения называют **уроновыми кислотами** (рис. 2.4). В случае, когда реакция осуществляется за счёт фермента, защита C₁-атома не требуется, поскольку OH-группа при этом атоме в результате обменных процессов может быть модифицирована заранее. Образование уроновых кислот идёт достаточно интенсивно у многих организмов, поскольку уроновые кислоты, несмотря на то, что они кислоты, сохраняют многие свойства углеводов.

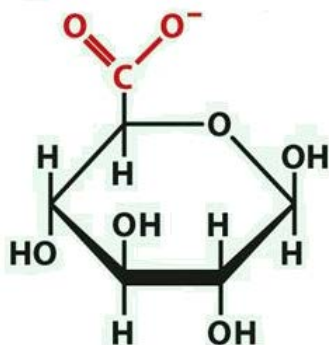


Рис. 2.4. Ион D-глюкоуроновой кислоты.

Такие циклические формы достаточно широко встречаются в живых организмах. Остатки глюкоуроновой кислоты могут присоединяться к различным гидрофобным соединениям, которые попадают в организм с пищей, и делают их более легкорастворимыми. Более того, есть специальный путь удаления конъюгатов

глюкоуроновой кислоты. Так что вещества, к которым она присоединена в почках выводятся в мочу, т.е. эта кислота служит своеобразной «чёрной меткой». Этот путь важен для удаления токсических веществ, который функционирует, как минимум, у всех хордовых. В частности, уроновые кислоты могут присоединяться к определённым растительным алкалоидам.

Уроновые кислоты также в большом количестве входят в состав различных биополимеров. В частности, матрикс соединительной ткани в значительной степени состоит из соединений, содержащих уроновые кислоты. Такие полимеры кислых сахаров называют **мукополисахаридами**. Они формируют довольно прочные структуры (например, основу для сборки сухожилий и костей, хрящи).

2.2. Многоатомные спирты

Альдегидные группы также подвержены восстановлению с образованием спиртовой группы, и альдоспирты становятся многоатомными спиртами. Самое известное и распространённое такое соединение – **глицерин** (рис. 2.5). Глицерин – основа для многих липидов. Образуется он, как правило, путём восстановления кетогруппы диоксиацетона или, иногда, альдогруппы глицеральдегида.

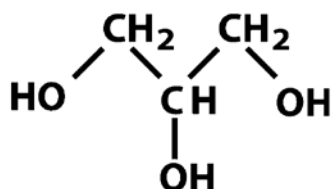


Рис 2.5. Глицерин.

Следующий важный многоатомный спирт – **D-галактинол** (рис. 2.6.). Сам по себе он в больших количествах не накапливается и не столь важен в общем обмене. Но у ряда растений он служит переносчиком определённых групп, которые активируются, присоединяясь к нему. Он получается путём восстановления галактозы. При восстановлении глюкозы же образуется **сорбит**. Это вещество применяется очень часто как заменитель сахара. Он не токсичен, легко выводится, но не очень хорошо метаболизируется. Точно также при восстановлении маннозы образуется маннит.

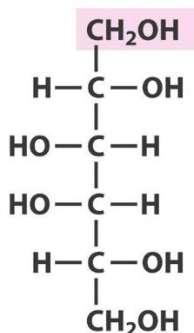


Рис. 2.6. D-галактинол.

В ряде случаев подобное восстановление приводит к тому, что вместо потерянной связи С-О образуется связь С-С. То есть карбонильный углерод присоединяется к шестому углероду и таким образом образуются циклические спирты, называемые **инозитолами** (или **инозитами**). Мио-инозит, один из стереоизомеров инозитола (рис. 2.7), встречается достаточно широко. Он, как и глицерин, является компонентом липидов клеточных мембран, играет определённую роль в регуляции процессов мембранного обмена, в ряде случаев, отсоединяясь от липидов, выполняет функцию вторичного мессенджера, вызывая определённые перестройки метаболизма. Он, как правило, связывается с другими соединениями через фосфатную группу, поэтому большую часть времени существует в виде фосфорного эфира.

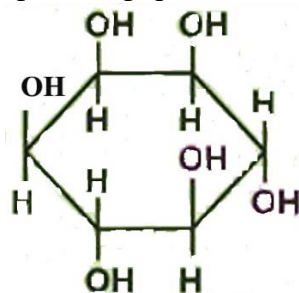


Рис. 2.7. Мио-инозит.

2.3. Дезоксисахара и дезоксирибонуклеиновые кислоты

Восстановить можно не только альдегидную группу, но и спиртовые. Сделать это сложнее, но ферментативные системы клетки с этим вполне справляются. В результате образуются **дезоксисахара**. Самые распространённые – **фукоза** и **рамноза** (рис. 2.8). Встречаются они практически повсеместно. Первоначально они были найдены в растительных объектах (в первую очередь, в водорослях). Все организмы их содержат в виде остатков полимеров. У нас эти полимеры используются как мостики, через которые полисахаридные молекулы ковалентно связываются с белками. Таких соединений много, например, в матриксе соединительной ткани. В случае, когда они выступают в роли эдаких якорей, их содержание невелико, но в растениях существуют полисахариды, в которых определённые позиции замещаются остатками, например, рамнозы, и получается соединение с достаточно большим содержанием данного дезоксисахара.

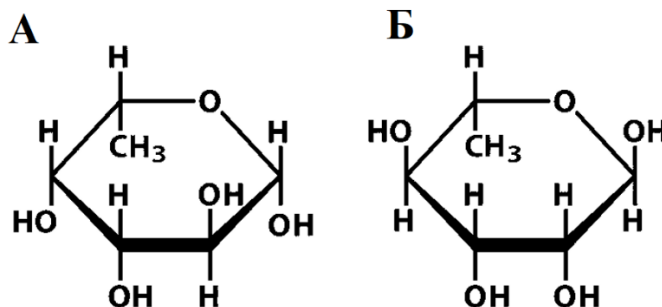


Рис. 2.8. А – β -L-фукоза, Б – α -L-рамноза.

Помимо C_6 можно восстановить и другие. Пример такого соединения – входящая в состав ДНК **дезоксирибоза**, у которой восстановлен C_2 (рис. 2.9). В свободном виде она практически не встречается. Она восстанавливается уже в составе нуклеотидов и дальше включается в ДНК. Больше она нигде не используется, потому и не образуется сама по себе. При разрушении ДНК может освобождаться какое-то её количество, но мало и кратковременно.

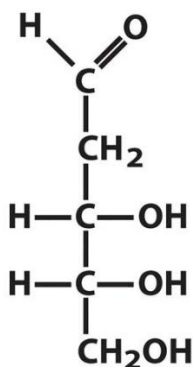


Рис. 2.9. 2-дезоксид-Д-рибоза

2.4. Обменные реакции и их продукты

Кроме окислительно-восстановительных реакций углеводы могут осуществлять различные реакции обмена, в результате которых к ним присоединяются различные группы. Чаще всего присоединение идёт на место гидроксила, иногда на место карбонильной группировки. В этом случае мы получаем производные сахаров. Когда они сохраняют альдегидную и часть спиртовых групп, они продолжают обладать основными свойствами сахаров и их обычно рассматривают вместе с сахарами как их производные. Может происходить замещение одного из гидроксильных на аминогруппу. Это довольно частая реакция, и значительная часть углеводов находятся именно в таком состоянии. Эти производные называются **аминосакхара**. На рис. 2.10 представлены аминсахара, являющиеся различными производными глюкозы. **Глюкозамин** в основном существует как компонент полимеров, в частности, хитина. Однако, там глюкозамин существует больше в модифицированном виде, с ацетильной группой, присоединенной к аминогруппе (т.н. **ацетилглюкозамин**). Это практически ликвидирует основные свойства аминогруппы, поэтому здесь не возникает временных заряженных группировок. Амидная группа здесь с одной стороны абсолютно нейтральна, а с другой стороны является хорошим лигандом для образования водородных связей, что очень кстати для структурных полимеров с глюкозамином.

Муравовая кислота представляет собой глюкозамин, у которого на C_3 вместо ОН-группы расположен остаток молочной кислоты. Это специфичное для прокариот соединение, входящее в состав их клеточных стенок. Остаток молочной кислоты вносит отрицательный заряд, к которому в составе клеточной стенки присоединяются

аминокислоты. Они, в свою очередь, образуют поперечные сшивки в полисахаридных молекулах. Поэтому в составе полимера заряда у молекулы нет.

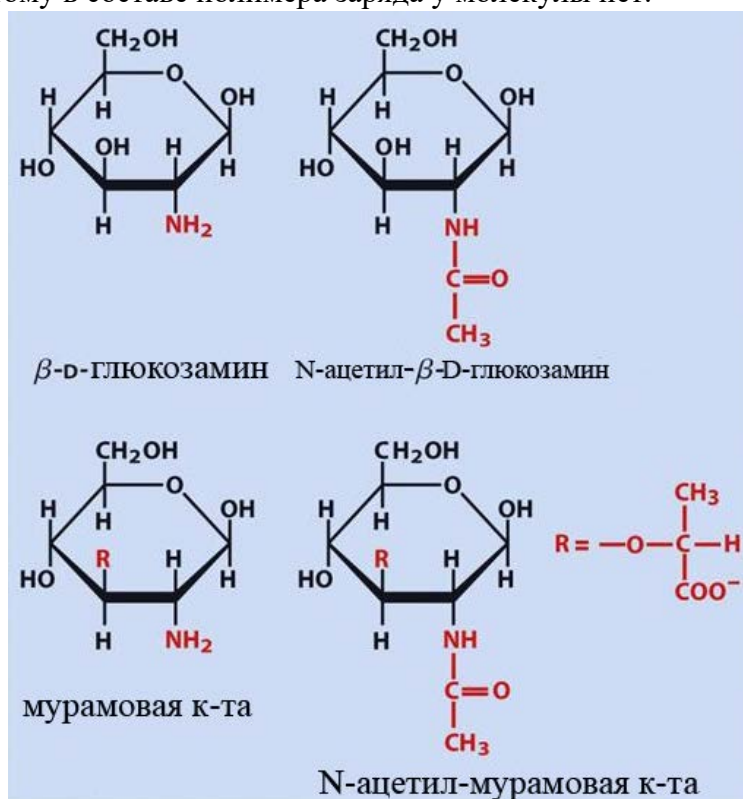


Рис. 2.10. Аминосахара-производные глюкозы.

Помимо глюкозы, аминогруппы могут присоединяться к другим моносахаридам. Например, **галактозамин** и **маннозамин** (рис. 2.11). Эти соединения встречаются только в полимерной форме. Также они в ней всегда ацетилированы по аминогруппе.

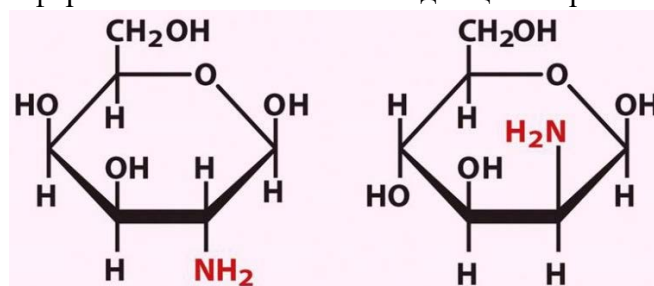


Рис. 2.11. β -D-галактозамин и β -D-маннозамин

Дополнительно нужно среди этой группы производных сахаров нужно отдельно выделить **сиаловую (N-ацетил-нейраминную) кислоту**. Их существует несколько вариантов, поскольку они создаются из разных исходных молекул. У молекулы такой кислоты, изображённой на рис. 2.12, C₁, C₂ и C из кислотного остатка – атомы пирувата, который был присоединён, C₃ – бывший альдегидный атом, ставший спиртовым. Получается C₉-соединение, у которого аминогруппа из второго положения в

изначальном сахаре переместилась в четвёртое и ацетилировалась. Из пирувата остаётся карбоксильная группа, дающая отрицательный заряд молекуле. Кетогруппа из пирувата будет вести себя как кетогруппа в сахаре, т.е. служить для замыкания кольца. R – углеводный хвост, который в данном случае указывает на то, что молекула – производное или маннозы.

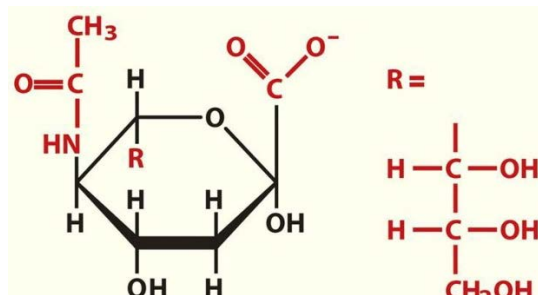


Рис. 2.12. Сиаловая кислота (производное маннозы).

2.5. Гликозиды

В случае, если происходит образование кольцевой формы, образуется ацетальный гидроксил, который, в случае углеводов, носит название **гликозильного гидроксила**, который способен присоединить к себе ещё один спиртовой остаток с отщеплением воды и, как следствие, образуется ацеталь. В отличие от образования полуацетала, эта реакция межмолекулярная. Вторым реагентом может быть любое соединение, несущее электроотрицательный атом (спирты, аминогруппы и другие азотистые группы). Получаемые соединения, в случае, если исходным источником карбонильного углерода был сахар, носят название **гликозиды**. Иначе их можно назвать ацетальными производными альдегидных и кетогрупп углеводов.

На рис. 2.13 такая реакция показана на примере двух молекул глюкозы. Глюкоза образует кольцевую форму, затем C₁, дефицитный по электронам, может прореагировать с кислородом другой молекулы, в данном случае с OH-группой при C₄ соседней молекулы глюкозы. Кислород присоединяется к первому углероду, образуется связь, отщепляется вода и затем получается соединение, в котором объединены две молекулы моносахарида, при этом одна глюкоза прореагировала карбонильным углеродом, а другая спиртовым. В результате образовалась связь между C₁ и C₄ через кислород и получился димер глюкозы, под названием **мальтоза**.

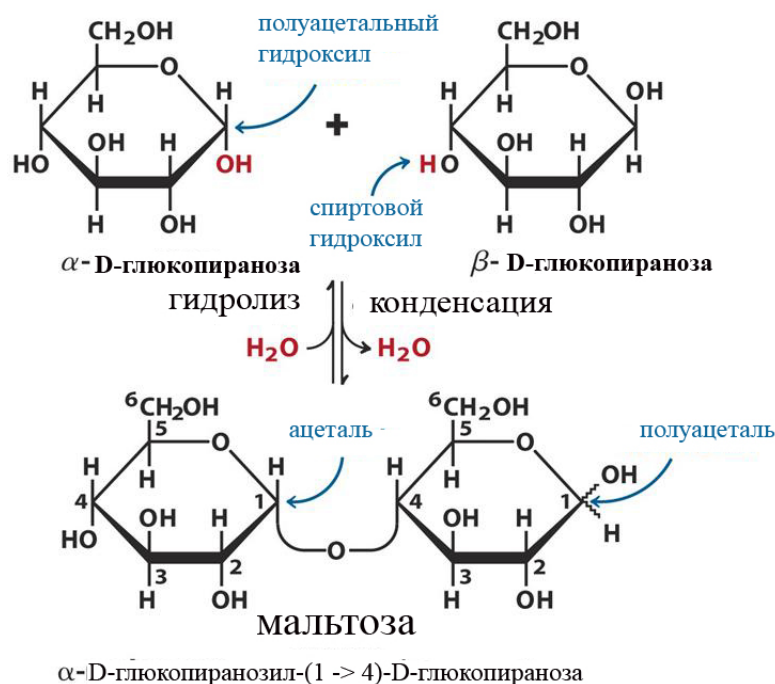


Рис. 2.13. Образование молекулы мальтозы из двух молекул глюкозы.

Мальтоза достаточно часто встречается в живой природе, но в основном как промежуточный продукт распада полимеров глюкозы: крахмала, гликогена. Полимер, естественно, распадается постепенно с разрывом отдельных связей. И если эти связи расщепляются не подряд, а большинство ферментов делает это именно так, то возникает ситуация, когда между двумя остатками глюкозы сохраняется связь, а связей с другими остатками нет. Поскольку ферменты, расщепляющие полимеры, не всегда могут расщепить такой димер, мальтоза может накапливаться. В частности, такое происходит при прорастании семян злаковых.

При образовании связи идёт выделение воды, что в водной среде энергетически не выгодно. Но мальтоза не образуется специально, а большинство других подобных соединений предварительно соединяются с активатором. Эти реакции носят ферментативный характер, и здесь проявляется очень важная особенность. Каждый фермент, участвующий в этой реакции, способен присоединять только один строго определённый тип остатков и, зачастую, к строго определённому месту. Поэтому мы можем получить различные виды димеров из одного вида мономеров. На рисунке выше приведена мальтоза, в которой связь 1-4, но связь может пройти через любой гидроксил. Таким образом можно получить большое количество изомеров. Например, в **изомальтозе** связь 1-6. Этот димер тоже образуется при разрушении крахмала, но не на линейных участках, а в точках ветвления, где помимо 1-4 связи, есть связь 1-6. Его образуется намного меньше.

Соединение, при этом, не обязательно будет идти с сахаром. Гликозильный гидроксил может присоединяться к любой спиртовой группе и, в простейшем случае, с помощью определённых химических манипуляций, можно получить просто метильное производное. Помимо спиртовых групп в этих реакциях могут участвовать аминогруппы, иминогруппы, азоты в середине углеродной цепочки и имеющие одну валентность занятую водородом, азоты из ароматических и других кольцевых соединений. Так что по большому счёту все соединения, у которых гликозильный гидроксил замещён на какую-либо группу, называются гликозидами. Если связь идёт через кислород, это **О-гликозиды**. Если через азот, то **Н-гликозиды**. Гораздо реже встречаются **С-гликозиды**. Они характерны для крестоцветных. Пряные вкусы и запахи у хрена, горчицы и других растений обусловлены наличием С-гликозидов, которые выделяют пахучие и едкие вещества при гидролизе. С-гликозиды встречаются совсем редко, потому что для образования С-С связи один углерод должен быть с сильным отрицательным зарядом. Это случается, если, к примеру, углерод связан с серой и азотом с двух сторон. К Н-гликозидам относятся нуклеотиды и нуклеиновые кислоты, поскольку азотистые основания связаны с сахаром через Н-гликозидную связь.

2.6. Дисахариды

По любой из спиртовых групп может быть присоединён остаток своим гликозидным гидроксильным. Возникают различные изомерные формы **дисахаридов**. Дисахариды фиксируют карбонильный углерод в определённом положении, а значит, один из моносахаридов всегда остаётся в одной форме. Поэтому при названии таких соединений необходимо указывать все группы, которые определённым образом заняли своё место в соединении. Полное название получается достаточно длинным.

На рис. 2.14 показана структурная форма **лактозы**, которая полностью будет называться β -D-галактопиранозил-(1-4)- β -D-глюкопираноза (или Gal(β 1-4)Glc в сокращённом виде). Состоит она из остатка галактозы, который через свой карбонильный углерод в β -форме присоединяется к гидроксильной у С₄-положения глюкозы. У глюкозы первое положение свободно, поэтому она может открываться и закрываться.

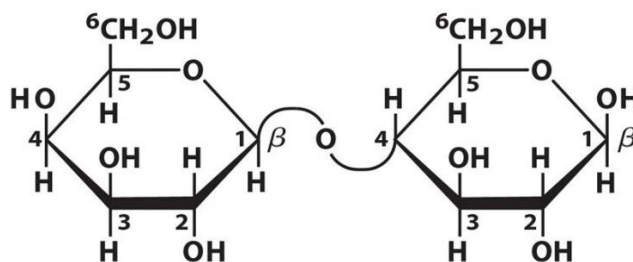


Рис. 2.14. β -лактоза.

При образовании доминирует именно β -лактоза. Также может образоваться α -лактоза, но её образовывается гораздо меньше.

Если связь перейдёт в другое положение, получится другая молекула с другими свойствами. Очень важным является то, что такие связи расщепляются в живых организмах специфическими ферментами. В частности, лактоза расщепляется β -галактозидазой, которая у нас вырабатывалась в младенчестве, пока мы питались материнским молоком. Это характерно для всех млекопитающих. Во взрослом состоянии большинство млекопитающих не получают молоко и этот фермент у большинства не вырабатывается. У человека же закрепилась мутация, позволяющая синтезировать β -галактозидазу во взрослом состоянии. Эта мутация есть не у всех животных: нельзя давать молоко некоторым породам кошек. Более того, этот отбор не прошел у некоторых групп людей. К ним относится ряд северных народов, у которых не было развито молочное животноводства. То же самое касается народов тропических областей.

2.7. Сахароза

Сахароза – самый распространённый в природе и, пожалуй, самый важный дисахарид (рис. 2.15). Сахароза образуется в результате соединения остатка α -глюкозы гликозильным атомом с вторым гликозильным атомом β -фруктозы. Химическое название сахарозы - α -D-глюкопиранозил-(1-2)- β -D-фруктанозид (Glc(α 1-2 β)Fru). Оба моносахарида не могут раскрыть своё кольцо.

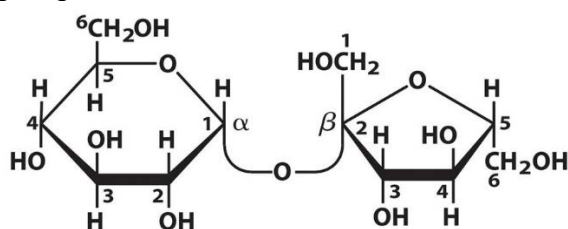


Рис. 2.15. Сахароза.

Для образования этого дисахарида необходимо активировать именно карбонильные углероды. Путь этот довольно сложный. Гидролиз этой связи идёт с выделением большого количества энергии. Сахарозу не принято называть макроэргическим соединением, но ΔG свободного гидролиза сахарозы всего лишь на 10% меньше, чем у АТФ. Эту энергию в некоторых случаях используют растительные клетки. Они используют сахарозу как донор глюкозных остатков в ряде реакций.

За счёт участия в связи гликозильного углерода, соответствующий остаток не может раскрыться и образовать свободную альдегидную группу. То есть не способен к реакциям восстановления. Сахара, у которых свободная гликозильная группа и они могут раскрываться, называются **редуцирующие**. Сахара, у которых он занят, называются **нередуцирующими**. В мальтозе, изомальтозе и лактозе один из остатков был связан по гликозильному гидроксилу, но второй не был. Данные дисахариды также являются редуцирующими, но их редуцирующая способность вдвое меньше.

В сахарозе же циклы завязаны друг на друга раскрыться не могут, поэтому сахароза – нередуцирующий сахар. Но связь между остатками моносахаров легко

расщепляется. Гидролиз сахарозы происходит практически полностью при нагревании с кислотой. Этот процесс используется человеком при варке варенья.

2.8. Трегалоза

Трегалоза – ещё один распространённый нередуцирующий дисахарид (рис. 2.16). Она состоит из двух молекул глюкозы, соединённых первыми атомами. Возможно три типа соединений: когда соединяются две α -глюкозы, две β -глюкозы или одна α - и одна β -глюкоза. В природе в основном встречается первый вариант. Она распространена в основном у грибов и насекомых. Грибы используют трегалозу как запасной дисахарид и транспортную форму. Насекомые и ряд других членистоногих накапливают трегалозу в гемолимфе при переходе к экстремальным условиям (перед зимой, например). За счёт высокой концентрации трегалозы при охлаждении гемолимфа не кристаллизуется, а образует стеклоподобную структуру. Таким образом она не нарушает структуру окружающих клеток и понижает температуру полного замерзания. Иными словами, трегалоза работает как криопротектор. Похожее происходит при дефиците воды и высоких температурах. В этом случае трегалоза помогает организму не терять воду.

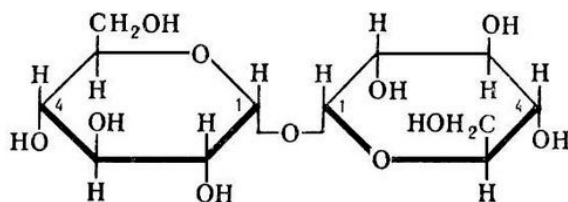


Рис. 2.16. Трегалоза.

2.9. Кестозы

Гидроксилы этого дисахарида могут служить местом присоединения следующего моносахаридного остатка. В природе существует определённое количество соединений с тремя такими остатками. Их немного, они являются промежуточными соединениями. Такими соединениями являются **кестозы**. Кестозы образуются из сахарозы за счёт присоединения к фруктозе ещё одного фруктозного остатка. В случае на рис. 2.17 присоединение произошло по C_2 . Известны случаи, когда остаток присоединяется к C_6 фруктозы в сахарозе. Образуется кестоза-6. Эти трисахариды являются предшественниками более длинных цепочек, в которых количество фруктозных остатков постепенно увеличивается.

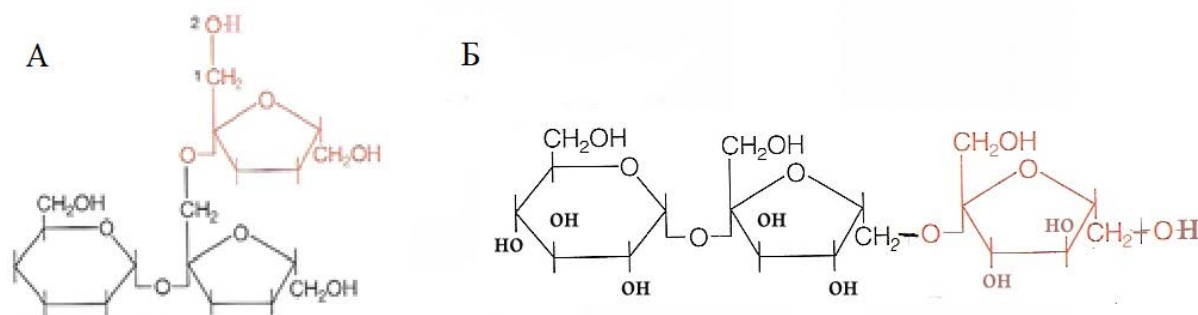


Рис. 2.17. А – кестоза-2, Б – кестоза-6.

2.10. Раффиноза

Присоединяться могут и другие моносахариды. Если к глюкозе сахарозного остатка присоединится галактозный остаток, получится **раффиноза** (рис. 2.18). Галактоза здесь находится в α -форме. В человеческом организме нет α -галактозидазы, поэтому мы расщеплять раффинозу полноценно не можем. Это способны делать бактерии, живущие в кишечнике. Растения запасают раффинозу, чтобы использовать её для роста. Поэтому раффинозы много в семенах бобовых. Один из способов избавиться от раффинозы в продуктах питания – замочить их на ночь (так поступают с горохом при варке супа). Другой способ – прорастить смена. Он распространён во многих восточных кухнях.

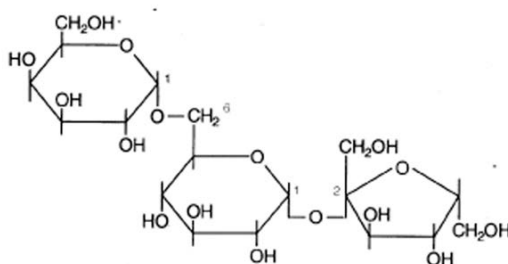


Рис. 2.18. Раффиноза.

2.11. Стахиоза

Перенос глюкозного остатка осуществляется неспецифичным к акцептору ферментом. Так к галактозе раффинозы может присоединиться ещё одна галактоза. Образуется тетрасахарид **стахиоза** (рис. 2.19). К стахиозе может присоединиться третий остаток галактозы с образованием пентасахарида **вербаксозы**. Стахиоза и вербаксоза встречаются реже и в меньших количествах.

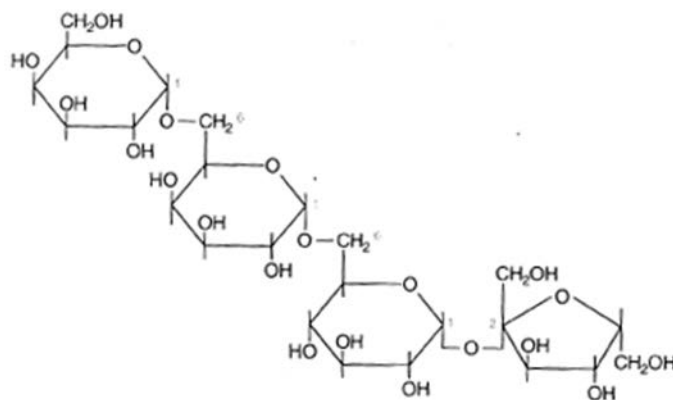


Рис. 2.19. Стахиоза.

2.12. Инулин

Теоретически, ограничения к дальнейшему удлинению цепи нет. Если в кестозе присоединить к фруктозному остатку достаточное количество таких же остатков по первому положению, образуется полифруктоза с глюкозным остатком на конце. Такое соединение называется **инулин** (рис. 2.20). Длина цепочек в нём, как правило, несколько десятков фруктозных остатков.

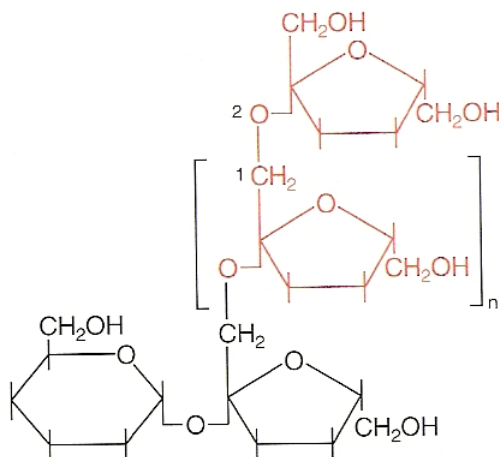


Рис. 2.20. Инулин.

Инулин часто запасается в покоящихся органах сложноцветных. Как пример можно привести корень цикория, клубни георгинов, топинамбур. Инулин легко получить в чистом виде. Он достаточно хорошо растворим в горячей воде и совершенно нерастворим в холодной. Это необходимо для того, чтобы получить из инулина чистую фруктозу. Инулин легко гидролизуется, как и сахароза. Полученная фруктоза используется как подсластитель для диабетиков.

2.13. Леван

Возможно присоединение фруктозного остатка не к первому положению, а к шестому. В таком случае также возможно дальнейшее удлинение молекулы путём

присоединение большего числа фруктозных остатков. Таким образом синтезируется **леван** (рис. 2.21).

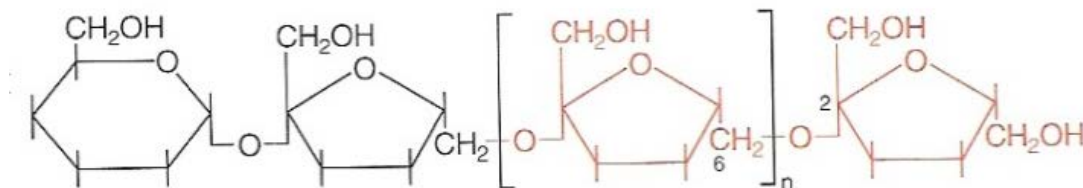


Рис. 2.21. Леван

2.14. Гомо- и гетерополисахариды

Самый простой вариант полисахарида наблюдается, когда мономеры одного типа образуют цепь без ветвлений. Они называются **линейными гомополисахаридами**. Они очень распространены среди углеводов. К ним относится целлюлоза, самое распространённое органическое вещество, часть крахмала, амилоза.

Гомополисахариды могут ветвиться. Присоединение в точке ветвления может начаться с присоединения мономера по отличному от всей остальной цепи гидроксину с нарастанием новой цепочки. К **разветвлённым гомополимерам** относятся гликоген и амилопектин. Они так же очень распространены.

Большую роль играют и полимеры, в которые включаются различные мономеры. Такие полисахариды называются **гетерополисахаридами**, и они также могут быть и **разветвлёнными**, и **линейными**. Также они могут различаться по тому, сколько различных мономеров входит в состав, как они чередуются и чередуются ли вообще. Линейные гетерополимеры с повторяющимся димером чаще всего играют структурную роль, как и линейные гомополимеры. Зачастую они содержат остатки уроновых кислот, что делает их молекулы заряженными. Образованные линейные цепочки могут взаимодействовать с другими веществами для образования довольно прочных структур. Нерегулярные гетерополимеры в чистом виде не существуют, а присоединяются к структурным или сигнальным молекулам (белкам, мембранным липидам).

2.15. Обозначения полисахаридов

При описании любого полимера необходимо указать, какие мономеры и в какой форме входят в его состав и в какой последовательности они соединены. Обычно по умолчанию указана пиранозная форма. Также введена определённая система обозначений для моносахаридов и их производных (табл. 2.1). Могут возникнуть и другие производные, но для них также вносят частное обозначение. Однако, всё равно есть необходимость указывать, каким атомом связывается кольцо с гликозильным углеродом.

Абеквоза	Abe	Галактуронозная к-та	GalA
Арабиноза	Ara	Глюкуронозная к-та	GlcA
Галактоза	Gal	Маннуронозная к-та	ManA
Глюкоза	Glc	Идуринозная к-та	IdoA
Ксилоза	Xyl	Мурамовая к-та	Mur
Манноза	Man	N-ацетилмурамовая к-та	Mur2Ac
Рамноза	Rha	N-ацетилнейраминовая к-та (сиаловая к-та)	Neu5Ac
Рибоза	Rib	Галактозамин	GalN
Фруктоза	Fru	Глюкозамин	GlcN
Фукоза	Fuc	Маннозамин	ManN
		N-ацетилгалактозамин	GalNAc
		N-ацетилглюкозамин	GlcNAc
		N-ацетилманнозамин	ManNAc

Табл. 2.1. условные обозначения для моносахаридов и их производных.

2.16. Олигосахариды и полисахариды

Полимеры углеводов делят на две группы по размерам: олигосахариды и полисахариды. Значит, требуется эти группы каким-то образом разграничить. Иногда встречаются обозначения «полисахариды I или II порядка», что также требует пояснений.

Существуют два подхода к классификации, между которыми до сих пор так и не выбрали. Первый – химический. Меньше десяти углеводных остатков в полисахаридной цепи – олигосахариды. Больше – полисахариды. При этом на рубеже 10 моносахаридов никаких значительных различий в структурах нет.

Биологи же пошли путём, основанным на различиях в свойствах. В частности, растворимость. Так олигосахарид будет быть растворимым и обладать сладким или сладковатым вкусом. У длинных полимеров пропадает возможность раздражать вкусовые рецепторы из-за размера молекул. Полисахарид, соответственно, будет нерастворим и не будет давать сладкий вкус.

Но в последнее время границы размылись. Есть соединения, содержащие до 50 остатков, но при этом структура очень ветвистая. Эти многочисленные вещества называют олигосахаридами, хотя по свойствам они ближе к полисахаридам. Они

обладают высокой биологической специфичностью: таким образом маркируются, например, группы крови. Есть базовый олигосахарид, который даёт вариант группы крови 0. А если к нему присоединить остаток галактозы или галактозамина, что соответствует группам крови А и В, и он становится антигенным. Эта специфика появилась в результате мутации в одном белке. При этом олигосахариды, привязанные к группам крови, находятся в связке не с белками, а с мембранными липидами. Взаимодействие клетки с внешними сигналами также осуществляется углеводным компонентом, сидящим на мембране.

Наиболее распространенными на Земле являются полимеры глюкозы. Они могут выполнять структурные или запасные функции. Основным структурным полимером является целлюлоза. Основными запасными – крахмал и гликоген, которые с химической точки зрения отличаются только степенью ветвления. Исходя из этого они различно ведут себя в клетках и используются. У гликогена все молекулы сильно разветвлены, у крахмала же есть линейная фракция амилозы и разветвлённая фракция амилопектина. Степень ветвления зависит от природы организма, в котором это происходит, определённых мутаций. Из-за этого возможны различные степени упаковки молекулы. У гликогена же упаковка максимально плотная, потому что ответвление образуется везде, где его можно присоединить.

Лекция 3. Полисахариды в организмах

3.1. Целлюлоза

Целлюлоза – линейный гомополимер, состоящий из остатков D-глюкозы, соединенных между собой $\beta(1-4)$ связью. В отличие от крахмала, тут образуются дополнительные водородные связи между ОН-группой при C_6 одного остатка и ОН-группой при C_2 второго остатка, а также между кислородом кольца одного остатка, и ОН-группой при C_3 другого остатка (рис. 3.1). Такая связь может образовываться только в случае если, при наличии β -связи, соседние остатки повернуты в противоположном направлении на 180° . Получается, что фактически структурной единицей целлюлозы является двууглеводный целлобиозный остаток, повторяющийся по всей длине цепи.

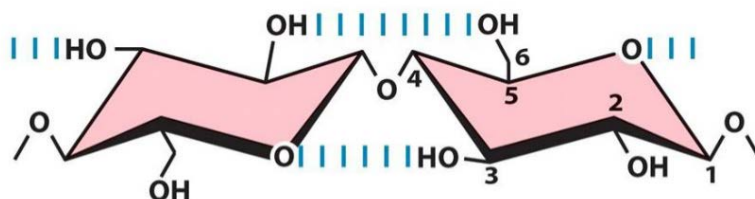


Рис. 3.1. Структурная единица целлюлозы.

Наличие водородных связей приводит к формированию устойчивой структуры, которая не подвержена вращению вокруг связи между мономерами. Это дополняет ковалентную связь, делая её неподвижной. В результате вся цепочка представляет из себя длинную вытянутую ленту. Такая лента имеет большое количество мономерных звеньев, которые между собой образуют поперечные водородные связи.

В образовании целлюлозы задействован специальный комплекс, который состоит из шести идентичных субъединиц. Каждая из них делает свою цепь. Таким образом, шесть целлюлозных цепей синтезируются параллельно и сразу связываются между собой. Образуются прочные фибриллы, которые обеспечивают клеточной стенке механическую прочность.

Если целлюлоза заранее не уложена, у неё будут несколько иные свойства. Есть растворимые формы целлюлозы, которые образуют некоторые бактерии для образования капсул. К ним относятся представители рода *Acetobacter*. Такие целлюлозные волокна тоже образуют между собой водородные связи, но не на всём протяжении цепи. И если такую целлюлозу определённым образом перевести в более компактное состояние (растворить в растворителе, который уменьшает количество окружающей воды, а затем перевести в воду), образуются волокна, не так строго соответствующие друг другу, а связанные на разных участках. Получится очень длинный конгломерат, параллельно расположенных цепей полимера. Фактически, ограничения по размерам окончательного продукта нет. Такие соединения за счёт большой массы отличаются большей, чем у обычных целлюлозных материалов, прочностью. В частности, таким образом получают искусственный шёлк, или вискозу, и другие искусственные материалы.

3.2. Гемицеллюлозы

С состав растительных клеточных стенок входят и другие полимеры, называемые **гемицеллюлозы**. Они являются полимерами других моносахаридов. В частности, там много полимеров **ксилозы**, где она ведёт себя практически так же, как целлюлоза. Однако, в ксилозе меньше водородных связей, поэтому она выступает в роли заполняющего вещества между целлюлозными волокнами.

У растений в определённых условиях образуется **каллоза** (рис. 3.2). Это β -глюкан с связями C_1-C_3 . В отличие от целлюлозы, такие связи не дают возможности формировать особо прочные волокна. Каллоза, в сравнении с целлюлозой, более рыхлая. Поэтому с её помощью можно заполнять различные свободные участки. Открыта была каллоза изначально как компонент раневых защитных структур в растении. Такие каллозные области, как правило, дальше остаются на растении в виде рубца. При этом каллоза также встречается как регулярный компонент клеточных стенок.

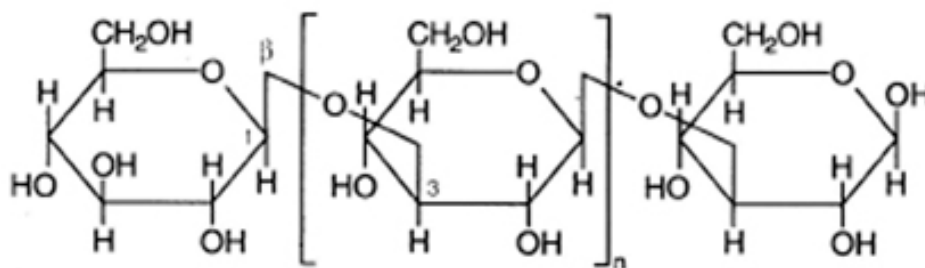


Рис. 3.2. Каллоза (β -(1-3)-глюкан)

3.3. Заполнение клеточной стенки. Пектины

Существует достаточно много различных вариантов заполнения клеточной стенки полимерами, помимо целлюлозы. Наборы полисахаридов и их структура различаются в разных группах и даже разных типах ткани растения. В учебнике Ленинджера приведена одна такая структура, которая является очень частным случаем. Речь идёт о целлюлозных волокнах, к которым присоединены полимеры галактозы и маннозы, у которых ксилоза и арабиноза – боковые группы. Эта структура характерна для первичных клеточных стенок в культуре клеток некоторых клёнов. Сейчас же известно, что во вторичных клеточных стенках накапливается много полимеров ксилозы.

Ещё одна группа полисахаридов, частично играющая роль в заполнении пространства между целлюлозными волокнами и осуществлении межклеточной адгезии, называется **пектины** (рис. 3.3). Они представляют из себя полимеры галактоуроновой кислоты, иногда с некоторыми заместителями.

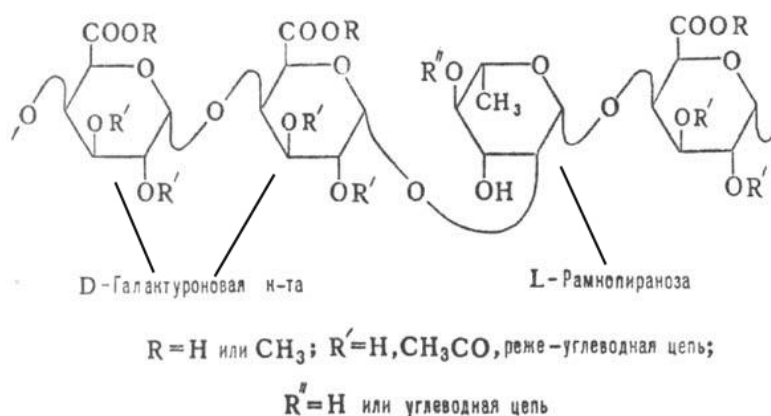


Рис. 3.3. Пектин и различные варианты заместителей в галактоурановой кислоте.

В случае, когда особых заместителей нет, образуется **полигалактуронат**. Это соединение в нормальных условиях отрицательно заряжено за счёт диссоциации карбоксильной группы и принимает вытянутую форму. Растворы такой кислоты очень вязкие. В ряде случаев такая форма преобладает или образуется, потому что присоединяемые группы могут гидролизироваться в кислых условиях. В некоторых видах растений они накапливаются на поздних стадиях формирования плода, когда нужно мацерировать (размягчить) клеточную ткань. Такая форма очень полезна в определённом смысле, поскольку из-за отрицательного заряда она легко связывает ионы тяжёлых металлов. В некоторых профессиях «за вредность» выдают пектиновые препараты или яблочный сок с мякотью, в котором пектина также много. Пектины плохо перевариваются, и, связывая тяжёлые металлы, они мешают всасываться и им.

Как правило, модификация мономера галактоурановой кислоты происходит только по одному из атомов. В качестве заместителей также могут выступать метиловые группы, но чаще всего это остаток уксусной кислоты. Образуется ацетильная группа, присоединённая сложноэфирной связью. Гидролиз этих групп, как говорилось выше, происходит достаточно легко. Также очень часто к карбоксильным группам присоединяются ионы кальция, связывающие две карбоксильные группы из разных цепей.

Пектины образуют вязкие растворы, но в определённых растворах, но в определённых условиях в этих растворах происходят структурные переходы. В частности, при pH ниже 4,5 и при добавлении большого количества олиго- и моносахаридов или вообще любых водоотнимающих компонентов, структура превращается в гель. Это используется в пищевой промышленности для производства мармелада из некоторых соков.

Пектины служат для «склеивания» клеток между собой. Поскольку задачи у растительных клеток различные, в некоторых случаях необходимо жёсткое соединение, в некоторых случаях необходимо клетки разделить. Склеивание происходит в процессе деления. Пектины – основной компонент срединной пластинки в растительном митозе.

Для разделения необходимо разрушить эти материалы. У растений это происходит в строго определённых местах, но аналогичные процессы могут проводить различные растительные патогены. Фитопатогенные грибы выделяют два класса ферментов, разрушающих пектины. Первый – гидролазы, отщепляющие метильные и ацетильные группы. Ферменты из второго класса рвут связь между мономерами. Разрыв происходит с образованием двойной связи между C_1 и C_2 . Такие ферменты называются пектаттазы. Они вырабатываются грибами, вызывающими плесени растений. Этот фермент широко используется для осветления различных растительных экстрактов: при производстве соков, вин.

3.4. Декстран

Часто в различных группах организмов клеточные стенки построены не из целлюлозы, а из полимеров, полученных из глюкозы с β -связями или с чередованием α - и β -связей. Такие полимеры также имеют вытянутую длинную форму, но не образуют жёстких параллельных цепей. Фиксируются они водородными связями между цепями, а не за счёт отсутствия вращения внутри цепей.

Чаще всего возникают либо 1-6, либо 1-3 связи между мономерами. Такие клеточные стенки можно найти у дрожжей. У дрожжей формируется β -(1-3)-гликан, или **декстран**, который может разветвляться за счёт 1-6 связей. Именно он образует основу от клеточной стенки у дрожжей, в то время, как у других грибов основой является хитин. У дрожжей хитин выступает подложкой для декстрана. Декстраны со связью 1-6 могут ветвиться по 1-3 связи. Разветвлённые декстраны образуют определённого рода трёхмерную структуру.

Некоторые декстраны, как изображенный на рис. 3.4, формируются определёнными бактериями для образования капсул. В частности, α -(1-6)-декстран выделяется бактериями рода *Leuconostoc*.

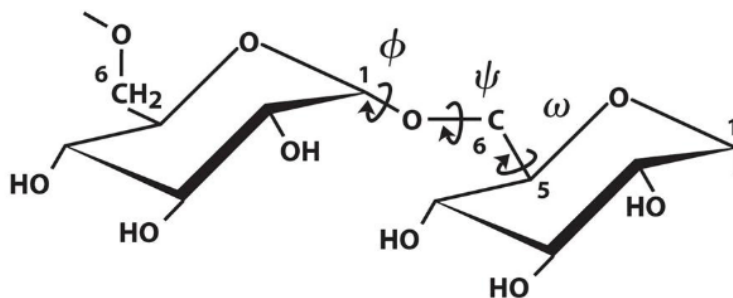


Рис. 3.4. Декстран.

В некоторых случаях α -(1-6)-декстраны используются как запасные полисахариды. Они накапливаются в клетках некоторых видов водорослей.

3.5. Полисахариды водорослей

Вообще у водорослей в клеточных стенках много различных компонентов зависимости от систематической группы. Один из самых известных из них, **агароза** (рис. 3.5), - основной компонент агар-агара, получаемого из красных водорослей. Это

соединение представляет из себя связанный β -(1-4)-связью полимер галактозы, каждый второй атом в котором модифицирован. Модификация заключается в образовании связи между свободной CH_2OH -группой и гидроксилом C_3 -атома в цикле и присоединения сульфит-иона к гидроксигруппе C_2 -атома в цикле. В результате циклизации D-сахар становится L-сахаром.

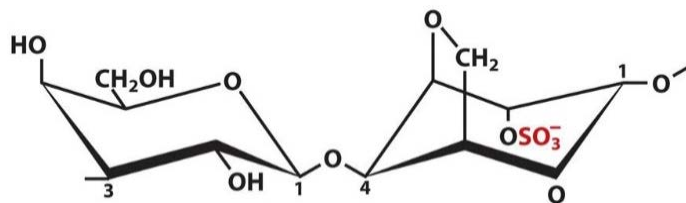


Рис. 3.5. Повторяющаяся структурная единица агарозы.

Формируется жёсткая структура в результате формирования малоподвижного участка. Длинные ровные цепи полимера образуют плотные пути, складывающиеся в пространственную решётку. В результате формируются плотные гели несмотря на небольшое количество твёрдого вещества. Это свойство используется при производстве желе, мармеладов, лабораторных гелей, сред. Использование агаризованных сред позволяет выделить конкретный микроорганизм-возбудитель, вырастив отдельные его колонии на твёрдой среде.

Альгиновые кислоты встречаются в бурых водорослях. Толстый слой слизи, которой они покрыты, в основном состоит из этих кислот. Основная её задача – предотвратить высыхание организма при попадании на сушу. Альгиновые кислоты состоят из остатков α -L-гулурановой и β -D-маннуровой кислоты, которые расположены в полимере в различном порядке. Модификация происходит на уровне промежуточного продукта, а включение полимеров в цепь идёт случайным образом. Но в некоторых видах альгиновых кислот находят блоки, в которых есть полимер только одного компонента. Эти блоки могут быть достаточно протяженными, до нескольких сотен мономеров.

Именно карбоксильные группы определяют свойства соединений: образование вязких растворов и сильное гидратирование растворов. Как и пектины, альгиновые кислоты могут использоваться для загущения растворов. Альгиновая кислота в чистом виде гелей не образует и является нерастворимым веществом. Для получения гелей необходимо ввести в раствор ионы кальция для образования связей между цепочками. Этот процесс используется для получения включенных в гель клеток в колоночных проточных реакторах.

Альгиновые кислоты различны по степени полимерности. У некоторых водорослей длина составляет несколько десятков мономерных единиц, но есть и те, у которых включается до нескольких тысяч мономерных единиц. Альгиновые кислоты не образуют очень прочных структур, но хороши в создании гелевой среды.

При этом у водорослей есть не только уникальные структурные полисахариды, но ещё и характерные для отдельных групп запасные полисахариды. У бурых водорослей

вместо крахмала накапливается **ламиноран**, полисахарид из глюкозных остатков с не очень длинными цепочками. Как и крахмал, формирует гранулы, но с отличной от крахмала пространственной конфигурацией. У красных водорослей существует целое семейство **карагинанов**, которые также могут формировать плотные нерастворимые гранулы. Эти полисахариды могут использоваться в пищу человеком (например, пищевую ценность представляет бурая водоросль ламинария).

3.6. Хитин

Хитин по своему распространению в природе занимает второе место после целлюлозы. Этот полисахарид образуется у грибов и у членистоногих (рис. 3.6). У грибов хитин является основой клеточных стенок. Хитин, в отличие от целлюлозы, содержит ацетилглюкозамин в мономерах. Хитин из-за своей структуры не может образовывать водородные связи между остатками, но она образуется внутри самой молекулы. В результате этого молекула закручивается в спираль на некоторых участках. Так уложена кристаллическая его часть.

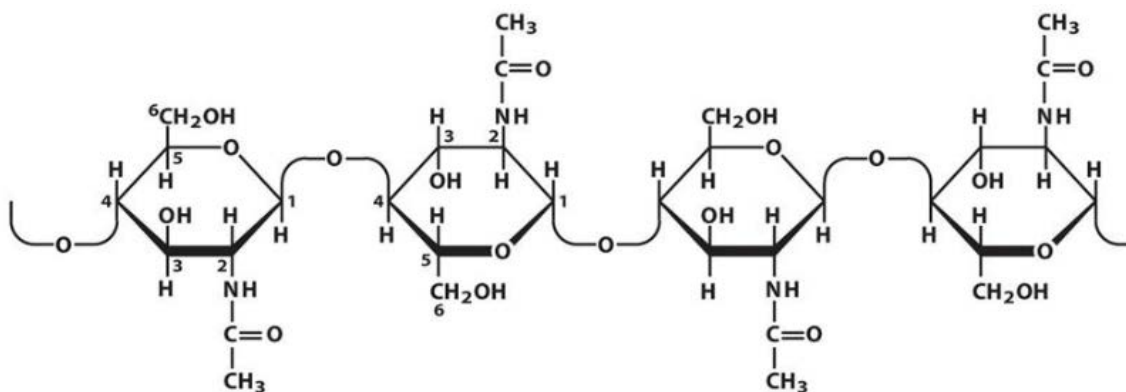


Рис. 3.6. Хитин

У грибов хитин – не единственный компонент клеточной стенки, но, как правило, остальные компоненты неуглеводные (только у дрожжей помимо хитина есть ещё много декстрана). Клеточная стенка грибов – менее углеводная структура, чем клеточная стенка растений.

Хитин также входит в состав наружного скелета членистоногих. У них хитин также не единственный компонент. Но у насекомых наблюдается многослойная структура, в которой хитиновые слои являются основой для структурных белков. После образования слоя эти белки подвергаются поперечному сшиванию (дублению) и образуют непрерывные жесткие структуры. Присутствует также определённое количество компонента, чаще всего карбоната кальция (особенно ярко это свойство выражено у ракообразных), который пропитывает слои. Также могут быть жироподобные вещества.

Хитин, как и целлюлоза, не очень легко разрушается. После гибели соответствующих организмов хитиновые компоненты какое-то время находятся в среде. Но разрушается хитин, в среднем, быстрее целлюлозы.

3.7. Гликокаликс

Структурные полисахариды у животных встречаются реже. У животных, в отличие от грибов, бактерий и растений, нет клеточных стенок. Поэтому клеточные структурные полисахариды для животных менее характерны. Как правило, на поверхностях клеток животных находится слой, образованный специфическими белками и полисахаридами, связанными с липидной оболочкой. Этот слой называется **гликокаликс**. В отличие от полисахаридов растительных клеточных стенок, многие полисахариды гликокаликса связываются из окружающей среды. То есть, образуются полисахариды гликокаликса на одних клетках, а входят в состав гликокаликса уже других. Это определяется связыванием определённых белков, которые также образуются не в тех клетках, на которых находятся.

Гликокаликс – внешнее образование, улучшающее механические свойства мембраны. Помимо таких внешних полисахаридов есть клеточный углеводный компонент. Он играет большую роль в формировании всего остального на поверхности. Он представляет из себя углеводные цепи с уникальной структурой, которые прикреплены к липидам мембраны или белкам. Такие структуры в меньшей степени характерны для других групп живых организмов.

3.8. Гиалуроновая кислота

В основном структурные полисахариды у животных встречаются в неклеточном матриксе соединительной ткани. Наиболее важным из них является гиалуроновая кислота. Она же была открыта одной из первой из подобных соединений, поскольку иногда она присутствует в организме в почти чистом виде. В частности, она составляет основное вещество стекловидного тела в глазу. Также гиалуроновой кислоты много в суставной жидкости, где она служит в качестве смазки суставных поверхностей. Также её можно найти в почти любом виде соединительной ткани.

Структура гиалуроновой кислоты образована дисахаридом, повторяющимся большое количество раз (около 50 тыс.) (рис. 3.7). Первым компонентом в дисахариде является глюкоуриновая кислота, которая даёт отрицательный заряд. Она своим гликозидным гидроксилем связана с гидроксильной группой N-ацетилглюкозамина, который также связан с глюкоуриновой кислотой через гидроксил. Таким образом образуется цепочка с чередованием β -(1-3)- и β -(1-4)-связей, которая вытягивается за счёт отрицательных зарядов. Из-за большого размера цепочки гиалуроновая кислота не только ведёт себя как гель, но и формирует пространственные сети.

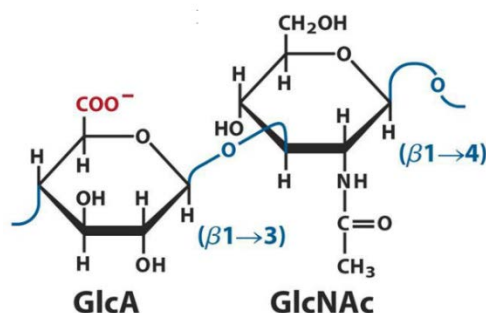


Рис. 3.7. Структурная единица гиалуроновой кислоты

Гиалуроновая кислота входит в состав гликокаликса большинства клеток, если на поверхности клетки есть подходящие белки. В частности, гиалуроновая кислота у позвоночных играет важную роль в оплодотворении. Яйцеклетка покрыта слоем гиалуроновой кислоты для защиты мембраны клетки. У сперматозоида в акросоме (специализированной концевой структуре) есть фермент гиалуронидаза, разрушающий гиалуроновую кислоту. Под действием этого фермента сперматозоид «прорубает» себе дорогу к мембране яйцеклетки, где происходит слияние. Показано, что в ряде случаев мужское бесплодие связано с отсутствием активности у данного фермента.

Чтобы избежать множественного оплодотворения одной яйцеклетки и избежать полного лишения оболочки, в момент достижения сперматозоидом мембраны происходит перестройка поверхностного слоя, в результате чего гидролиз останавливается и не возобновляется далее.

3.9. Хондроитин-сульфат

Гиалуроновая кислота в комплексе с другими веществами образует пространственные сети с довольно развитыми механическими свойствами. Эти сети образуются с участием других полисахаридов. Один из таких полисахаридов – **хондроитинсульфат**. Его меньше, чем гиалуроновой кислоты, но встречается он достаточно часто. Обнаруживается он в основном в хрящевой ткани.

Структурно хондроитинсульфаты похожи на гиалуроновую кислоту. Одним из остатков также является глюкоурановая кислота, но связана она не с глюкозамином, а с сульфатированным N-ацетилглюкозамином (рис. 3.8). В результате возникает более сильный отрицательный заряд на каждом остатке.

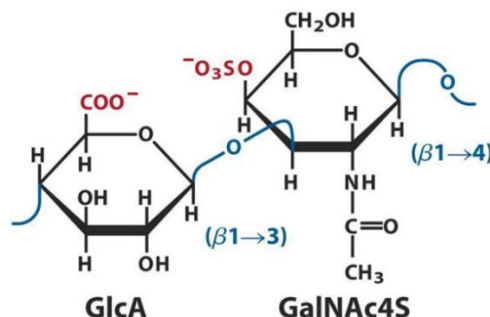


Рис. 3.8. Повторяющийся димер хондроитин-4-сульфата

Полимерные цепи достаточно короткие, включают в себя в среднем 20-40 повторяющихся дисахаридных единиц. Сам по себе хондроитинсульфат не может образовывать значительных структурообразующих элементов. Он связывается с гиалуроновой кислотой и образует боковые группы, торчащие от неё в стороны.

Присоединение сульфата может происходить к C₄, C₆ или (что маловероятно) обоим атомам. Какое-то время отдельно выделяли хондроитин-4-сульфаты и хондроитин-6-сульфаты. Но это не очень чёткое деление, так как в одном соединении могут быть оба варианта димера.

3.10. Кератансульфат

Полисахарид со схожими функциями – кератансульфат. В составе кератансульфата нет уроновой кислоты. В качестве первого атома используется галактоза, связанная с остатком сульфатированного N-ацетилглюкозамина (рис. 3.9). Заряд в данном случае сосредоточен на глюкозамине. Это ещё более короткие цепочки, имеющие в среднем 25 дисахаридных остатков в составе.

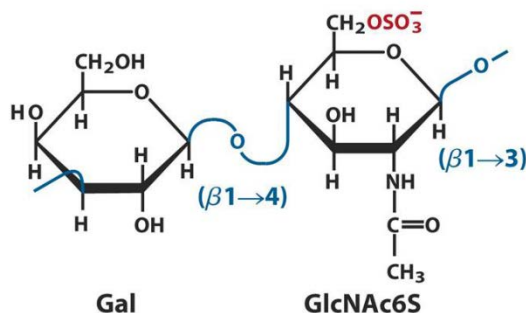


Рис. 3.9. Структурная единица кератансульфата.

3.11. Взаимодействие полимеров соединительной ткани

Все эти мономеры связываются между собой через специальные белки. При этом хондроитинсульфат связывается прочной ковалентной связью через связующий трисахарид (рис. 3.10). Трисахарид присоединён к серину в составе специального белка. Таким образом эта относительно короткая цепочка в связи с белком взаимодействует с гиалуроновой кислотой.

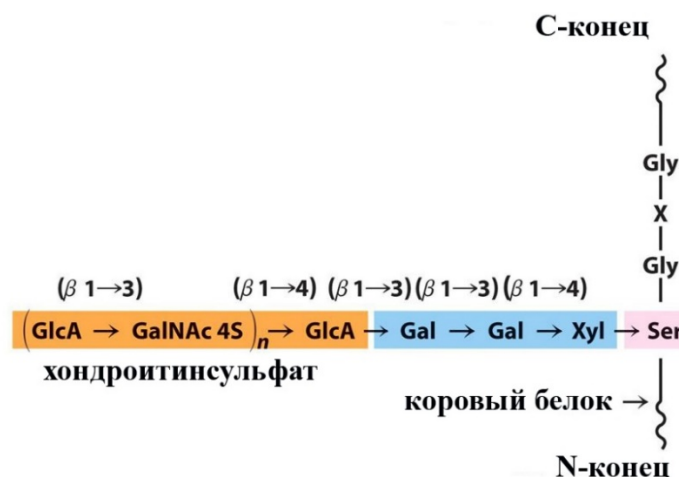


Рис. 3.10. Взаимодействие хондроитинсульфата с коровым белком.

Коровые белки присоединяют хондроитинсульфаты и кератансульфаты в достаточно большом количестве на одну белковую молекулу. Затем белковые молекулы присоединяются через связывающие белки к молекуле гиалуроновой кислоты. Изображение образованной ветвистой структуры показано на рис. 3.11. Данные структуры образуют гелевые, но при этом достаточно прочные структуры. В частности, такие структуры служат основой для формирования хрящевой ткани. Такого рода структуры также служат основой для дальнейшего откладывания фосфата кальция в костной ткани.

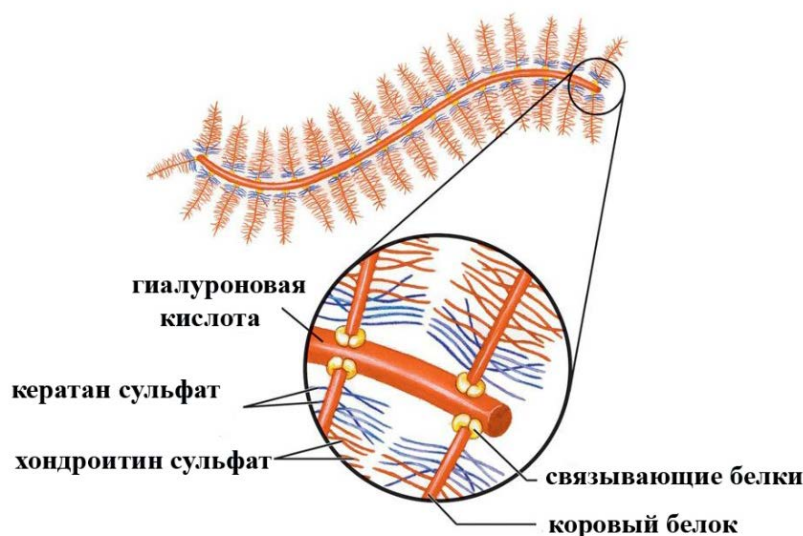


Рис. 3.11. Модель структурного комплекса хрящевой ткани.

Помимо такой системы белковых и полисахаридных взаимодействий существует ещё один тип взаимодействий, помогающий формировать хрящевую ткань. В хрящевой ткани найдены остатки кремниевой кислоты, организованные нестандартным способом. Атомы кремния взаимодействовали с концевыми группами полисахаридных цепей.

Также в формировании соединительной ткани участвуют белки коллагены. Образуются сложные пространственные структуры, не всегда однозначно определяемые. Плюс таких структур в стабилизации системы ещё и в том, что они связывают достаточно много свободной воды в результате формирования.

3.12. Гепарин

Также важна для функционирования организмов группа углеводов с определённой нерегулярной структурой, называемая **гепарины**. Гепарины вырабатываются в основном клетками печени. Они выделяются в кровь и служат регуляторами системы свёртывания крови. Его получают и используют как медицинский препарат.

В состав гепарина входит ряд различных структур с различными типами связей. При гидролизе гепарина образуется много различных продуктов. Наиболее встречающийся показан на рис. 3.12. Он из себя представляет сильно или частично сульфатированный глюкозамин и глюкоуроновая или иридоновая кислота, которая также может сульфатироваться. Получается сильноотрицательная молекула.

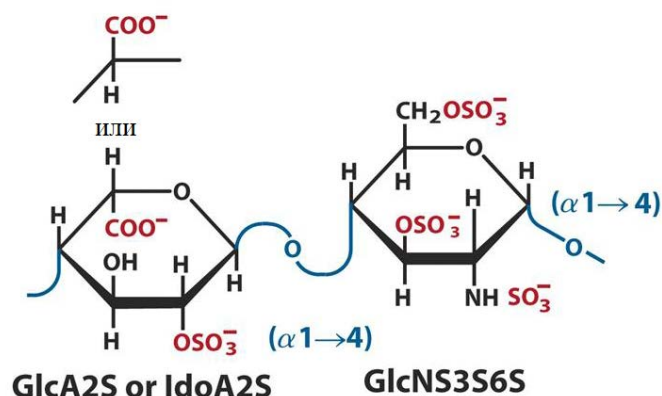


Рис. 3.12. Один из вариантов повторяющейся единицы гепарина.

Эти повторяющиеся единицы чередуются с некоторыми более сложными последовательностями. Если более детально взглянуть на строение гепарина (рис. 3.13), можно увидеть, что гепарин построен из двух различных участков. Большую часть структурных единиц гепарина составляют моносахаридные производные, сульфатированные по 2 или 6 атому углерода. Кроме этого, есть участки между ними с другими последовательностями.

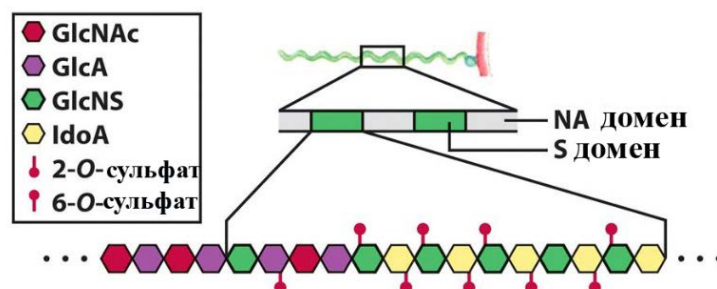


Рис. 3.13. Вариант строения гепариновой цепи.

Гепарин, циркулируя в крови и других жидкостях, также входит в состав гликокаликса. Сульфатирование гепарина может происходить в разной степени в зависимости от регуляции этого процесса. Наличие соответствующего количества сульфатных групп узнаётся специальным белком, который с этим местом связывается. Сульфатированное производное может связывать антитромбин. Регулятором является именно этот белок, но, в зависимости от связывания с гепарином, у него возникают разные конформации, работающие различными путями. Когда он связывается со специфическим доменом, он приобретает сродство к одному из факторов свёртывания крови (рис. 3.14). Кофактор таким образом иммобилизуется и не может работать.

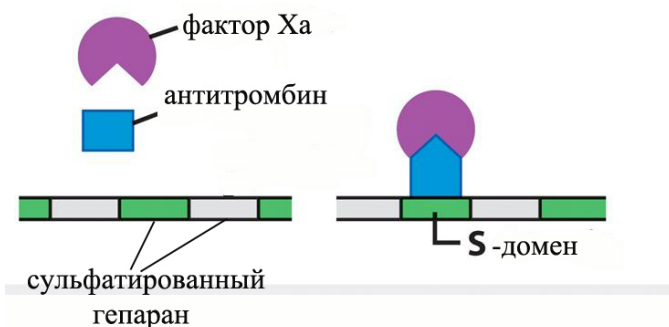


Рис. 3.14. Конформационная активация антитромбина.

Другой путь несколько сложнее. В этом случае антитромбин связывает тромбин, который дополнительно связывается с гепарином (рис. 3.15). Происходит двухдоменное связывание, выводящее тромбин из процесса превращения фибриногена в фибрин. Во время тромбообразования тромбин из этой системы вытесняется и гепарин перестаёт функционировать в этой системе.

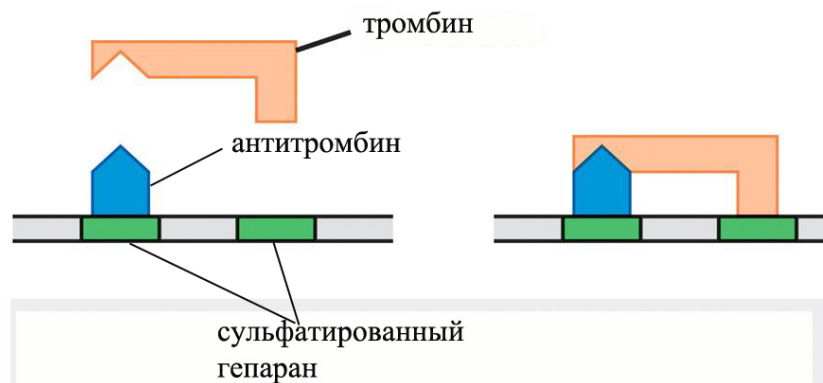


Рис. 3.15. Связывание тромбина антитромбином и гепарином

Ещё один вариант использования сульфатированного гепарина заключается в связывании дополнительных сигнальных белков. При этом гепарин находится в составе гликокаликса.

3.13. Дерматансульфат

Дерматансульфат представляет из себя достаточно короткоцепочечный полисахарид. Выделен он был из соединительной ткани кожи, но вообще он присутствует и в других местах. По структуре он похож на хондроитинсульфат, но вместо глюкоуроновой кислоты у него идоуроновая. Длина цепочек обычно порядка 15-20 остатков.

3.14. Гликозилирование

Значительную роль в межклеточных взаимодействиях играют специальные углеводы, присоединённые к мембранным белкам. Этот процесс называется **гликозилирование**. Он характерен практически для всех белков эукариотических

клеток, которые функционируют как внеклеточные либо поверхностные. Иногда такое гликозилирование выполняет защитную функцию. В частности, полисахариды защищают экзоферменты дрожжей.

Присоединяться могут совершенно разные олигосахариды, как линейные, так и разветвлённые. Существует два основных типа гликозилирования: О-гликозилирование и N-гликозилирование (рис. 3.16). При О-гликозилировании гликозильный углерод остатка олигосахарида присоединяется к гидроксиду аминокислоты, как правило – серина. Чаще всего в этом случае первым остатком оказывается N-ацетилгалактозамин. И уже дальше к нему присоединяются другие моносахариды. Цепочки в таком случае получаются не очень большие, потому как каждый следующий присоединяемый мономер требует своего фермента. Это процесс происходит в ЭПР и сопровождается процессом синтеза белка.

При N-гликозилировании образуется N-гликозидная связь между карбонильным углеродом конца олигосахарида и амидной группой аспарагина в составе белка. В этом случае, как правило, образуются более длинные цепи, у которых есть универсальная часть. В этом случае, как правило, первыми являются два остатка N-ацетилглюкозамина, затем некоторое количество маннозы, потом присоединяется всё остальное. Исходный олигосахаридный фрагмент синтезируется до присоединения к белку, а переносится на него.

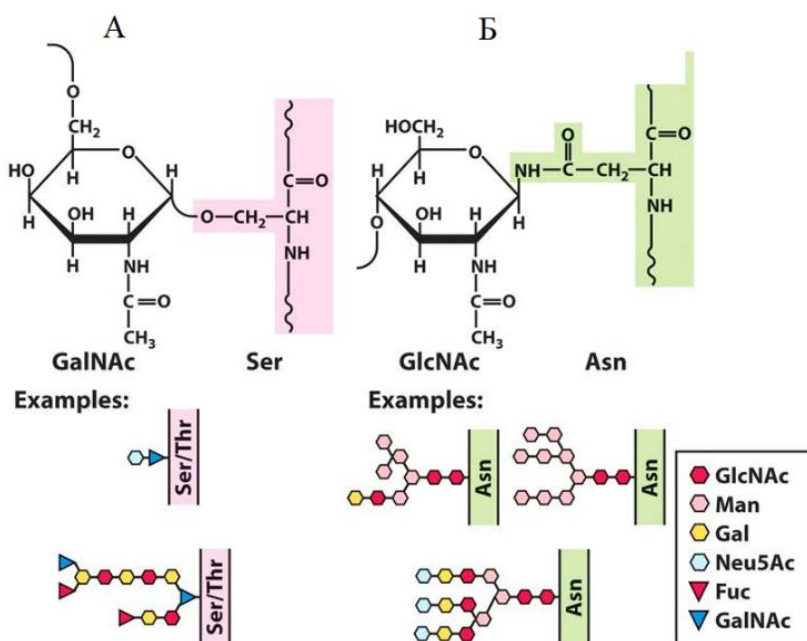


Рис. 3.16. А – О-гликозилирование, Б – N-гликозилирование.

3.15. Клеточные стенки бактерий

У бактерий клеточная стенка состоит из регулярного гетерополисахарида, состоящего из остатка N-ацетилглюкозамина и N-ацетилмурамовой кислоты (рис. 3.17). Эти остатки чередуются между собой. Они образуют длинные цепи с $\beta(1-4)$ -связями. Данная структура сшивается поперечными пептидными сшивками у каждого димерного повторяющегося звена. К пептидам в свою очередь присоединяются пентаглициновые цепочки, сшивающие пептиды, соединённые с углеводом, между собой.

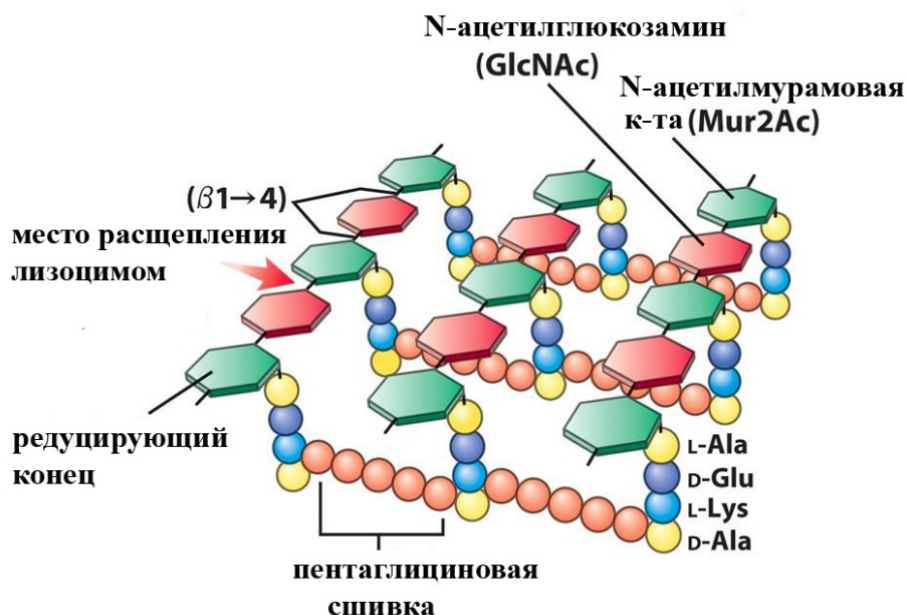


Рис. 3.17. Структура бактериальной клеточной стенки

Звено из двух моносахаридов и пептида образуется до полимеризации. В отличие от других клеточных стенок, у бактерий клеточная стенка представляет собой фактически единую молекулу, потому что взаимодействия между компонентами системы ковалентные. На определённых участках этой структуры есть поры, которые обеспечивают достаточную проницаемость. Эта структура динамичная и подвержена некоторым изменениям

Лекция 4. Липиды

4.1. Барьерные функции липидов

И в клетке, и снаружи клетки чаще всего водная среда. Возникает проблема разделения структур и веществ, которые должны или не должны находиться в клетке. Поэтому необходим барьер. В теории таким барьером может быть любое вещество, образующее плотный слой. Но на практике это не так, поскольку необходимо, чтобы прохождение веществ через барьер было контролируемым. Этого не добиться, если использовать, например, структуры из глобулярных белков или длинных тяжёлых полисахаридов. Для создания барьера необходимы гидрофобные соединения, такие как **липиды**.

Барьер также должен быть непрерывным. Есть организмы, у которых определённые покровы образованы белками. Например, у трипаносом есть ундулирующая мембрана, которая представляет из себя белковый чехол, покрывающий клетку. Под этим чехлом находится жгутик, и когда он вращается, он оттягивает и деформирует мембрану, за счёт чего он передвигается. Белковая оболочка здесь служит для защиты. Также интересно, что этот чехол меняется со временем. Таким образом, хозяин не успевает выработать иммунитет.

В некоторых случаях белковая оболочка находится под мембраной, помогая клетке отделиться от среды. Так работает пелликула у эвгленовых. У них пелликула представляет из себя белковую ленту, закрученную в спираль по длине всей клетки. Но при этом мембрана всё равно работает, именно как химический барьер. Это – основная функция липидов. Есть организмы, у которых присутствуют только мембранообразующие липиды.

Липиды – очень разнородная группа. К липидам обычно относятся вещества биологического происхождения, нерастворимые в воде и растворимые в полярных растворителях (хлороформ, бензол). При этом важно соблюдение всех трёх обозначенных условий

Для того, чтобы выделить липидную фракцию из живого организма, необходимо разрушить этот организм, затем использовать воду и определённый неполярный растворитель (чаще всего используется реагент Фолча) в определённых соотношениях. После встряхивания и перемешивания этой смеси образуются четыре различных фазы: нерастворимая, в которой находятся клеточные стенки, тканевые волокна, водная фаза с водорастворимыми компонентами, фаза полярного растворителя, в котором содержатся липиды, и интерфаза между водой и растворителем, в которой содержатся промежуточные соединения.

Но в липидная фракция в данном случае оказывается большое количество различных по своей химической природе соединений. Выделяют до 40 различных классов липидов. В программе курса будут рассмотрены наиболее важные из них.

4.2. Другие функции липидов

Липиды служат не только как образователи мембран. Прежде всего, они служат хорошим веществом для запасаания: они нерастворимы, не повышают осмотическое давление, но при этом требуют кислорода для окисления и использования в качестве энергии. Липиды запасаются большинством животных и многими растениями. Но организмы, живущие в анаэробных условиях, не запасают липиды, поскольку в бескислородной среде окисление липидов невозможно. А значит, запастись им бессмысленно. Такое наблюдается у анаэробных микроорганизмов, а также некоторых эндопаразитов, живущих в бескислородной среде.

В сложных многоклеточных организмах животных липиды также участвуют в транспорте веществ. У человека в крови циркулируют особые белково-липидные комплексы, переносящие липиды между различными частями организма. Прежде всего, это липиды из переваренной пищи или компоненты, требующие перераспределения или утилизации.

Также необходимо отметить, что ряд липидов используются как сигнальные молекулы. Иными словами, такие липиды являются гормонами.

Также некоторые липиды (в частности, воска) выполняют водоудерживающую и защитную функцию.

4.3. Гидролиз и жирные кислоты

Липиды делятся на две группы по своему поведению в ходе гидролиза. Некоторые жирные кислоты не подвергаются гидролизу вообще. У других же некоторые связи расщепятся, в частности сложноэфирные и реже амидные. В результате такого расщепления выделяются **жирные кислоты** и спирты. Так как липиды лучше гидролизуются в щелочной среде, образуются соли жирных кислот, называемые **мылами**. В кислых растворах образуются недиссоциирующая кислотная форма, которая выпадает в осадок. Ионы жирных кислот образуют мицеллы в растворе, но они обычно небольшие. Обычное бытовое мыло часто представляет из себя натриевую соль смеси пальмитиновой и стеариновой кислоты. Именно эти кислоты, потому что источником для изготовления мыла служат отходы мясного производства.

Жирные кислоты могут быть разной длины, но в любом случае у них есть одна карбоксильная группа на конце и длинный углеводородный радикал. Такая структура часто всего состоит из чётного количества атомов углерода, что связано с особым синтезом жирных кислот. По сути, жирные кислоты представляют из себя восстановленные полимеры уксусной кислоты. Жирные кислоты с нечётным количеством атомов углерода могут появляться в результате дополнительных модификаций. Цепь также чаще всего линейная, хотя разветвлённые тоже иногда встречаются.

По длине цепи присутствует большое разнообразие, но преобладают жирные кислоты с длиной цепи 16 (пальмитиновая) и 18 атомов (стеариновая) (табл. 4.1).

Лауриновая (C_{12}) и миристиновая (C_{14}) встречаются в липидах крайне редко, но их и более коротких жирных кислот много в молочном жире. Жир, входящий в состав мембраны или участвующий в запасании веществ, обладает большей длиной цепи. Более длинные цепи бывают в особых случаях. В частности, в оболочках нервных клеток.

При нормальных физиологических температурах большинство жирных кислот являются твёрдыми телами

Название	Углеродный скелет	Формула	Температура плавления
Лауриновая	12:0	$CH_3(CH_2)_{10}COOH$	42,4
Миристино-вая	14:0	$CH_3(CH_2)_{12}COOH$	53,9
Пальмитино-вая	16:0	$CH_3(CH_2)_{14}COOH$	63,1
Стеариновая	18:0	$CH_3(CH_2)_{16}COOH$	69,6
Арахидиновая	20:0	$CH_3(CH_2)_{18}COOH$	76,5
Лигно-цериновая	24:0	$CH_3(CH_2)_{22}COOH$	86,0
Пальмето-олеиновая	16:1 Δ^9	$CH_3(CH_2)_5CH=CH(CH_2)_7COOH$	-0,5
олеиновая	18:1 Δ^9	$CH_3(CH_2)_7CH=CH(CH_2)_7COOH$	13,4
линолевая	18:2 $\Delta^{9,12}$	$CH_3(CH_2)_4CH=CHCH_2CH=CH(CH_2)_7COOH$	-5
Линоленовая	18:3 $\Delta^{9,12,15}$	$CH_3CH_2CH=CHCH_2CH=CHCH_2CH=CH(CH_2)_7COOH$	-11
Арахидононая	20:4 $\Delta^{5,8,11,14}$	$CH_3(CH_2)_4CH=CHCH_2CH=CHCH_2CH=CHCH_2CH=CH(CH_2)_3COOH$	-49,5

Табл. 4.1. Характеристика распространённых жирных кислот

4.4. Упаковка жирных кислот. Насыщенные и ненасыщенные жирные кислоты

Жирные кислоты по содержанию в них двойной связи, делятся на насыщенные и ненасыщенные. Обычно в ненасыщенных жирных кислотах двойные связи не сопряжены, если их несколько. Молекулы ненасыщенных жирных кислот имеют жесткий изгиб в месте, где располагается двойная связь (рис. 4.1).

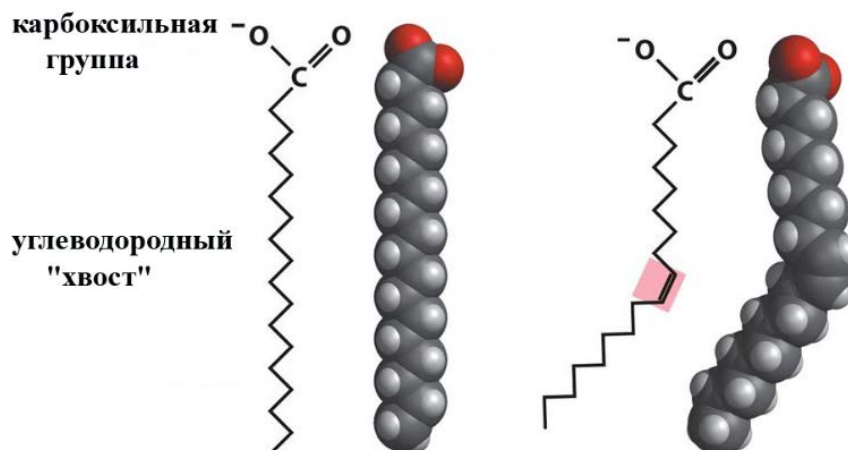


Рис. 4.1. Структура и пространственная конфигурация насыщенной стеариновой (слева) и ненасыщенной олеиновой (справа).

С энергетической точки зрения, прямым и подвижным насыщенным жирным кислотам гораздо проще вытянуться и соединиться между собой за счёт Ван-дер-Ваальсовых взаимодействий по всей длине молекулы. Получается стабильная устойчивая структура (рис. 4.2).

Молекулы ненасыщенных жирных кислот из-за изгиба не могут компактизоваться так же плотно, как насыщенные. Поэтому чистые ненасыщенные жирные кислоты имеют меньшую температуру плавления и в норме пребывают в жидком состоянии.

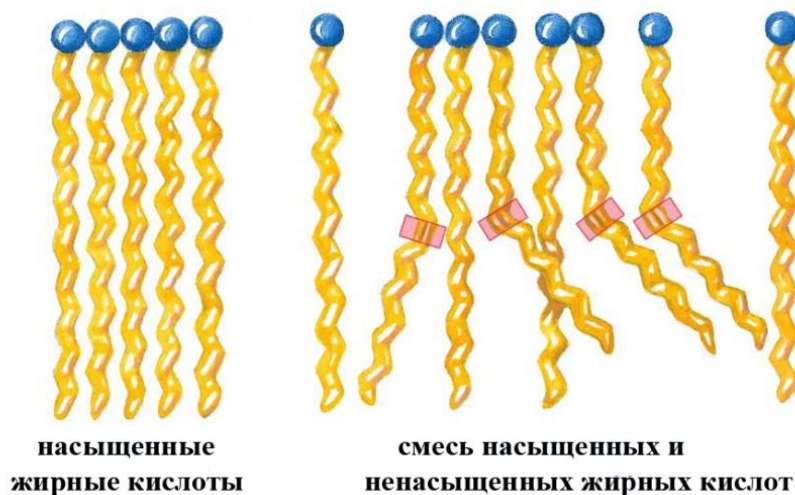


Рис. 4.2. Компактизация насыщенных и смеси насыщенных ненасыщенных жирных кислот.

На агрегатное состояние жирных кислот влияет не только количество насыщенных и ненасыщенных компонентов в составе, но ещё и природа катиона. Соли жирных кислот и калия, как правило, жидкие. Соли натрия же чаще твёрдые.

Методика сокращённого обозначения названия жирных кислот также приведена в табл. 2. Первая цифра указывает на количество углеродов в цепи, вторая цифра показывает количество двойных связей. Далее цифры после знака «Δ» показывают, при каких атомах углерода есть двойная связь. Соответствующие жирные кислоты имеют также свои тривиальные названия.

Ферментная система животных не может осуществить образование второй и третьей двойной связи в ненасыщенных жирных кислотах, но при этом могут образовывать все остальные. Поэтому ди- и триненасыщенные жирные кислоты для животных являются незаменимыми. Например, арахидоновая кислота у животных синтезируется из линолевой кислоты растений.

Существуют и более длинные насыщенные и ненасыщенные жирные кислоты. Они встречаются реже, но они также важны для образования систем проведения нервного импульса.

4.5. К чему присоединяются жирные кислоты. Триглицериды

Соединения, к которым присоединяются жирные кислоты, довольно многообразны. Но в большинстве живых организмов в основном жирные кислоты соединены с глицерином. Глицериды образуются за счёт этерификации ОН-групп спирта кислотными остатками жирных кислот.

Наиболее простым является случай, когда этерификации подвергаются все три спиртовых группировки (рис. 4.3). Как правило, образуется смесь из разных жирных кислот, присоединённых к глицерину и формируется гетерогенная группа соединений. Происходит взаимодействие между гидрофобными хвостами с образованием специфической укладки. Ненасыщенные жирные кислоты создают изломы и нарушают структуру. Если много насыщенных структур, укладка более плотная. Поэтому триглицериды, в которых больше ненасыщенных жирных кислот, жидкие, а те, в которых больше насыщенных жирных кислот, твёрдые.

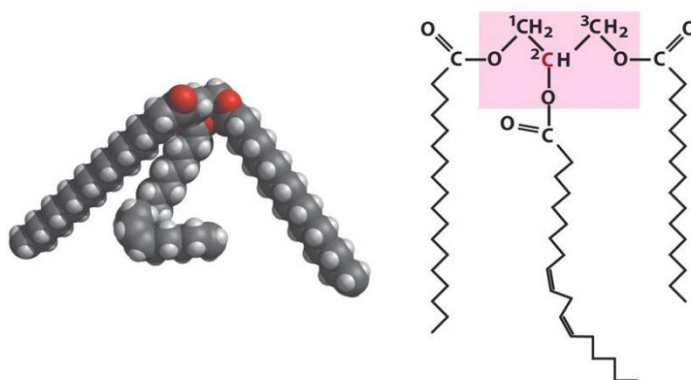


Рис. 4.3. Смешанный триацилглицерид 1-стеароил-2-линолеил-3-стеароилглицерин.

Животные не умеют делать много двойных связей. Значит, у них преобладают твёрдые триглицериды. Их принято называть **жирами**. У растений же преобладают жидкие триацилглицериды, называемые **маслами**. Чаще всего одна единственная ненасыщенная жирная кислота находится во втором положении.

Когда к глицерину начинают присоединяться различные жирные кислоты, второй атом становится асимметричным. В теории возможно образование двух изомеров. Но преобладает L-конфигурация глицерина.

При запасании жидких запасных липидов возникают проблемы, связанные с их текучестью. В растениях жировые капли всегда окружены снаружи мембраной. Однако, и у растений, и у животных возможно образование как твёрдых, так и жидких триацилглицеридов. Это зависит от потребностей организма. У океанических холодолюбивых животных накапливаются жидкие триглицериды, поскольку они получают много полиненасыщенных жирных кислот с фитопланктоном. Жидкие триглицериды образуют так называемый «рыбий жир».

У некоторых тропических растений накапливаются твёрдые глицериды, поскольку в жарком климате они более стабильно себя ведут и меньше подвержены переходу в жидкое состояние. Классический пример – пальмовое масло. При промышленном вытапливании пальмового масла от высоких температур часть двойных связей в ненасыщенных жирных кислотах переходят в транс-состояние. В транс-форме они становятся конкурентами нормальных жирных кислот, связываясь с ферментами и транспортными системами, мешая им нормально работать. Это может привести к отравлению организма и даже раковому перерождению клеток.

При этом в каждом отдельном масле или жире в состав входят совершенно разные триглицериды, как насыщенные, так и ненасыщенные (рис. 4.4)

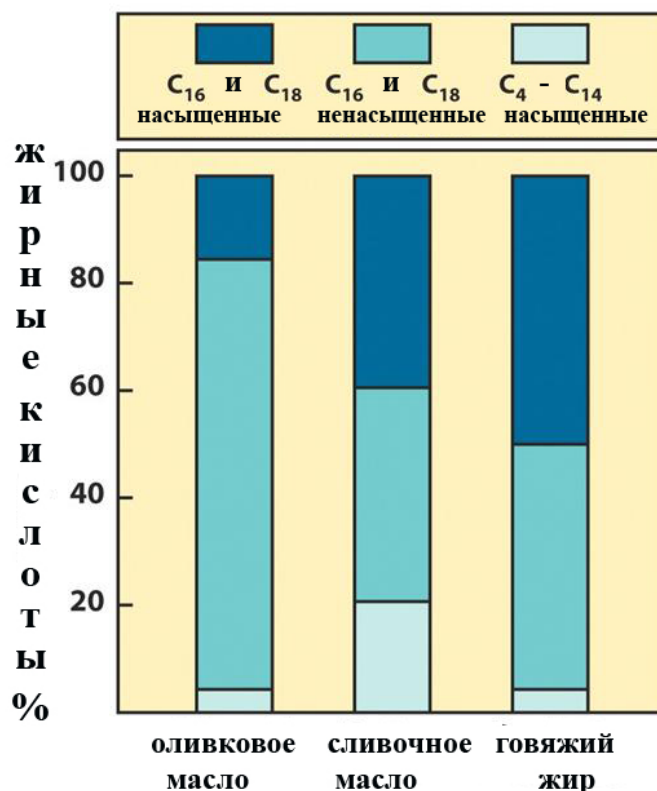


Рис. 4.4. Состав различных источников триглицеридов

4.6. Фосфоглицериды

Фосфоглицериды по структуре похожи на триглицериды. Но одна из концевых гидроксильных групп этерифицируется фосфорной кислотой. При этом синтез фосфоглицеридов начинается именно с образования глицеринфосфата (рис. 4.5). В получившихся соединениях одна фосфатная и две жирнокислотных группы. К фосфату же могут присоединяться дополнительные группы. При этом в глицерине в таком случае всегда L-конфигурация.

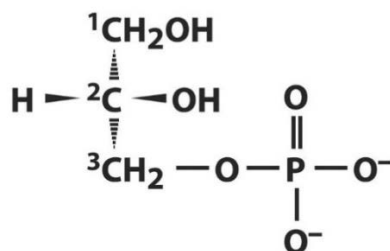


Рис. 4.5. L-глицерин-3-фосфат.

Как правило, ненасыщенные жирные кислоты присоединяются к С₂-атому глицерина, а к С₃-атому присоединяется насыщенная жирная кислота. Заместитель, присоединяющийся к фосфатной группе, зачастую имеет ярко выраженные

гидрофильные свойства и иногда даже заряд (рис. 4.6). Он может иметь различную химическую природу, но в нём всегда будет спиртовая группа, за счёт которой образуется сложноэфирная связь.

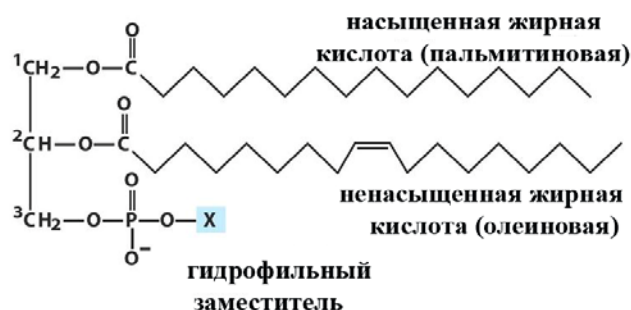


Рис. 4.6. Общая структура фосфоглицерида.

У растений в чаще используются полиненасыщенные жирные кислоты и олеиновая кислота в качестве насыщенной. Образование второй и третьей двойной связи в полиненасыщенных жирных кислотах происходит чаще всего уже после сборки фосфоглицериновой основы.

Гидрофильная часть бывает достаточно большой. Возникает молекула с длинным и широким гидрофобным хвостом и гидрофильную голову. Наиболее часто встречающиеся варианты заместителей приведены в табл. 4.1.

название фосфоглицерида	название X	формула X	суммарный заряд при pH 7,0
фосфатидная кислота	-	$-\text{H}$	-1
фосфатидилэтаноламин	этаноламин	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_3^+$	0
фосфатидилхолин	холин	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$	0
фосфатидилсерин	серин	$-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{COO}^-)-\text{NH}_3^+$	-1
фосфатидилглицерин	глицерин	$-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_2-\text{OH}$	-1
фосфатидилинозит 4,5-бисфосфат	мио-инозит 4,5 бисфосфат		-4
кардиолипин	фосфатидилглицерин		-2

Табл. 4.1. Различные варианты гидрофильных заместителей.

Самый простой вариант – фосфатидная кислота. В чистом виде её мало, она используется как промежуточный продукт при синтезе триглицеридов и других фосфоглицеридов.

К фосфатной группе может присоединяться серин с образованием фосфатидилсерина. Возникает суммарный отрицательный заряд молекулы.

Фосфатидилхолин и фосфатидилэтаноламин (кефалин) будут нейтрально заряженными молекулами, поскольку существующие заряды компенсируют друг друга. Они и фосфатидилсерин связаны друг с другом метаболически и могут служить основой для синтеза друг друга.

Возможны варианты комбинации присоединения углеводного компонента или многоатомных спиртов. миоинозит может присоединяться по ОН-группе и может в дальнейшем фосфорилироваться. Фосфатидилинозитолы участвуют в регуляторных процессах. Каждый присоединённый фосфат даёт отрицательный заряд молекуле.

Может также присоединяться глицерин. А к остатку глицерина в некоторых случаях может присоединяться вторая фосфатидная кислота. Образуется сложный фосфолипид, называемый кардиолипин. Кардиолипин есть в эукариотических клетках только как компонент внутренней мембраны митохондрий. Но при этом кардиолипин встречается в составе клеточной мембраны аэробных бактерий. Этот факт послужил одним из аргументов в пользу симбиотической теории происхождения эукариотической клетки. Однако, пути синтеза митохондриального и бактериального кардиолипина различаются. Кардиолипин зачастую образует комплексы с белковыми компонентами мембраны.

4.7. Другие производные глицерина

Помимо триглицеридов и фосфоглицеридов существуют другие производные глицерина. В мембранах нервных клеток часто обнаруживается плазмалоген (рис. 4.6). У него второго положения жирная кислота, а в первом положении алкеновый спирт, связанный эфирной связью с глицерином. Образуется оно из жирной кислоты, которая подвергается модификации. Это соединение при полном гидролизе образует холин, фосфорную кислоту, обычную жирную кислоту, альдегид и глицерин

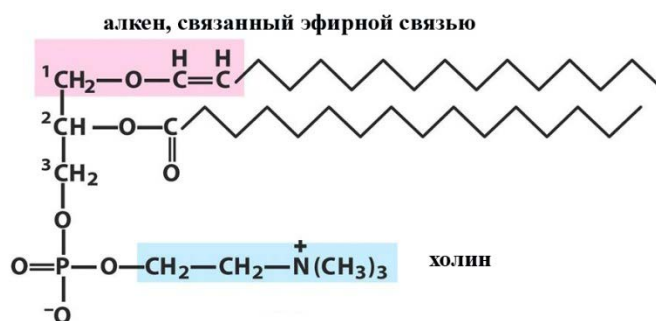


Рис. 4.6. Плазмалоген.

По тому же принципу построен фактор активации тромбоцитов (рис. 4.7). Вместо жирной кислоты во втором положении находится уксусная кислота, а вместо жирной кислоты в крайнем положении алкан. Здесь при гидролизе вместо альдегида будет образовываться многоатомный спирт.

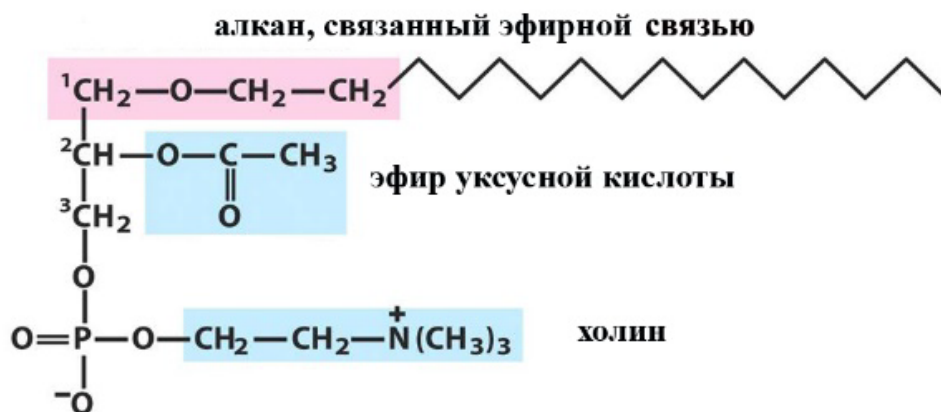


Рис. 4.7. Фактор активации тромбоцитов.

Существуют липиды, в которых отсутствует фосфатная группа у глицерина. Третий гидроксил глицерина образует гликозидную связь с углеводными остатками. В случае на рис. 4.8 присоединён остаток галактозы. Такого рода липиды широко распространены у растений в мембранах хлоропластов. Остаток галактозы может оказаться не один. К нему может присоединиться следующий остаток (рис. 4.9), иногда больше. Такие липиды получаются не менее гидрофильные, чем обычные фосфолипиды. Растения часто живут в условиях дефицита фосфора, а использование липидов без фосфата позволяют экономить фосфор. Моносахариды, входящие в состав таких липидов, могут быть дополнительно модифицированы (рис. 4.10).

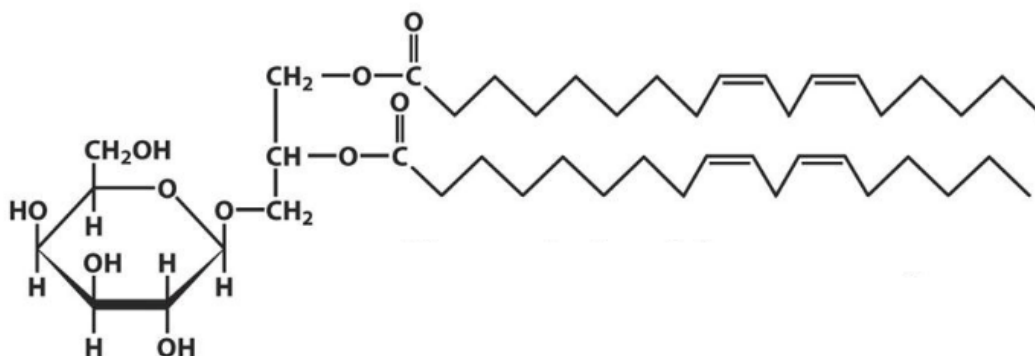


Рис. 4.8. Моногалактозилдиацилглицерин.

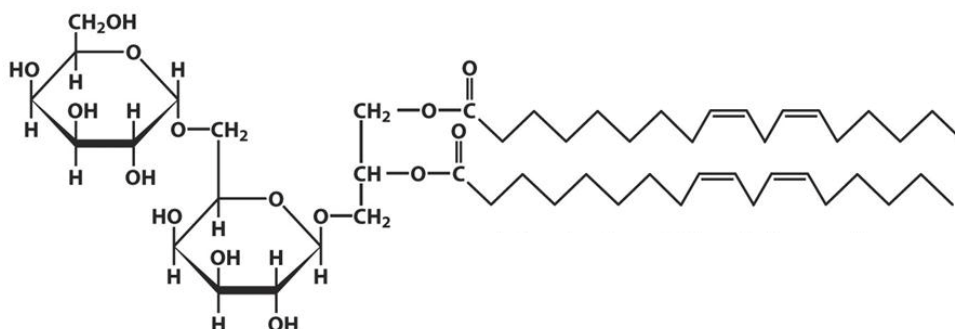


Рис. 4.9. Дигалактозилдиацилглицерин.

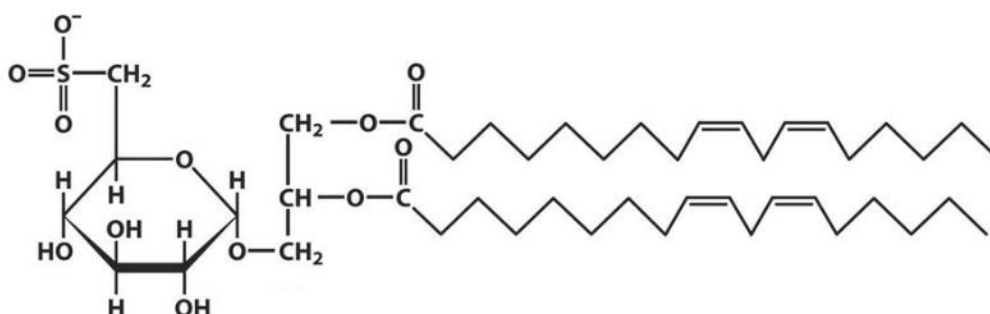


Рис. 4.10. 6-сульфо-6-дезоксиглюкопиранозилдиацилглицерин

4.8. Воска

Не всегда липиды построены на основе глицерина. Иногда используются другие спирты. К таким соединениям относятся **воска**. Воска широко распространены, обладают простым строением и обладают свойствами, отличными от таковых у триглицеридов. Воск состоит из остатка жирной кислоты и остатка первичного длинного спирта (рис. 4.11). У пчёл такой спирт образуется специально в соответствующих железах. Получается длинная гидрофобная насыщенная цепь, образующая прочные структуры.

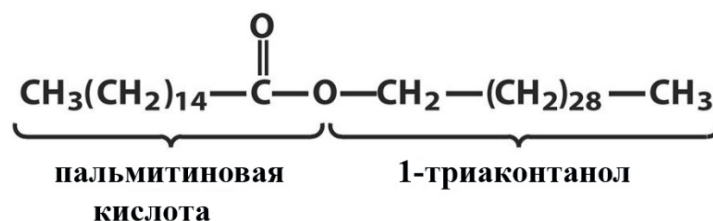


Рис. 4.11. Основной компонент пчелиного воска.

Воска часто используются как защитный агент. Практически все зелёные части растений покрыты защитной восковой плёнкой. Прежде всего она защищает клетки от

потери воды. Более толстый слой воска может защищать от механических повреждений. Если его ещё и выровнять, он будет выполнять роль светоотражающей поверхности. Это свойство используют многие фикусы для дополнительной защиты от избыточного солнечного света. Раньше такие листья использовались человеком в качестве бумаги.

У растений спиртовая часть тоже остаточна длинная, до 40 атомов углерода. Но в состав воска входит обычно спектр таких сложных эфиров с разной длиной спиртовой части.

Спермацет – особый воск, характерный для кашалотов. Он накапливается в больших количествах у них в голове и используется для регуляции глубины погружения. Этот воск содержит относительно короткие цепочки (C_{16} -спирт и пальмитиновая кислота) и, соответственно, имеет более мягкую консистенцию и более низкую температуру плавления. При определённых температурах он изменяет свою плотность, изменяя и плавучесть кита. Если надо нырнуть на глубину, через спермацетовый орган пропускается холодная кровь, спермацет сжимается, голова становится более плотной и плавучесть понижается. Когда нужно всплыть, идёт противоположный процесс.

Раньше спермацет использовался для изготовления различных мазей и кремов. Пока не появилось производство синтетических аналогов, кашалоты массово истреблялись.

Иногда жирные кислоты присоединяются не сложноэфирными связями, а амидными связями к аминогруппе. NH_2 -группа даёт легко гидролизуюмую связь, но из-за иного распределения электронной плотности такие соединения представлены одним соединением – сфингозином. Сфингозин содержит спиртовые и аминные группы, но при образовании сложных липидов он ведёт себя как амин.

Лекция 5. Липиды в организме

5.1. Сфинголипиды

Иногда жирные кислоты присоединяются не сложноэфирными связями, а амидными связями к аминогруппе. NH_2 -группа даёт легко гидролизуемую связь, но из-за иного распределения электронной плотности такие соединения представлены одним соединением – **сфингозином**. Сфингозин содержит спиртовые и аминную группы, но при образовании сложных липидов он ведёт себя как амин. При этом из-за длины самой молекулы, сфингозин сам по себе образует гидрофобный хвост.

Спиртовая группа у C_3 обычно остаётся свободной. Амидная группа у C_2 связывается с остатком жирной кислоты, образуя сфинголипиды (рис. 5.1). В основном используются достаточно длинные насыщенные жирные кислоты для образования более толстой билипидной оболочки, в частности, в нервных клетках для лучшей изоляции при проведения нервного сигнала.

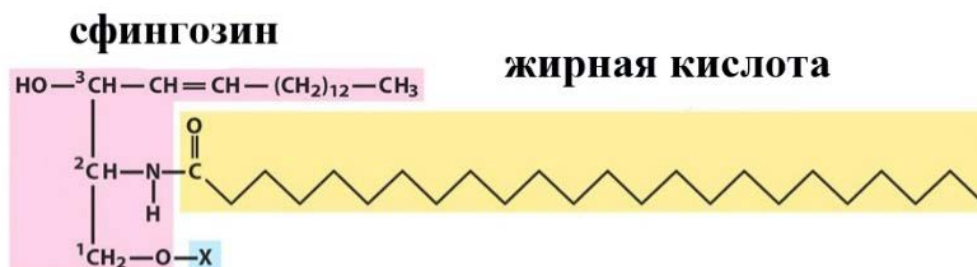


Рис. 5.1. Общая схема строения сфинголипидов

Аминная группа из-за своего расположения не даёт гидрофильных свойств. Гидрофильные свойства молекуле обеспечивает группа, присоединённая к ОН-группе при C_1 (табл. 5.1). В простейшем случае таким заместителем будет просто водород. Возникают **церамиды**. Церамиды – исходные молекулы, служащие основой для синтеза остальных сфинголипидов.

В качестве заместителя в спиртовой группе может также быть холин, присоединённый через фосфатную группу. Так образуются сфингомиелины. Возникает слабо гидрофильная голова, а суммарный заряд получается близок к нулю. Сфингомиелины также часто встречаются в миелиновых оболочках нервных клеток.

Вместо фосфата и холина может быть присоединён сахар. В простейшем случае присоединяется остаток глюкозы. Возникает крупная гидрофильная голова без заряженных групп. Такие соединения называются цереброзиды. Они в большом количестве содержатся в тканях мозга.

После присоединения первого остатка моносахарида могут присоединяться следующие. Если присоединены два или три (изредка четыре) остатка нейтральных углеводов (чаще всего глюкоза и галактоза), образуются церамиды. Их немного, но они также включаются в мембраны нервных клеток. Если присоединяются сложные разветвлённые олигосахариды, содержащие остатки сиаловых кислот, образуются более

сложные сфинголипиды. Разные комбинации таких сфинголипидов формируются в разных типах клеток. В результате нарушения их формирования возникают определённые болезни, связанные с нарушением функционирования нервной системы.

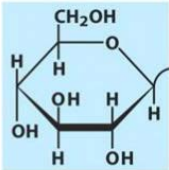
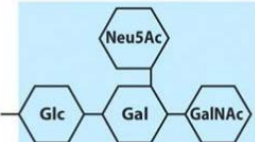
название сфинголипида	название X	формула X
церамид	-	-H
сфингомиелин	фосфохолин	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{P}-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3 \\ \mid \\ \text{O}^- \end{array}$
глюкозил-цереброзид	глюкоза	
лактозил-церамид (глобозид)	ди-, три-, или тетра-сахарид	
ганглиозид GM2	сложные олиго-сахариды	

Табл. 5.1. Различные заместители в сфинголипидах.

В отличие от большинства углеводных соединений, такие сфинголипиды являются достаточно сильными антигенами с выраженными иммуногенными свойствами. Положение и количество сиаловых кислот в составе влияет на антигенную активность. Соответствующий фермент (нейраминидаза) отщепляет сиаловые кислоты и изменяет антигенную активность таких сфинголипидов.

Иммуногенность может возникать и у других олигосахаридных группировок с определённой сложной структурой. Но такие антигены более слабые. На рис. 5.2 для сравнения приведены структурные формулы фосфатидилхолина и сфингомиелина. Как видно из рисунка, гидрофобные остатки сфингомиелина способны к гораздо более плотной компактизации, чем фосфатидилхолин.

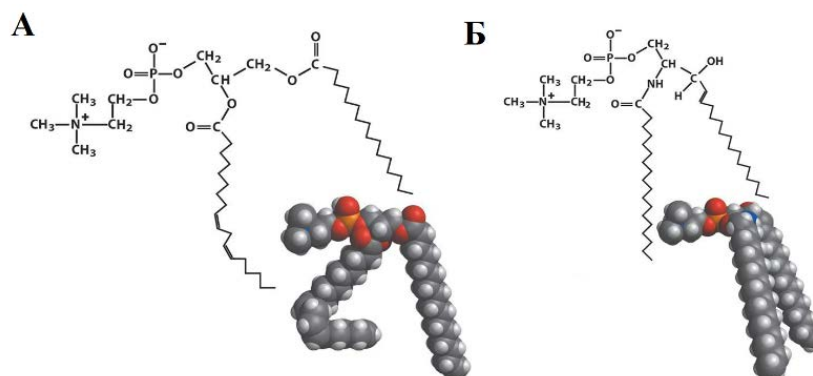


Рис. 5.2. А – фосфатидилхолин, Б – сфингомиелин

5.2. Группы крови человека

Группы крови человека определяются церамидными соединениями в мембране эритроцита (рис. 5.3). В данном случае изначально к церамиду присоединены 5 остатков: глюкоза, галактоза, галактозамин, галактоза и фукоза (присоединена 1-2-связью к предыдущему атому). Ферменты для присоединения этих остатков есть у всех людей. Кроме этого есть ещё один фермент, который способен осуществлять дальнейшую модификацию. Он существует в трёх аллельных формах. Одна неактивна, и в этом случае никакого присоединения не происходит. Так образуется антиген 0. В случае антигена А в эту позицию присоединяется галактозамин, а в случае антигена В – галактоза. Эти варианты определены наследственно. На каждый из антигенов А и В образуются свои антитела. Если у человека имеется фермент, который присоединяет только галактозамин, у него будет группа крови А. Если галактозу, то В. Если оба фермента присутствуют, то будет группа крови АВ. Для того, чтобы была группа 0, не должно быть генов активного фермента в геноме.

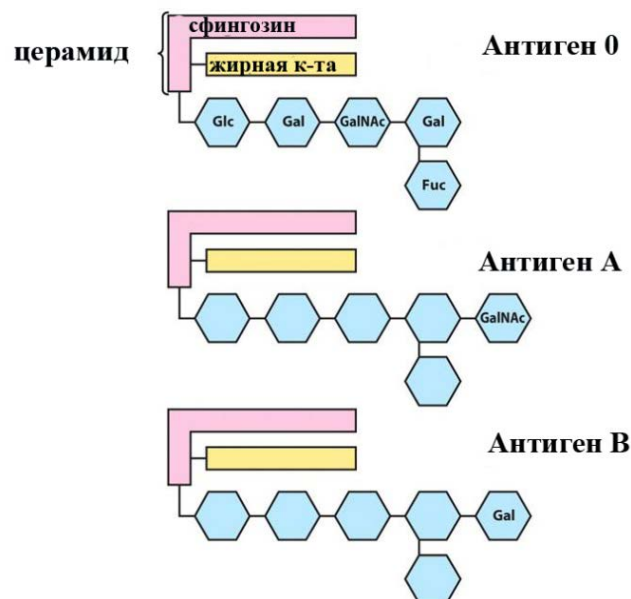


Рис. 5.3. Антигены групп крови человека.

Углеводы на поверхности клеток, как видно из данного случая, являются важными сигнальными группами. Их узнают определённые рецепторы, что помогает клеткам взаимодействовать между собой. Клетки за счёт изменения свойств мембран передают друг другу различные сигналы, обеспечивающие межклеточное взаимодействие.

5.3. Производные арахидоновой кислоты.

Двойные связи в арахидоновой кислоте приводят к появлению изломов в структуре. Также, по этим двойным связям может идти частичная циклизация и окисление. Образуются специфические липиды (рис. 5.4). Одна из форм – простагладин. В нём есть пятичленное кольцо, карбонильная группа и спиртовые группы. Простагландины стимулируют сокращение гладкомышечной ткани. По действию такие вещества похожи на гормоны. Но простагландины, в отличие от гормонов, не могут свободно перемещаться по организму, т.к. в легочном эпителии выделяются ферменты, разрушающие простагландин. Поэтому простагландины оказывают регуляторное действие только на соседние ткани и органы.

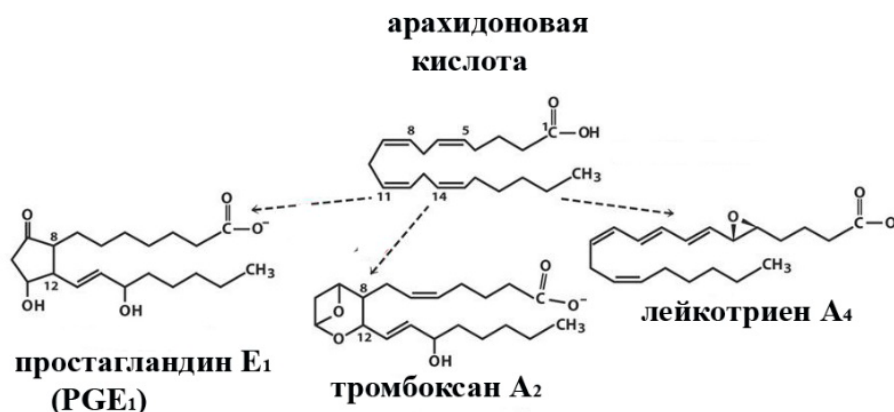


Рис. 5.4. Производные арахидоновой кислоты (эйкозаноиды)

Похожим соединением с похожими функциями являются тромбоксаны. В тромбоксанах также есть пятичленное кольцо и OH-группы, но есть ещё одно кольцо, образованное кислородом. Тромбоксаны также выполняют регуляторные функции. В частности, они регулируют обмен клеток крови.

У лейкотриенов не образуется цикла, но есть перенос двойной связи с образованием сопряженной системы двойных связей и эпоксидная группировка. Они также являются клеточными регуляторами.

5.4. Изопrenoидные соединения. Терпены

Среди негидролизуемых липидов преобладают соединения, имеющие разветвлённую природу. Многие из них фактически являются полимерами изопрена (рис. 5.5). Двойные связи разрываются, образуются 4 свободные валентности, из которых две формируют двойную связь между C₂ и C₃, а две остаются свободными. В дальнейшем возможна полимеризация и циклизация. В промышленности изопрен и его производные используются для получения синтетических каучуков и пластмасс.

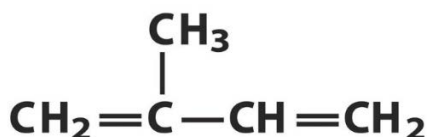


Рис. 5.5. Изопрен

Изопrenoидные соединения распространены среди растений и обуславливают запахи, которые исходят от растений. В основном здесь используются модифицированные димеры изопрена, называемые терпены (рис. 5.6). Зачастую эти димеры (монотерпены) подвергаются циклизации. У таких соединений может быть много изомеров из-за наличия точек ветвления и двойных связей. Названия терпены получили в честь растений, из которых их впервые выделили. Такие соединения достаточно летучие. Терпены встречаются и у животных, но как промежуточные продукты

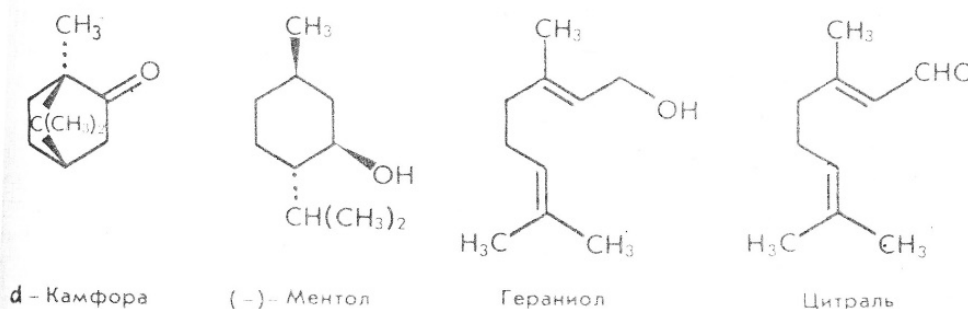


Рис. 5.6. Представители терпенов

Превращения терпенов друг в друга может происходить под воздействием химических факторов: кислот, восстановителей, окислителей. На рис. 5.7 представлены варианты таких модификаций для гераниола. У каждого растения свой набор ферментов для модификации и, соответственно, свой продукт.

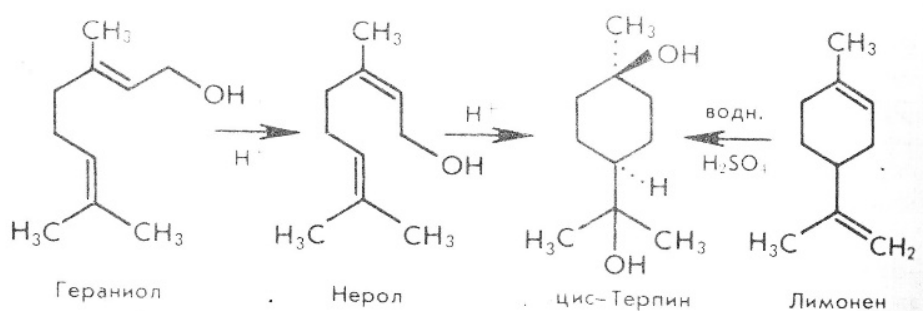


Рис. 5.7. Возможные модификации гераниола.

Некоторые терпены были искусственно синтезированы, чтобы получить необходимые вещества в большом количестве для изготовления косметических препаратов. Химия терпеноидов – большая и хорошо развитая область органической химии.

Присоединение остатков изопрена может идти и дальше. На рис. 5.8 показаны примеры C_{15} -терпенов, производных фарнезола. Фарнезол часто встречается в растениях как промежуточный продукт синтеза и компонент ароматических смесей. Он также может циклизоваться и модифицироваться различными путями. Такие соединения называются сексвитерпены (полутерпены)

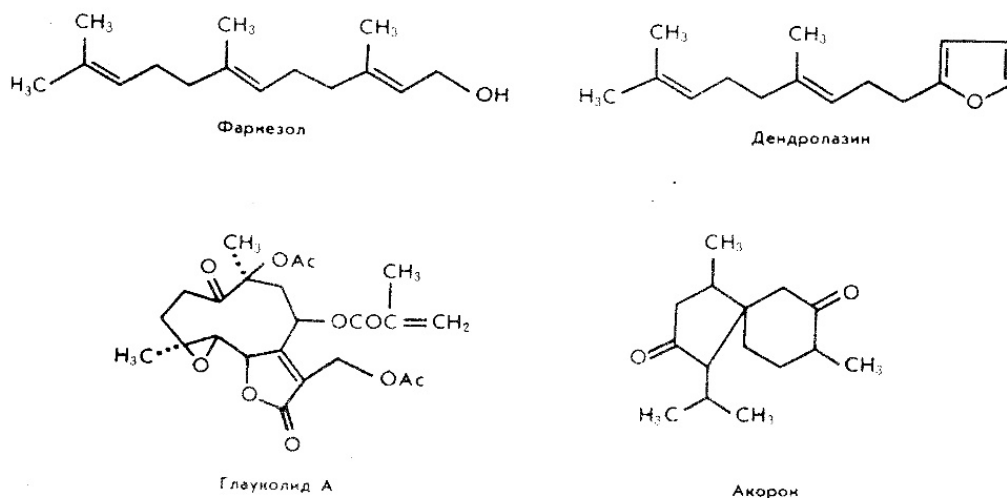


Рис. 5.8. Сексвитерпены.

Сексвитерпены разнообразнее, чем монотерпены из-за большего количества углерода и двойных связей. Как и монотерпены, они выступают в роли пахучих компонентов. Также некоторые сексвитерпены являются предшественниками гормонов, работают как яды для защиты от поедания.

Дальше может присоединяться ещё один остаток изопрена с получением фитола. Полученные C_{20} -соединения называются дитерпены (рис. 5.9). Дитерпены также могут складываться в различные структуры с образованием циклических участков. Многие дитерпены выступают в роли растительных гормонов

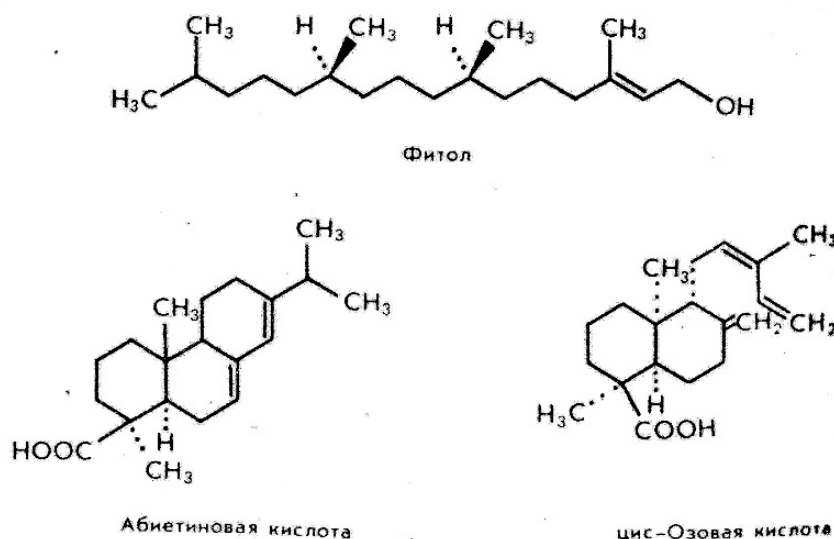


Рис. 5.9. Дитерпены.

5.5. Присоединение «голова к голове»

Во всех вышеупомянутых случаях шла реакция полимеризации изопреноидного остатка по типу «голова к хвосту». Теоретически, такая полимеризация может продолжаться неограниченно. Так, например, образуются природные каучуки. Однако, возможна также полимеризация «голова к голове». Такая полимеризация, как правило, является последней стадией синтеза. Образуется димерная, но зеркальная молекула, называемая сквален (рис. 5.10). Фактически, сквален представляет из себя димер фарнезола.

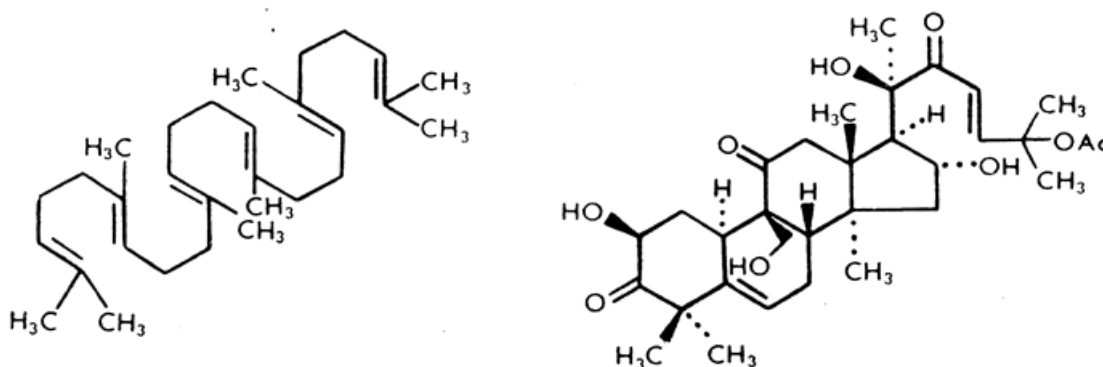


Рис. 5.10. Сквален (слева) и кукурбитацин А (справа)

Сквален служит основой для синтеза других соединений. Одно из производных сквалена, кукурбитацин А, даёт огурцам и тыкве горький вкус.

5.6. Каротиноиды

Понятно, что такая полимеризация приводит к удвоению количества атомов от исходного вещества. Продукты димеризации сексвитрпенов и дитерпенов служат основой для синтеза других важных соединений. В одном случае образуются каротиноиды (рис. 5.11). Основой для их синтеза служит димеризованный геранилгераниол, в котором затем увеличивается количество двойных связей и меняется их расположение. Образуется система сопряженных двойных связей. На конце же происходит циклизация. Сопряженные связи приводят к сильному окрашиванию.

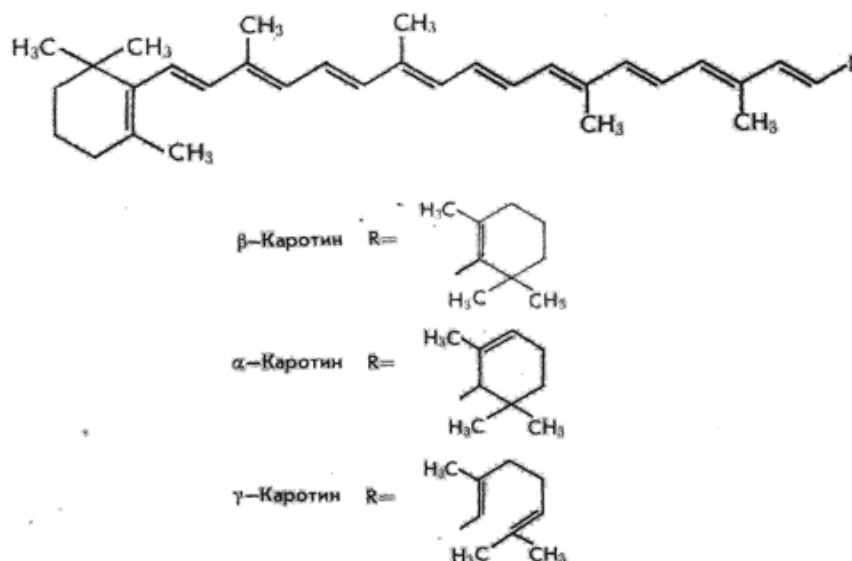


Рис. 5.11. Каротины – одни из основных представителей каротиноидов.

Каротиноиды образуются только у растений. Они являются обязательными компонентами фотосинтетической системы растений. Каротины поглощают свет в определённой области спектра и служат дополнительными антенными пигментами фотосинтеза. Также в некоторых случаях каротины могут присоединять кислород по двойным связям с образованием эпоксидов. Это позволяет использовать каротиноиды как один из компонентов антиоксидантной системы. Окисленные каротиноиды могут восстанавливаться в исходную форму с помощью специального фермента. Также некоторые представители семейства каротиноидов накапливаются и в других частях растения, давая им характерную красно-оранжевую окраску.

Животные не образуют каротиноиды, но животные в них нуждаются. Поэтому, животные должны получать каротиноиды с пищей (рис. 5.12). Во-первых, из β-каротина у животных синтезируется витамин А₁ (ретинол). Ретинол, окисляясь по концевой группе, даёт начало другим необходимым для животных соединениям. В результате окисления до альдегида получается ретиналь, выполняющий функцию зрительного пигмента. Двойная связь С₁₁-С₁₂ при поглощении света изомеризуется в транс-форму. В результате этой изомеризации происходит изменение конформации белка, в состав которого входит ретиналь (родопсина). Существует несколько форм родопсинов, которые по-разному чувствительны к свету. Изменение конформации белка в конечном итоге приводит к передаче нервного импульса.

У галобактерий также есть аналог родопсина, содержащий ретиналь (бактериородопсин). Он встроен в мембрану бактерий и выполняет примерно то же, что и родопсин в зрительной системе. Но бактерии используют конформационные переходы для переноса протонов через мембрану, что ведёт к получению энергии. Иными словами, у галобактерий аналог родопсина используется в фотосинтезе. (*Галобактерии относятся к археям, а не к бактериям. Прим. автора конспекта*)

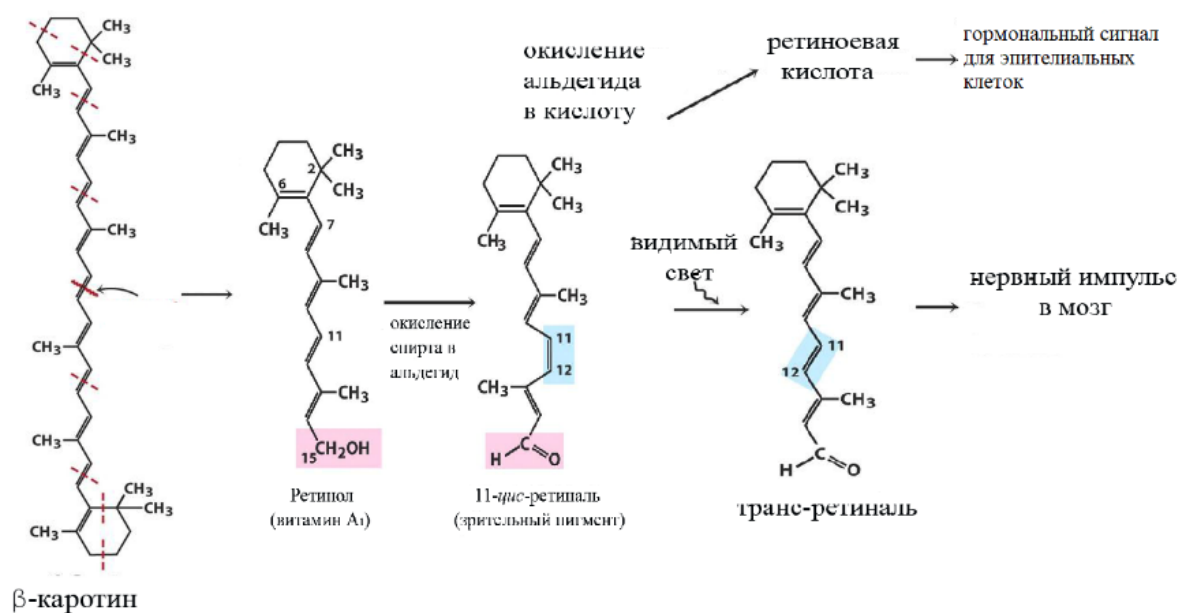


Рис. 5.12. Использование животными β -каротина

Ретинол может окисляться дальше с образованием ретиноевой кислоты, которая принимает участие в регуляции деления эпителиальных клеток. Одни из симптомов недостатка витамина А в организме – ухудшение зрения и нарушение целостности кожных покровов (шелушение, воспаление). Избыток витамина А также приводит к нарушениям зрения.

Каротиноиды со временем разрушаются. Поэтому в растительных продуктах, которые подвергались длительному хранению, их меньше. Ретинол в больших количествах запасается в печени и других жирозапасующих структурах. Самый богатый витамином А источник – печень белого медведя. Избыточное производство ретиноевой кислоты в некоторых случаях приводит к раку кожи.

5.7. Долихолы

Ещё одна группа терпеноидных соединений не требуется в больших количествах, но играет важную роль в функционировании организма. Одни из таких соединений – долихолы (рис. 5.13). Долихолы гидрофобные, на конце один ОН-остаток. Как правило, по ней присоединяется остаток фосфорной кислоты. К этому фосфату могут присоединяться гидрофильные группы, которые долихол может переносить через

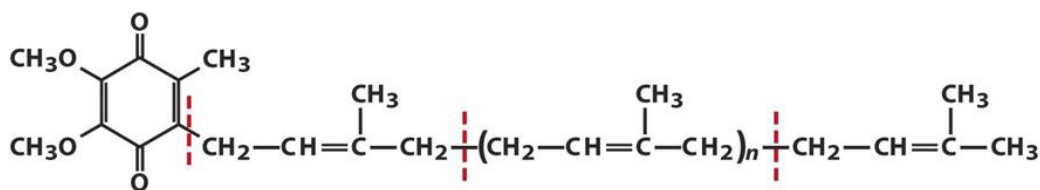


Рис. 5.15. Кофермент Q (убихинон), n от 4 до 10.

Убихиноны могут существовать в различных формах окисления. На рисунке выше представлена предельно окисленная форма. Возможна форма, в которой один или оба из кислородов хинона восстанавливаются до OH-группы. Переход между этими формами используется в митохондриальной транспортной системе для переноса электронов между NAD^+ и цитохромом C. Формируется так называемый Q-цикл, в котором вещества поочередно восстанавливаются и окисляются.

В разных группах организмов длина убихиновов различается. Его длина не является принципиально важной, но чем она больше, тем проще встраивание в мембрану и тем лучше функционирование в конкретных условиях.

Пластохиноны по строению и функциям схожи с убихинонами. В отличие от убихиновов, пластохиноны работают в хлоропластах и имеют небольшие отличия в строении (рис. 5.16). Пластохиноны несколько более устойчивы к разрушению и окислению.

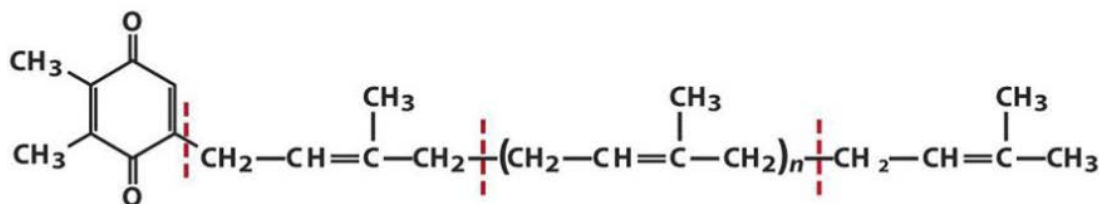


Рис. 5.16. Пластохинон, n от 4 до 8

5.10. Витамин E

Витамин E – антиоксидант, не образующийся в животных клетках (рис. 5.17). Этот витамин предотвращает вредное действие активных форм кислорода, связывая их за счёт OH-группы и сопряженных связей в головном остатке.

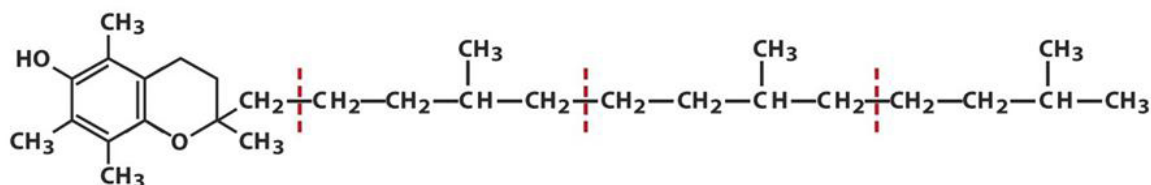


Рис. 5.17. Витамин E

Витамин Е был изначально открыт как один из регуляторов размножения у крыс. Далее было показано, что основная функция витамина Е – нейтрализация активных форм кислорода. Витамин Е хорошо помогает при нейтрализации действия радиоактивного излучения, поскольку там также образуются различные активные формы кислорода.

5.11. Витамин К

Ещё один витамин с изопреноидной цепью в составе – витамин К (рис. 2.18). Он схож по строению с витамином Е. Он необходим для работы механизма свёртывания крови: витамин связывается с одним из факторов этой системы и деактивирует его.

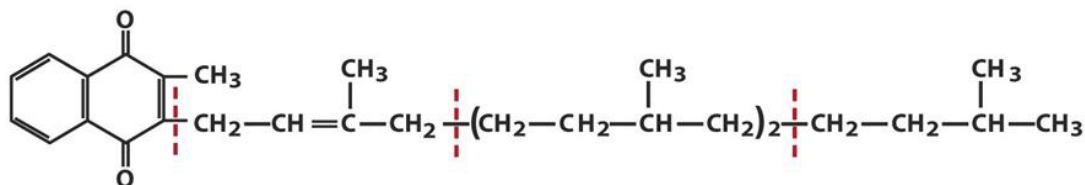


Рис. 5.18. Витамин К

На основе витамина К были разработаны препараты для остановки кровотечения.

5.12. Стерины

Структурно стерины представляют из себя особо уложенный сквален, образующий комплекс циклических структур, и длинный боковой радикал. Стероиды многообразны, но в основном представлены тремя соединениями, каждое из которых вырабатывается у животных, грибов и растений. Они отличаются расположением двойных связей в кольце и хвосте. Так, у холестерина животных их нет вообще (рис. 5.19).

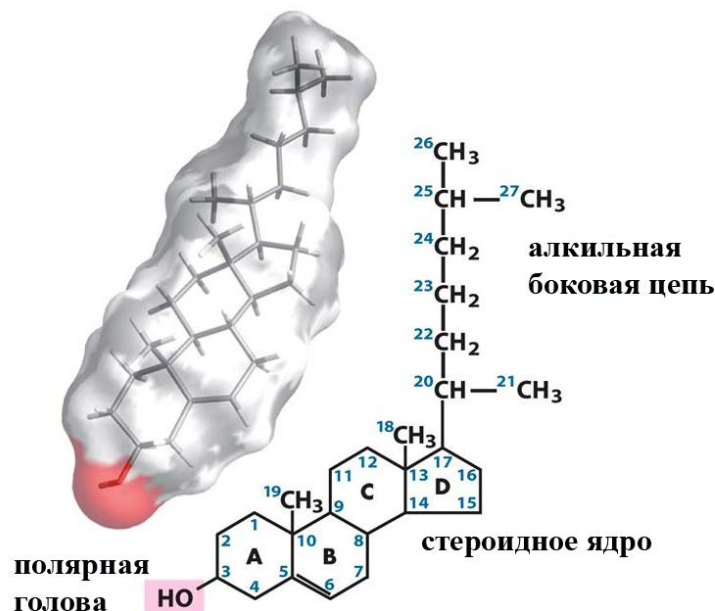


Рис. 5.19. Холестерин

Стероиды различны по строению, но у всех есть общие черты. Все стероиды имеют в составе систему из четырёх сопряженных, но не ароматических колец, при этом кольцо А всегда содержит ОН-группу, и боковую алкидную цепь. Эта цепь указывает на изопреноидное происхождение стероидов. Кольцевая структура у стероидов достаточно жесткая за счёт того, что в атомах отсутствует свободное вращение. Она вместе с боковой цепью образуют гидрофобную структуру.

Подобные молекулы образуются только в эукариотических клетках, прокариоты их не образуют. (При этом в мембранах некоторых бактерий найдены стероиноподобные липиды, называемые гоноиды. Основная разница в том, что в их структуре имеется пять алифатических колец, а не четыре. Прим. автора конспекта.) Стерины встраиваются в мембрану, придавая ей жёсткости. В результате могут формироваться плотные участки мембраны, содержащие много стероидов. Они могут закреплять различные белковые комплексы, снижая их подвижность. Это важно для ряда процессов.

Некоторые бактерии при этом могут использовать стерины, в некоторых случаях даже полностью их разрушая. Иногда же всё может ограничиваться несколькими модификациями. Это используется для получения направленной модификации стероидов. Это используется для получения разнообразных препаратов на стероидной основе.

Стерины могут модифицироваться для выполнения определённых задач в организме. Так, может укорачиваться боковая цепь и кольцо снабжается ОН-группами в два дополнительных положения. Таким образом образуются три разные желчные кислоты (рис. 5.20). Эти соединения похожи по свойствам и функциям. Они в составе желчи работают как эмульгаторы жиров, поступающих с пищей.

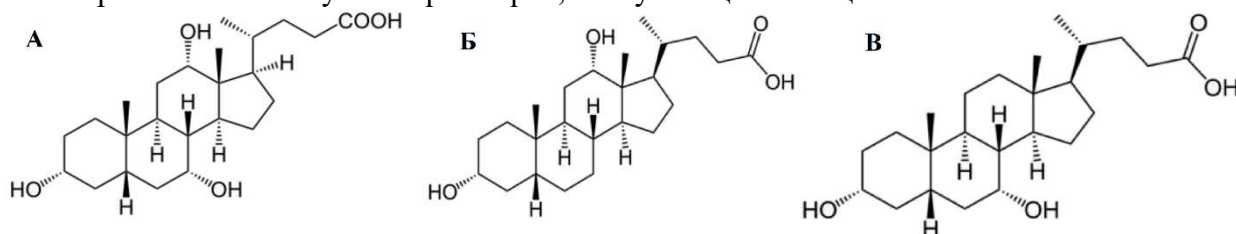


Рис. 5.20. Желчные кислоты. А – желчная кислота, В – дезоксжелчная кислота, В – хенодезоксжелчная кислота.

Для лучшей работы желчные кислоты нуждаются в увеличении гидрофильной части. Это происходит путём присоединения к кислотной группе амидной связью глицина или таурина. Образуются гликожелчная и таурожелчная кислоты соответственно (рис. 5.21). Эти соединения помогают диспергировать и переваривать практически все липиды, попадающие с пищей. Необходимо отметить, что для некоторых животных синтез таурина невозможен и не нужен, потому что они получают таурин с пищей. Это, например, характерно для кошачьих.

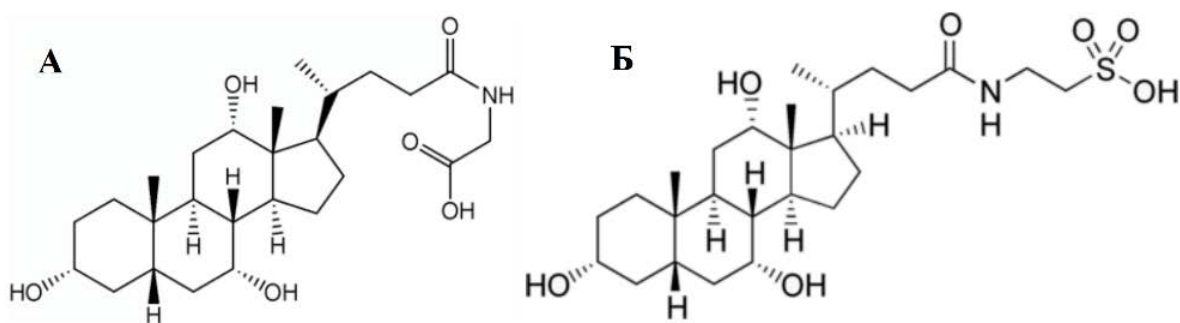


Рис. 5.21. А – гликохолевая кислота, Б – таурохолевая кислота.

Алкильный хвост может подвергнуться дальнейшему окислению. Так образуются стероидные гормоны: гормоны надпочечников (рис. 5.22) и половые гормоны (рис. 5.23). Половые гормоны не образуют кислотных групп, а у эстрадиолов дополнительно первое кольцо ароматизуется.

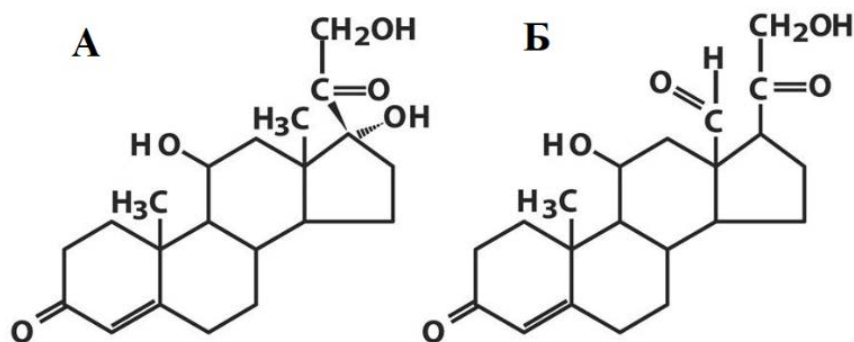


Рис. 5.22. Гормоны надпочечников: А – кортизол, Б – альдостерон.

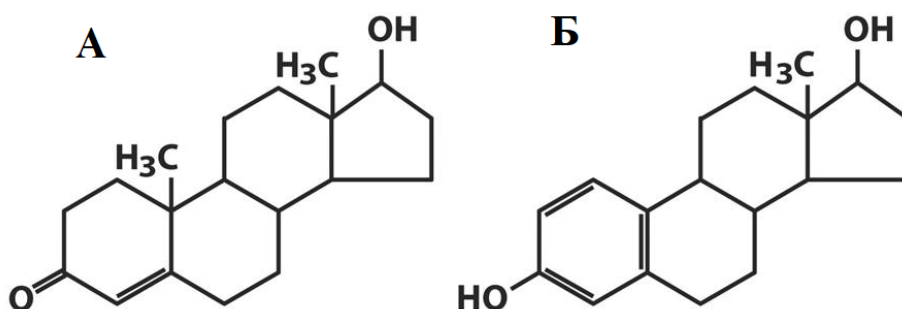


Рис. 5.23. Половые гормоны: А – тестостерон, Б – эстрадиол.

Лекция 6. Нуклеотиды

6.1. История изучения нуклеотидов

Нуклеотиды были открыты в 1868 году Фридрихом Мишером, когда он анализировал состав клеток гноя. В то время исследование гноя вообще было достаточно актуальным, и задачей Мишера было изучение состава гноя. Из-за большого содержания лейкоцитов в гное, в материале было много ядерного материала. Один из открытых Мишером компонентов был высокомолекулярным и с большим содержанием фосфора. Дальше выяснилось, что эта фракция связана с ядром и за это она получила название «нуклеин». В дальнейшем оказалось, что это вещество довольно широко распространено.

Когда начали исследовать их структуру, столкнулись с тем, что смесь продуктов гидролиза была крайне неоднородной. Выяснилось, что мономерные единицы для построения нуклеотидов сами по себе оказались достаточно сложными структурами, состоящими из трёх частей разной природы.

Далее выяснилось, что вообще в клетках достаточно много мономерных единиц, из которых состоят нуклеиновые кислоты. И играют они при этом самостоятельную роль.

6.2. Строение нуклеотида

Центральным компонентом нуклеотида является рибоза или дезоксирибоза в циклической форме. Рибоза в составе нуклеиновых кислот находится в форме фуранозы, т.е. пятичленного цикла (рис. 6.1). В растворе также образуются и пиранозные формы рибозы, но ферментные системы для сборки нуклеотидов рассчитаны на работу именно с фуранозной формой рибозы и дезоксирибозы.

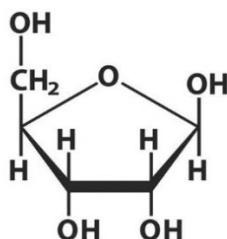


Рис. 6.1. Рибоза в фуранозной форме.

Рибозы практически нет в свободном виде. Почти вся она находится в составе нуклеотидов клетки. Небольшое её количество встречается в виде промежуточных продуктах обмена. Свободные нуклеотиды клетки почти всегда содержат рибозу. Рибонуклеотиды играют важную роль во многих процессах. Дезоксирибоза же в свободных нуклеотидах почти не встречается. Дезоксирибоза и дезоксирибонуклеотиды нужны клетке только для синтеза ДНК, поэтому они образуются в строго определённое время в строгом количестве для обеспечения нормального синтеза ДНК.

6.3. Присоединение основания и фосфата

К углеводу по первому атому присоединяется азотистое основание, а по пятому атому сложноэфирной связью присоединяется фосфат (рис. 6.2). Помимо пуриновых и пиримидиновых могут присоединяться и другие. Основание фиксирует положение, к которому они присоединились, в β -форме. Обычно, в процессе синтеза вначале идёт фосфорилирование, а потом присоединяется азотистое основание.

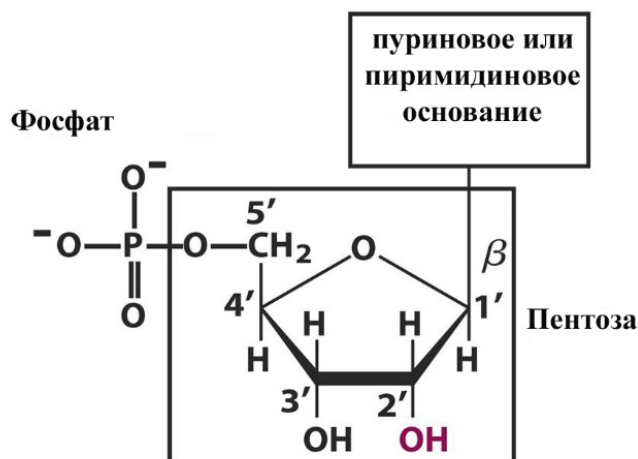


Рис. 6.2. Присоединение азотистого основания и фосфата к пентозе

При таком присоединении у рибозы остаются две свободных ОН-группы. В пространстве они направлены в одну сторону.

Н-гликозидные связи с азотистыми основаниями отличаются по своей прочности. Связи пуриновых оснований слабые и гидролизуются даже в мягких условиях. Пиримидиновые связи присоединены прочнее.

Фосфат иногда может присоединяться в положение, отличное от пятого. Чаще всего, в третье. Практически все такие нуклеотиды – продукты распада нуклеиновых кислот.

6.4. Азотистые основания

Азотистые основания – ароматические гетероциклы с сопряженными связями. В основном азотистые основания – производные или пурина, или пиримидина (рис. 89). Пуриновые основания присоединяются к рибозе за счёт азота в 9 положении, хотя возможны резонансные переходы водорода между азотами в пятичленном цикле. Пиримидиновые основания присоединяются через азот в 1 положении. Образование заряда в таком случае не происходит, потому что присоединяется не пиримидин, а его производные, в которых образование заряда компенсируется.

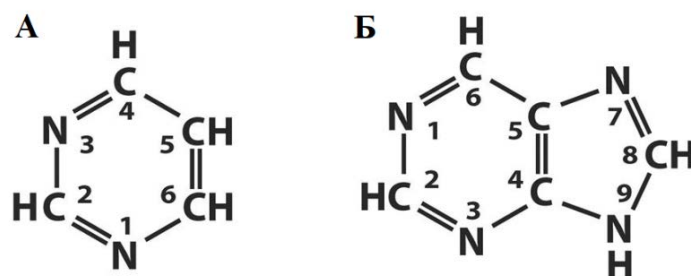


Рис. 6.3. Структурные предшественники азотистых оснований. А – пиримидин, Б – пурин.

И пурин, и пиримидин в чистом виде не накапливаются в живых организмах. В ходе метаболизма образуются их производные, поскольку заместители включаются в структуру ещё до замыкания кольца. Заместители могут быть только в определённых положениях: у пиримидинов это четвёртый и второй атомы углерода, а у пуринов – второй и шестой.

В азотистых основаниях нумерация атомов в цикле идёт по показанной схеме. В рибозе нумерация атомов идёт с пометкой «'» у номера соответствующего атома.

6.5. Пиримидины

В нуклеиновых кислотах встречается в основном три различных пиримидиновых основания: цитозин, тимин и урацил (рис. 6.4). Эти основания включаются в нуклеиновые кислоты в момент их синтеза. Существуют также минорные модифицированные основания, которые возникают уже в готовой нуклеиновой кислоте в ходе её модификации.

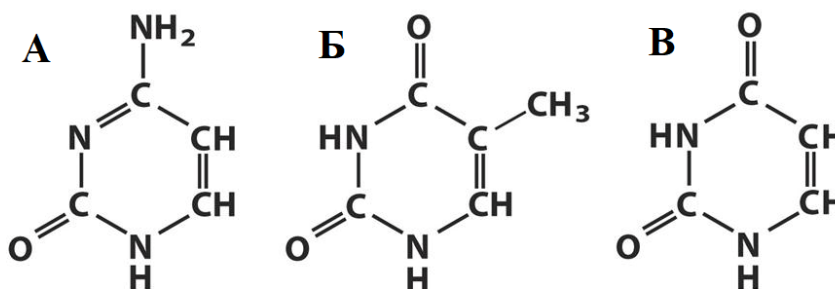


Рис. 6.4. Пиримидины. А – цитозин, Б – тимин, В – урацил.

Урацил – наиболее простой из пиримидиновых нуклеотидов. Урацил может вступать в реакции, характерные для фенолов, хотя более устойчивая форма урацила не имеет бензольного кольца. Однако, возможен таутомерный переход одной формы в другую (рис. 6.5). Равновесие сдвигается в одну из сторон в зависимости от проходящих реакций. Встречается в основном в составе рибонуклеотидов.

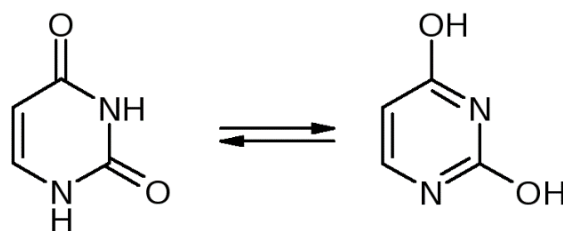


Рис. 6.5. Таутомерные формы урацила

Тимин встречается практически только в форме дезоксирибонуклеотида. Фактически он из себя представляет метилированный урацил. Большинство реакций, происходящих в клетках с тиминном и урацилом, идут по схожим механизмам. Но задействованные в реакциях ферменты, как правило, специфичны либо к урацилу, либо к тимину.

Цитозин может связываться как с рибозой, так и с дезоксирибозой. Аминогруппа цитозине препятствует протеканию таутомерных переходов.

6.6. Пурины

Из пуринов в нуклеиновых кислотах в основном присутствуют два основания: аденин и гуанин (рис. 6.6). Аденин образован за счёт замещения водорода в 6 положении на NH_2 -группу. Аденин – единственное бескислородное азотистое основание, входящее в состав нуклеотидов.

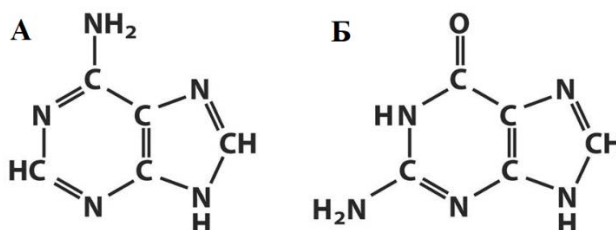


Рис. 6.6. Пурины: А – аденин, Б – гуанин.

6.7. Варианты присоединения фосфора

Для образования нуклеотида обязательно присоединение фосфата к сахарному остатку. Если фосфата нет, образуются нуклеозиды. В норме фосфат присоединяется в пятое положение, но возможны и другие варианты (рис. 6.7). В частности, возможно присоединения фосфата по второму, третьему и даже по второму и третьему вместе. В последнем случае один фосфат связывается сразу с двумя ОН-группами. Такая форма обычно легко разрушается, но при этом образуется в составе нуклеиновых кислот, приводя к их расщеплению.

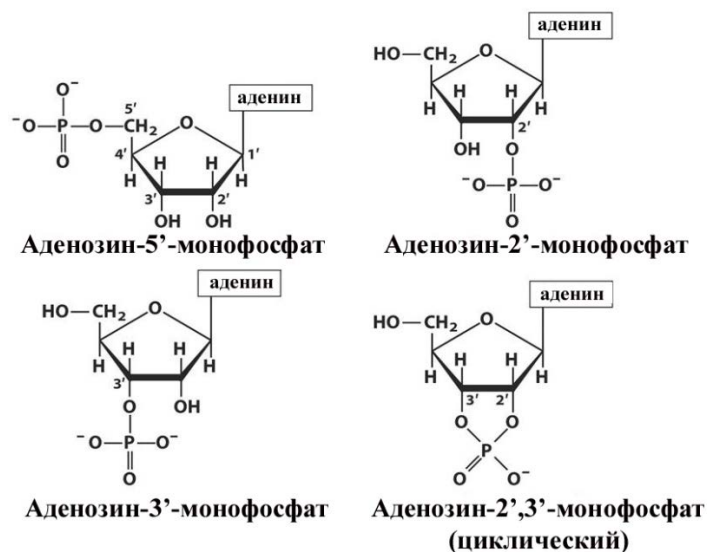


Рис. 6.7. Варианты присоединения фосфата к аденозину.

6.8. Вариации нуклеотидов

Фосфаты в разных положениях и различные нуклеотиды могут определённым образом комбинироваться. Примеры таких нуклеотидов приведены в табл. 6.1. Розовым на структурных формулах выделен нуклеозид. В случае, если нуклеотид происходит от пуринового основания, название образуется от имени соответствующего азотистого основания с добавлением суффикса «-озин». Образованный дальше фосфат можно назвать как фосфат или как кислотное соединение. Указание положение фосфата обязательно, если оно отлично от 5'.

Нуклео- зиды	Дезоксиаденозин	Дезоксигуанозин	Дезокситимидин	Дезоксицитидин	Уридин	Цитидин
Нуклео- тиды	дезоксиаденилат (дезоксиаденозин 5'-монофосфат)	дезоксигуанилат (дезоксигуанозин 5'-монофосфат)	дезокситимидилат (дезокситимидин- 5'-монофосфат)	Дезоксицитидилат (дезоксицитидил 5'-монофосфат)	Уридилат (уридин-5'- монофосфат)	Цитидилат (цитидин-5'- монофосфат)
Символы	A, dA, dAMP	G, dG, dGMP	T, dT, dTMP	C, dC, dCMP	U, UMP	C, CMP
ПУРИНОВЫЕ ДЕЗОКСИРИБОНУКЛЕОТИДЫ			ПИРИМИДИНОВЫЕ ДЕЗОКСИРИБОНУКЛЕОТИДЫ		ПУРИНОВЫЕ РИБОНУКЛЕОТИДЫ	

Табл. 6.1. Разнообразие нуклеотидов

Полные названия нуклеотидов достаточно длинные, поэтому были приняты определённые условные обозначения. Например, дезоксиаденозинмонофосфат будет

обозначаться как dAMP (в русскоязычных источниках дАМФ). Но в случаях, когда степень фосфорилирования не важна, а дезокси- или оксиформа однозначно определены, указывается просто первая буква соответствующего нуклеотида. Это позволяет, к примеру, экономить память компьютера при проведении различных вычислительных операций.

6.7. АТФ

К одному нуклеотиду может присоединяться больше одной фосфатной группы. Соединение может идти по-разному. Наиболее интересны и важны случаи, при которых между фосфатными группировками образуются ангидридные связи. Фосфорная кислота при нагревании димеризуется с отщеплением воды. Образуется пирофосфорная кислота. Она устойчива только в определённых условиях (нейтральный раствор с натрием в качестве противоиона). В нейтральных условиях гидролиз идёт медленно. Образованная молекула напряжена и энергетически более выгодно разделить образовавшуюся связь. Но в состоянии соли скорость этого процесса крайне мала. Гидролиз этой связи может происходить в кислой среде достаточно быстро с выделением энергии.

В составе нуклеотида возможно присоединение последовательно до трёх фосфатных остатков. При этом образуется одна (в случае дифосфатов) или две (в случае трифосфатов) ангидридные связи. Гидролиз каждой из таких связей идёт с выделением энергии. Нуклеотиды с ангидридными связями служат источниками энергии во многих метаболических процессах. Запасается и получается эта энергия в результате нескольких процессов, один из которых заключается в использовании энергии окислительно-восстановительных реакций (дыхание).

На рис. 6.8 изображено одно из самых распространённых таких соединений, АТФ (аденозинтрифосфат). В клетках она обычно находится в виде солей магния, что стабилизирует структуру. Практически во всех реакциях с участием АТФ в реакции реально участвует именно магниевая соль.

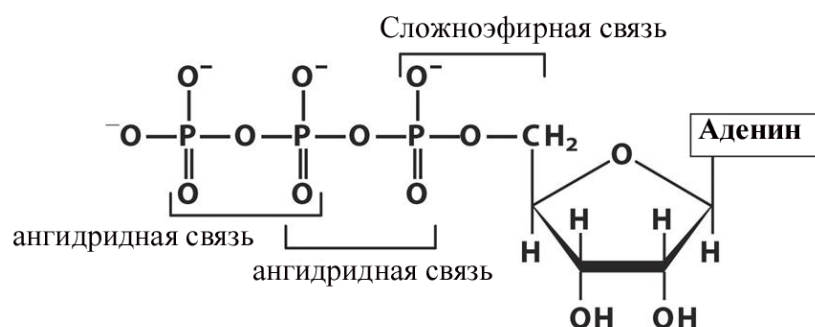


Рис. 6.8. АТФ (АТР, аденозинтрифосфат)

В названии таких соединений прежде всего указывается тип нуклеотида и количество фосфатных групп в составе. Три- и дифосфаты всегда присоединены к пятому положению углевода. Наиболее энергетически выгодно (с точки зрения

выделения свободной энергии) производить гидролиз трифосфатов до дифосфатов с выделением остатка фосфорной кислоты.

Фосфаты, естественно, можно присоединять и к другим нуклеотидам. В табл. 6.2 приведено разнообразие таких соединений. Необходимо отметить, что содержание дезоксирибонуклеотидов в клетке невелико и зачастую при обозначении различных рибонуклеозидфосфатов буква «d», обозначающая дезоксирибонуклеотид, не указывается.

Сокращённые обозначения рибонуклеозид-5'-фосфатов				Сокращённые обозначения дезоксирибонуклеозид-5'-фосфатов			
основание	моно-	ди-	три-	основание	моно-	ди-	три-
аденин	AMP	ADP	ATP	аденин	dAMP	dADP	dATP
гуанин	GMP	GDP	GTP	гуанин	dGMP	dGDP	dGTP
цитозин	CMP	CDP	CTP	цитозин	dCMP	dCDP	dCTP
урацил	UMP	UDP	UTP	урацил	dUMP	dUDP	dUTP

Табл. 6.2. Сокращённые обозначения рибонуклеозидфосфатов и дезоксирибонуклеозидфосфатов.

Вне зависимости от азотистого основания, энергия, запасаемая в пирофосфатных связях, примерно одинакова во всех случаях. Клетки в теории для получения энергии могут использовать нуклеотиды с любыми азотистыми основаниями, но в основном используются адениновые нуклеотиды. АТФ используется практически во многих реакциях синтеза. Однако, при синтезе полисахаридов используется энергия уридилловых нуклеотидов, при синтезе липидов – цитидиловых. При синтезе белков в разных реакциях используется АТФ и ГТФ. ГТФ также играет роль в формировании ответа на зрительные сигналы. При этом образование АТФ почти всегда предшествует образованию других трифосфонуклеотидов.

Нуклеотиддифосфаты, как правило, не являются источниками энергии. Они образуются из трифосфатов во время гидролиза последних, а затем снова превращаются в трифосфаты.

6.8. Необычные присоединения фосфата

Фосфаты могут присоединяться не только друг к другу, но и к другим позициям в пределах молекулы рибозы. Могут образовываться циклические нуклеозиды (рис. 6.9), где фосфогруппа образует связь с ОН-группами при 3' и 5' атомах углерода. Циклические АМФ и ГМФ (цАМФ и цГМФ) играют важную роль в регуляторных процессах. Они образуются из соответствующих трифосфатных молекул с помощью ферментов циклаз и служат сигнальными молекулами. У эукариот они часто активируют ферменты модификации белков. У ряда прокариот они регулируют экспрессию генов.

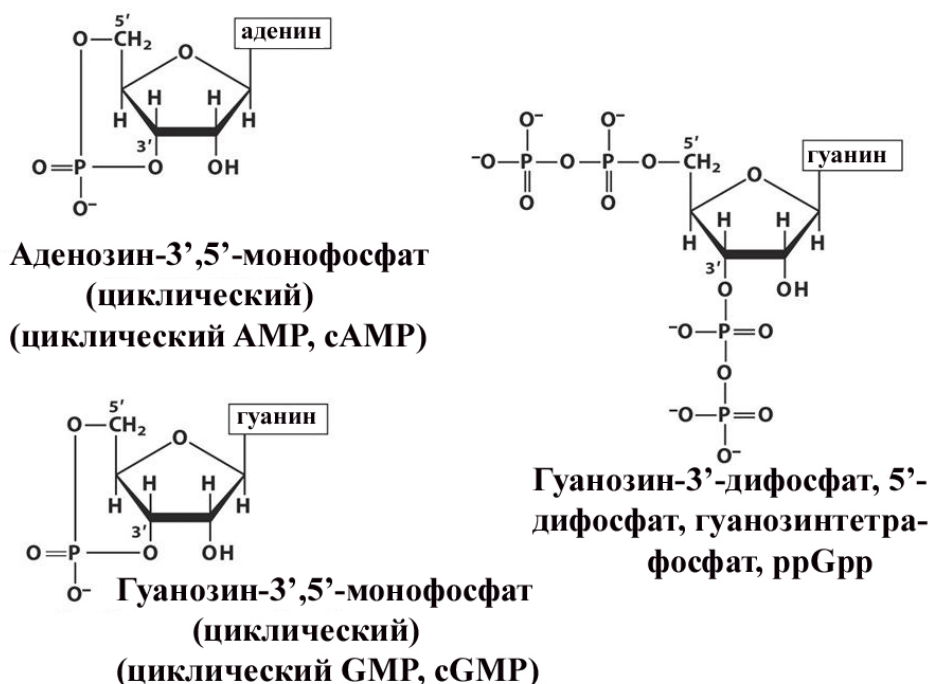


Рис. 6.9. Нуклеотиды с необычным присоединением фосфатов.

Другая интересная молекула – гуанозиндифосфатдифосфат (гуанозинтетрафосфат, ppGpp). В данном случае к гуанозину в 3' и 5' присоединены пирофосфатные группировки. Предшественниками в синтезе этого вещества являются две молекулы ГТФ: от одной молекулы отщепляется фосфатная группа, а вторая присоединяет свой пирофосфат к первой. Это вещество образуется в рибосомах бактерий при недостатке аминокислот, тормозит белковый синтез и включает синтез аминокислотный.

Рассмотренные далее соединения не являются нуклеиновыми кислотами и построены из компонентов, не свойственных нуклеиновым кислотам по другим принципам.

6.9. НАД

НАД (NAD, никотинамидадениндинуклеотид) относится к пиридиновым нуклеотидам (рис. 6.10). Никотиновая кислота, входящая в состав НАД, является витамином. Животные не могут её синтезировать и получают её только с пищей. НАД является универсальным переносчиком гидрид-ионов за счёт заряда в никотинамидной части. Связь между нуклеотидами осуществляется через связь между монофосфатами. В целом, молекула заряжена отрицательно, но, чтобы обозначить наличие положительного заряда у никотинамида, принято обозначать свободный от водорода НАД как НАД⁺.

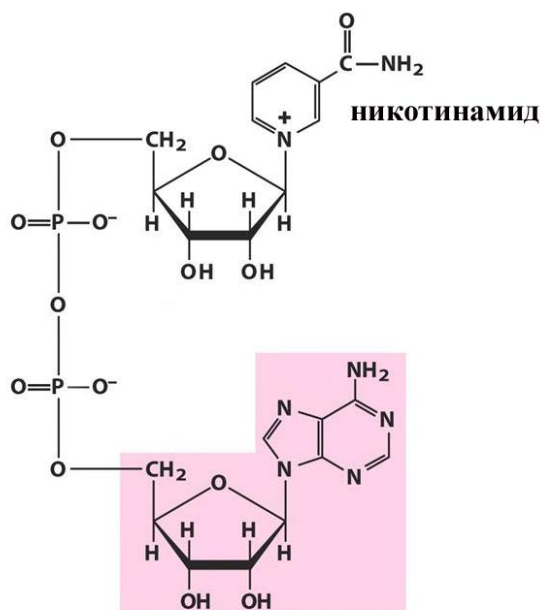


Рис. 6.10. НАД (никотинамидадениндинуклеотид).

При присоединении гидрид-иона (иона H^-) NAD^+ становится $NADH$, а также лишние водороды уходят в среду. НАД может отнимать водороды от разных соединений, но эта реакция обратима, что позволяет работать молекулам НАД переносчиками. Их наличие помогает экономить ресурсы клетки и сопрягать различные клеточные процессы.

Гидролиз пиррофосфадной связи может идти с образованием большого количества энергии. Этим свойством клетки пользуются крайне редко. В частности, ДНК-лигаза кишечной палочки в качестве источника энергии для сшивания ДНК использует именно энергию НАД.

НАД может дополнительно фосфорилироваться по рибозе с образованием НАД-фосфата (НАДФ, $NADP$). Она работает как НАД, но узнаётся другими ферментами, хотя ряд ферментов могут работать как с НАД, так и с НАДФ.

6.10. ФАД

ФАД (флавинадениндинуклеотид) (рис. 6.11) работает схожим образом, но содержит в составе флавины. Флавины не являются нуклеотидами, вместо сахара у них находится спирт рибид. Но при этом изначально на месте рибиды образуется рибоза, которая затем восстанавливается. ФАД, в отличие от НАД, присоединяет за счёт двух азотов в остатке рибофлавина два протона, а не гидрид-ион. Также ФАД обычно плотно связан с ферментом, на котором работает, и поэтому не может функционировать как свободный переносчик.

Существуют моонуклеотидные формы и никотинамидной, и флавиновой кислоты, которые могут ковалентно присоединяться к определённым белкам в качестве кофермента.

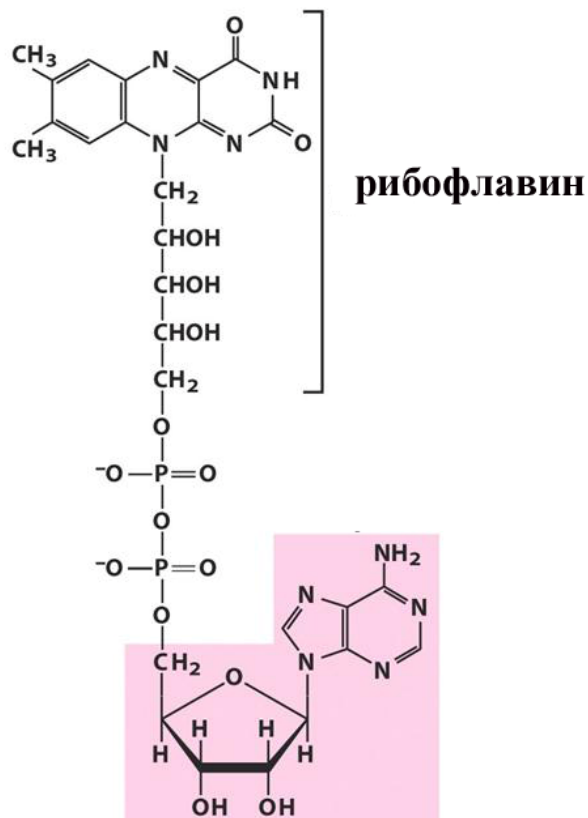


Рис. 6.11. ФАД (флавинадениндинуклеотид)

6.11. Коэнзим А

Коэнзим А (кофермент А, CoA) работает как переносчик различных ацильных остатков. Состоит из остатка АДФ, дополнительно фосфорилированного по 3', к которому дальше присоединена длинная цепочка из остатка пантотеновой кислоты и меркаптоэтиламина (рис. 6.12). SH-группа на конце обеспечивает присоединение ацильного остатка, а нуклеотидная часть позволяет закрепляться на белке.



Рис. 6.12. Кофермент А

6.12. Минорные основания

Существует также большое количество минорных оснований, которые удаётся найти только в составе нуклеиновых кислот (рис 6.13). Все они возникают в результате присоединения дополнительных групп к исходным основаниям. Например, 5-метилцитидин возникает в результате метилирования цитидина. Такая модификация происходит уже на уровне синтезированной ДНК. Метилированная таким образом последовательность ДНК останется таковой даже в случае репликации нити, при этом дочерняя нить метилирована не будет. Это свойство используется, когда клеткам необходимо различать дочернюю и материнскую нити между собой (например, при репарации).

Присоединение оксиметильной группы характерно для некоторых фагов. Эта группа используется для присоединения углеводного остатка, что делает молекулу ДНК более устойчивой к действию ферментов.

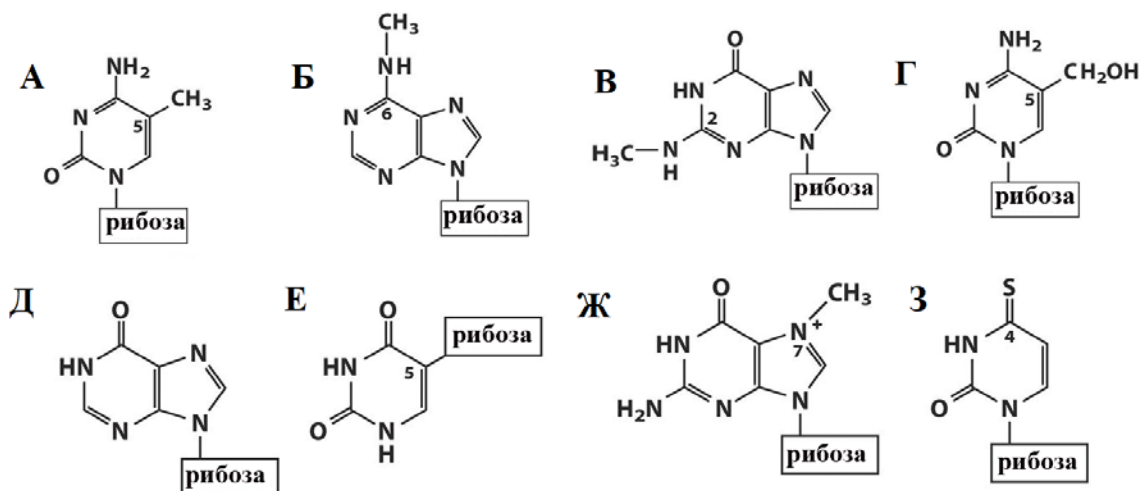


Рис. 6.13. Минорные основания: А – 5-метилцитидин, Б – N⁶-метиладенозин, В – N²-метилгуанозин, Г – 5-оксиметилцитидин, Д – инозин, Е – псевдоуридин, Ж – 7-метилгуанозин, З – тиоуридин.

Инозин содержит в составе основание, называемое гипоксантин, которое является продуктом окисления аденина. Инозин часто встречается в разных видах РНК. Перестройки с образованием дополнительных NH-групп играют важную роль в активном центре рРНК.

Тиоуридин имеет в составе серу, что, на самом деле, довольно редкое явление. Встречается он только у некоторых бактерий. Это соединение интересно тем, что под действием УФ-излучения связь с серой рвётся и сера может присоединиться к чему-нибудь ещё. Это свойство в своё время использовалось для мечения тРНК.

Лекция 7. Нуклеиновые кислоты

7.1. Фосфодиэфирная связь

Связи между нуклеотидами в нуклеиновых кислотах образуются из-за наличия свободной ОН-группы в 3'-положении у моносахаридного остатка и свободной группы у фосфата. Таким образом, фосфатная группа образует связь с ОН-группой соседнего гидроксила. Возникает полимерная молекула, в которой чередуются остаток фосфорной кислоты и рибоза с азотистым основанием (рис. 7.1). Принято называть такую связь **фосфодиэфирной**. Они достаточно легко гидролизуются, но в нормальных физиологических условиях их распада не происходит.

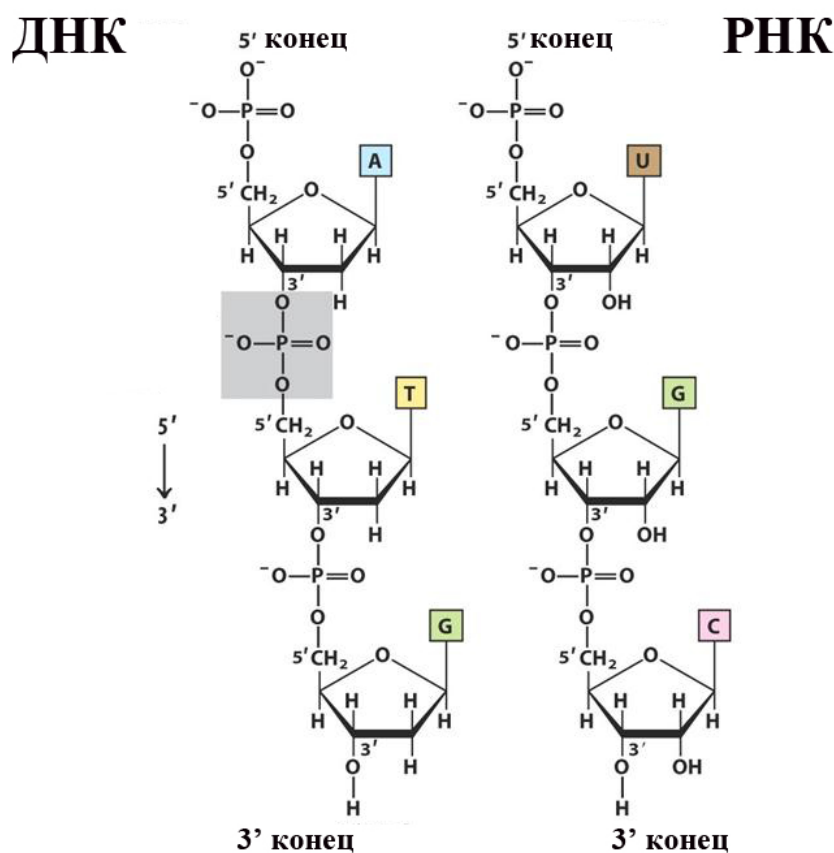


Рис. 7.1. Фрагмент цепи ДНК и РНК.

Существует много ферментов, способных расщеплять нуклеиновые кислоты. Многие из них находятся на поверхности клеток, так как осуществляют защиту клетки от чужеродного генетического материала (вирусы). Особенно это касается РНК. В процессе полимеризации у фосфата остаётся одна свободная заряженная группировка. Это в целом даёт нуклеиновым кислотам кислые свойства. В реальном растворе ионы

нуклеиновых кислот ассоциированы с ионами калия или магния, с образованием соответствующих солей нуклеатов. В растворе со слабой ионной силой длинные отрицательно заряженные молекулы нуклеиновых кислот принимают вытянутую форму. Поэтому растворы нуклеиновых кислот обладают высокой вязкостью.

7.2. Различия ДНК и РНК

В пределах молекулы одной нуклеиновой кислоты почти всегда можно увидеть только один вид сахара: или рибозу, или дезоксирибозу. Случаи, когда в одной молекуле могут находиться оба эти атома, возможны, но это явление временное и такое соединение существует крайне непродолжительное время.

Нуклеиновые кислоты, в которые входит только рибоза, называются рибонуклеиновыми кислотами (РНК), а те, в которые входят только дезоксирибоза – дезоксирибонуклеиновыми кислотами (ДНК). Помимо различий в наборе сахаров, они немного различаются по набору азотистых оснований. При синтезе ДНК в неё включаются аденин, гуанит, тимин или цитозин. В РНК вместо тимина включается урацил.

7.3. 3'- и 5'-концы

Образующиеся полимерные цепи имеют направление, т.к. каждый сахар образует связь в 3' и 5' положении, кроме концевых. На 3'-конце такой цепи образуется ОН-группа, а на 5'-конце фосфатная группа. Соответственно, у молекул нуклеиновых кислот выделяют 5' и 3' концы. 3'-концы, обычно остаются свободными, а 5'-концы имеют как минимум один остаток фосфорной кислоты, а иногда более сложные структуры (рис. 7.2). В большинстве живых клеток есть фермент, который проводит обязательное фосфорилирование 5'-конца в случае, если там ничего фосфорного нет.

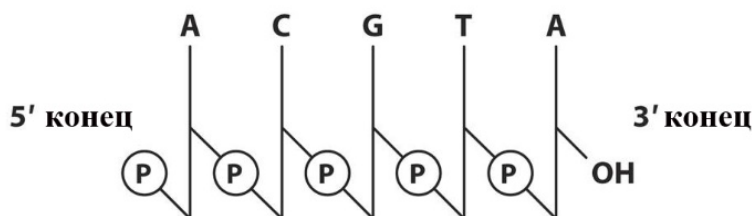


Рис. 7.2. Схематичное изображение цепи ДНК.

Есть несколько способов записи нуклеиновых кислот. Первый – изображение полных структурных формул, как на рис. 100. Второй – с помощью условных обозначений и линий, как на рис. 101. Третий – с записью просто последовательности нуклеотидов в соответствующем основании. Таким образом, участок цепи на рис. 7.2 можно записать как «ACGTA». Минорные основания указываются добавлением определённого символа над обозначением стандартного основания, на основе которого образовалось минорное.

7.4. Азотистые основания. Модификации нуклеиновых кислот

И в ДНК, и в РНК находятся пуриновые и пиримидиновые основания. В парах оснований аденин-тимин (урацил) и гуанин-цитозин можно заметить одинаковые сегменты в циклах.

Также возможны определённые модификации азотистых оснований, которые протекают уже на уровне готовой молекулы (*более подробно про структуру и многообразие см. лекцию 6*). Такие перестройки происходят в строго определённых участках. В простейшем случае есть один специальный фермент, который вносит одну определённую модификацию в определённое место одной определённой нуклеиновой кислоты. Одна из самых популярных модификаций – метилирование цитозина по 5 положению с образованием 5-метилцитидина. Она возникает и в ДНК, и в РНК, но более важна именно в ДНК. Метилирование работает как сигнализация для активации или дезактивации определённых генов.

Аналогичное метилирование может произойти с аденином, там метилируется азот в 6 положении. Эта модификация очень важна для бактерий. Таким образом происходит определение материнской и дочерней цепи и выполнить необходимую репарацию на дочерней цепи. Добавление метильной группы в общем не сильно меняет свойства молекулы, но лишь меняет её гидрофобность.

Метильные группы также могут присоединяться к азоту 2 положения гуанина. Это также не оказывает особого влияния на поведение молекулы, но служит как метка для определённых белков. Такая модификация чаще всего происходит в ДНК. Ферментные системы для этого есть у некоторых вирусов. С их помощью в дальнейшем вирусная ДНК дополнительно защищается углеводной оболочкой в момент инфицирования.

Азотистые основания могут подвергаться окислению, что уже значительным образом сказывается на функционировании структуры НК. Например, инозин является окисленной формой аденозина. Инозин может образовываться, как продукт распада аденина, но в основном в составе клетки он включен в нуклеиновые кислоты. Если такое произошло в ДНК, это приведёт к появлению мутации, так как структурно инозин схож с гуанином. В некоторых видах РНК эта замена производится специально. Она позволяет варьировать варианты взаимодействия оснований.

Псевдоуридин образуется в определённых участках РНК за счёт присоединения рибозы к углеводу в 5 положении. Возникшая NH-группа позволяет образовать ещё одну водородную связь. Это происходит в больших количествах в активных центрах рибосом, в тРНК.

Метилирование гуанина по 7 положению приводит к формированию положительного заряда у азота. Это сильно меняет свойства нуклеотида, делая его более подверженным различным взаимодействиям. В частности, в ДНК такая модификация может привести к мутациям.

В тимоуридине один из кислородов замещён на серу. Этот вариант модификации редок и встречается только у некоторых бактерий.

7.5. Изучение структуры нуклеиновых кислот. Правило Чаргаффа

В середине 40-х годов было показано, что ДНК является носителем наследственной информации. Появление и развитие УФ-приборов позволило определять содержание нуклеиновых кислот в гораздо меньших количествах. Также в конце 40-х годов был переоткрыт метод хроматографии, изначально открытый ещё в начале XX века. На его основе был также создан метод анализа аминокислотных остатков для контроля потребления аминокислот.

Позднее хроматографический анализ с использованием УФ-измерения применили к нуклеиновым кислотам. Это было сделано американским химиком Эрвином Чаргаффом. Он также разработал способ гидролиза ДНК до свободных оснований за счёт использования концентрированной хлорной кислоты. Проанализировав состав полученных азотистых оснований, он пришёл к некоторым интересным выводам. Во-первых: соотношение азотистых оснований в различных организмах разное. Во-вторых: количество азотистых оснований попарно равно. То есть в любой ДНК гуанина столько же, сколько цитозина, а аденина столько, сколько тимина. Иными словами:

$$A=T$$

$$G=C$$

Из равенств, которые можно математически получить в дальнейшем, был сделан вывод о наличии определённой связи между различными нуклеотидами. Соответствующие соотношения получили названия **правила Чаргаффа**.

7.6. Рентгеноструктурный анализ

Параллельно над изучением структуры нуклеиновых кислот работала группа британских физиков, которые пытались сделать рентгеноструктурный анализ ДНК. Суть рентгеноструктурного анализа в том, что в зависимости от количества повторяющихся компонентов в ячейке кристалла наблюдается различное преломление лучей рентгеновского излучения. Проблема была в том, что ДНК практически не кристаллизуется. Был использован метод ориентированных плёнок: ДНК растворяли в большой концентрации, наливали в плоский сосуд, подсушивали и вытягивали, что позволяло ориентировать молекулы ДНК по одной оси. Результаты рентгенограммы такого образца приведены на рис. 7.3. Однако, какую-либо информацию из рентгенограммы ДНК было получить трудно.

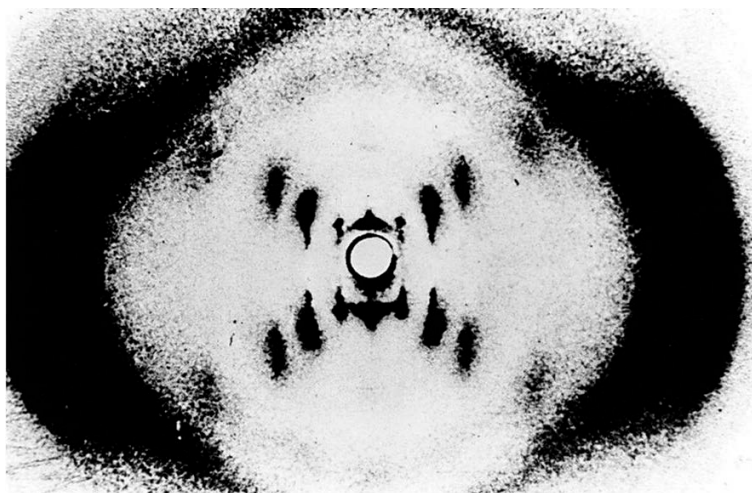


Рис. 7.3. Рентгенограмма молекулы ДНК

7.7. Принцип комплементарности

Следующий виток изучению нуклеиновых кислот дали Джеймс Уотсон и Фрэнсис Крик (рис. 7.4). Собрав данные, которые имелись на тот момент, они принялись за разработку теоретической модели того, как устроена молекула ДНК.

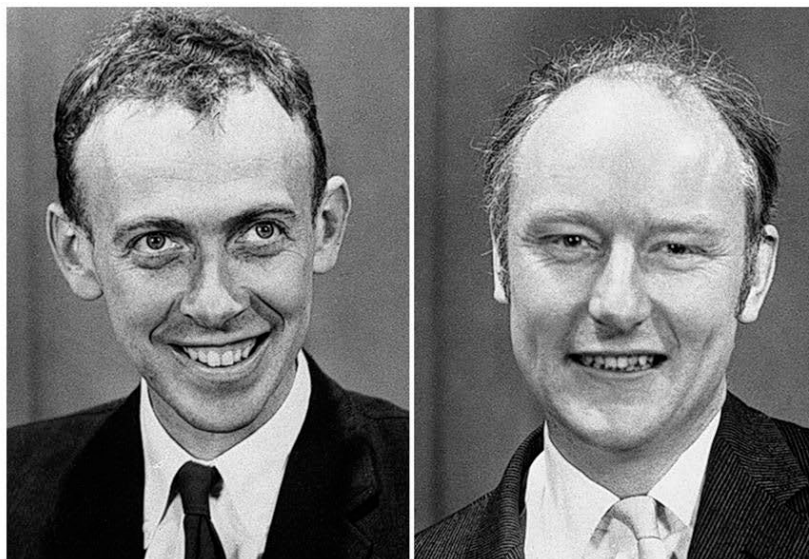


Рис. 7.4. Джеймс Уотсон (слева) и Фрэнсис Крик (справа).

Крик и Уотсон выяснили, что между азотистыми основаниями в молекуле ДНК образуются водородные связи, при чем со строго определёнными углами: 2 связи между аденином и тиминном и 3 связи между гуанином и цитозином (рис. 7.5). Водородные связи позволят удерживать две цепочки между собой. Более того, пары оснований имеют одинаковый геометрический размер, что дополнительно стабилизирует двойную

спираль ДНК. Собственно, дополнение одного основания другим для создания определённой универсальной структуры и называется **принципом комплементарности**.

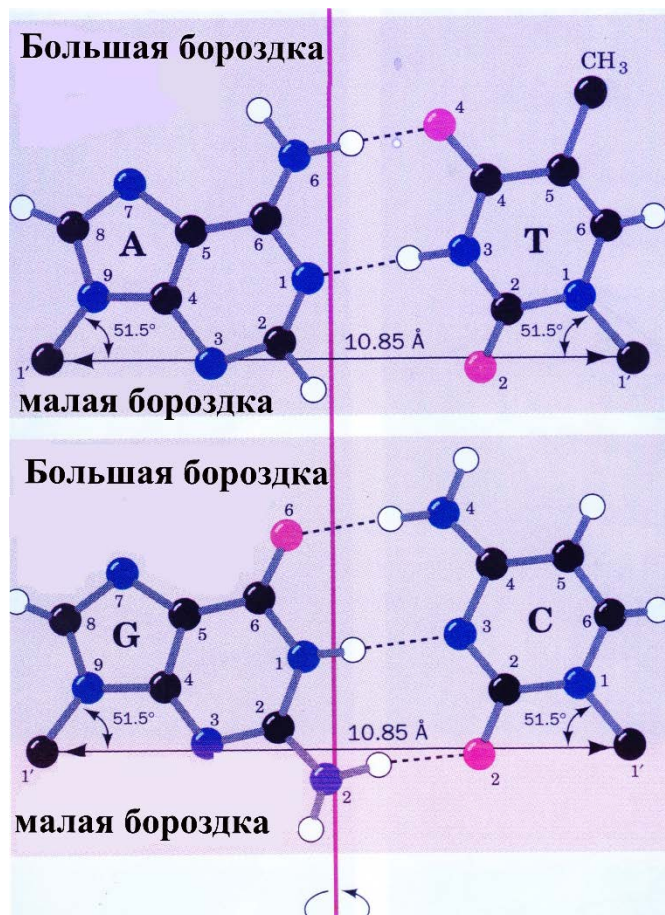


Рис. 7.5. Водородные связи между комплементарными азотистыми основаниями в ДНК.

7.8. Структура и разновидности ДНК

Нуклеотиды могут соединяться друг с другом и некомплементарно (А с Г и т.д.). Но в таком случае структура молекулы ДНК будет менее правильной и устойчивой. Существуют ферментные системы, которые гарантируют верное присоединение нуклеотидов друг к другу. Таким образом, образуется линейная структура, которая на всём своём протяжении имеет постоянные расстояния между фосфатными и сахарными остатками и имеет одинаковую ширину на всё протяжении. При этом для правильного присоединения азотистых оснований друг к другу цепи направлены в противоположные стороны (рис. 7.6).

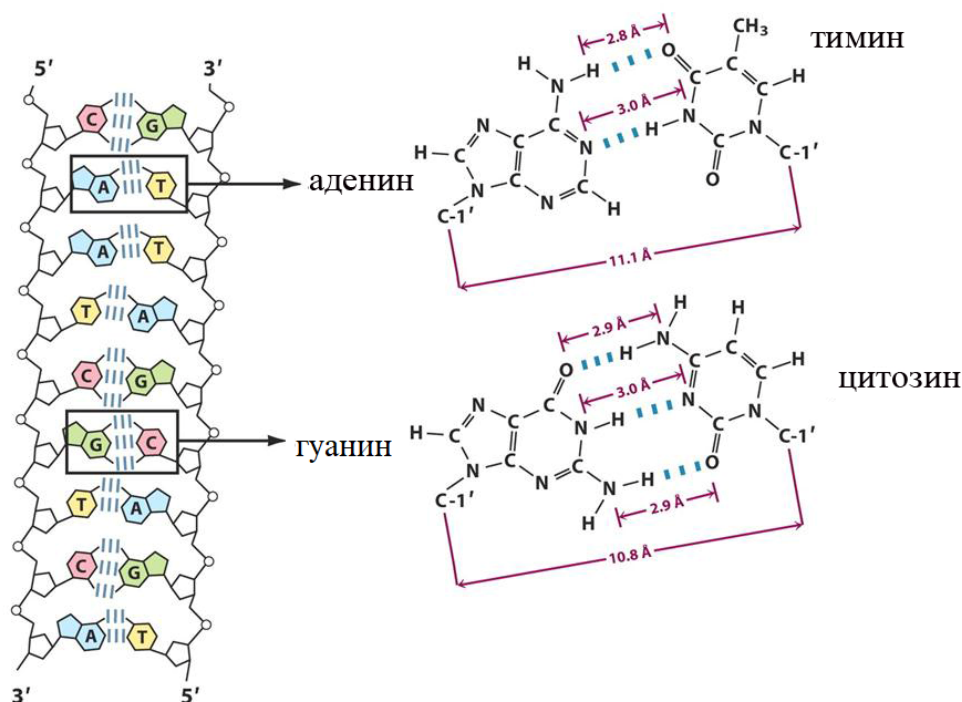


Рис. 7.6. Участок ДНК.

Однако модель, изображенная на рисунке выше, не совсем правильная, поскольку из-за длины связей между молекулами организация такой структуры в плоскости невозможна. В результате дальнейших исследований Крик и Уотсон пришли к выводу, что молекулы ДНК закручены в спираль с шагом в 10 нуклеотидов (рис. 7.7). Также выяснилось, что расположение циклических структур параллельно друг другу энергетически выгодно из-за дополнительной агрегации гидрофильных и гидрофобных участков молекулы. Эти так называемые стэкинг-взаимодействия также оказывают влияние на соединение цепей ДНК между собой.

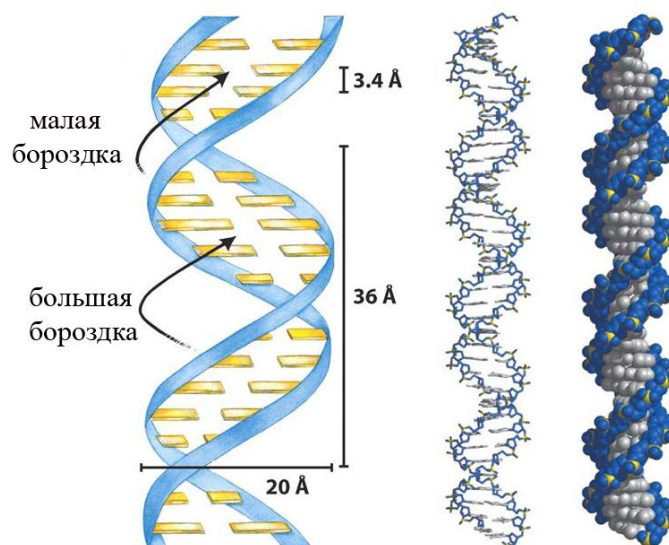


Рис. 7.7. Трёхмерная модель молекулы ДНК

По представлениям Уотсона и Крика, молекула ДНК представляет из себя двойную спираль с шагом в 10 пар оснований. Плоскости оснований перпендикулярны оси спирали, диаметр спирали около 20 ангстрем. В молекул ДНК образуются большая и малая бороздка, образованные «незащищенными» участками азотистых оснований. В основном все модификации ДНК происходят именно по большой бороздке. Данные Уостона и Крика не идеально совпадали с рентгенограммой, полученной ранее. Выяснилось, что спираль может свернуться немного иначе в случае дополнительного скручивания. Такую форму ДНК принимает в среде с низким содержанием воды. Такая форма получила название А-ДНК, а то, что предложили Уотсон и Крик, стали называть В-ДНК (рис. 7.8). В клетках реально существует в основном В-форма, но молекула ДНК может местами принимать А-форму в связи с некоторыми белками.

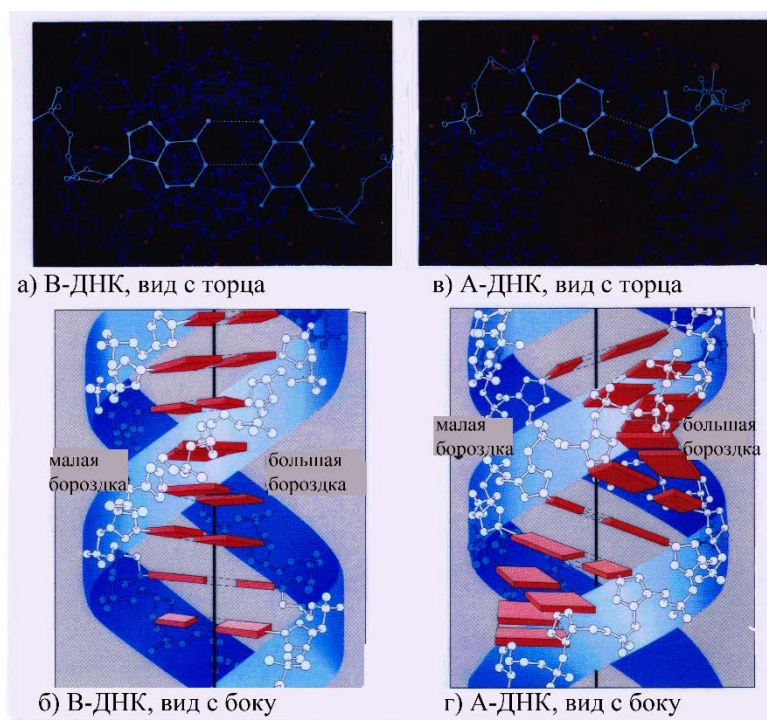
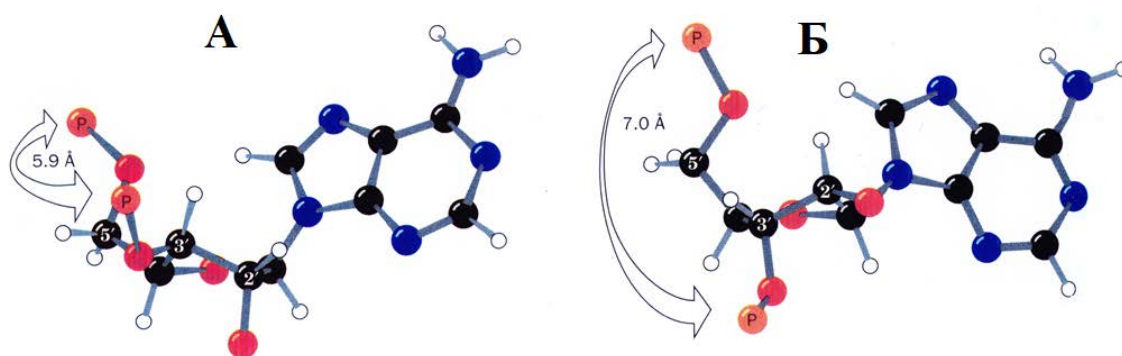


Рис. 7.8. А-ДНК и В-ДНК

Переходы между А и В – формами связаны с изменением конформации рибозы. В одной из них C_3 выведен из плоскости с остальными ($3'$ -эндо-конформация), а в другой – C_2 ($2'$ -эндо-конформация) (рис. 7.9). Таким образом, между фосфатами получается разное расстояние и разный угол между связями.

Рис. 7.9. Изменение пространственной структуры нуклеотида в зависимости от формы рибозы: А – $3'$ -эндо-конформация, Б – $2'$ -эндо-конформация.

С-формы ДНК представляют из себя промежуточные формы между А- и В-формой, полученные в результате постепенного снижения количества свободной воды в растворе. Все их идентифицировали определёнными спектральными методами. Они

также могут существовать в клетке лишь в случае связывания с определёнными белками, имеющими сродство к ДНК именно в такой конформации.

7.9. Плавление ДНК

Если воздействовать на ДНК в растворе факторами, разрушающими водородные связи, будет происходить разрыв связи между некоторыми парами. Г-Ц-связь более прочная и, следовательно, разрушаются они менее охотно. Разрыв может доходить до конца молекулы, и так образуется частично денатурировавшая молекула ДНК. При дальнейшем нагревании эти цепи разойдутся совсем. При этом водородные связи между нуклеотидами остаются, но они образуются случайным образом между случайными нуклеотидами и не отличаются особой устойчивостью. Этот процесс обратимы больше известен как **плавление ДНК**.

Две отдельные нити ДНК могут сходиться обратно в исходную молекулу, но этот процесс долгий и сложный, поскольку должны образоваться связи между комплементарными последовательностями для создания стабильной структуры (рис. 7.10).

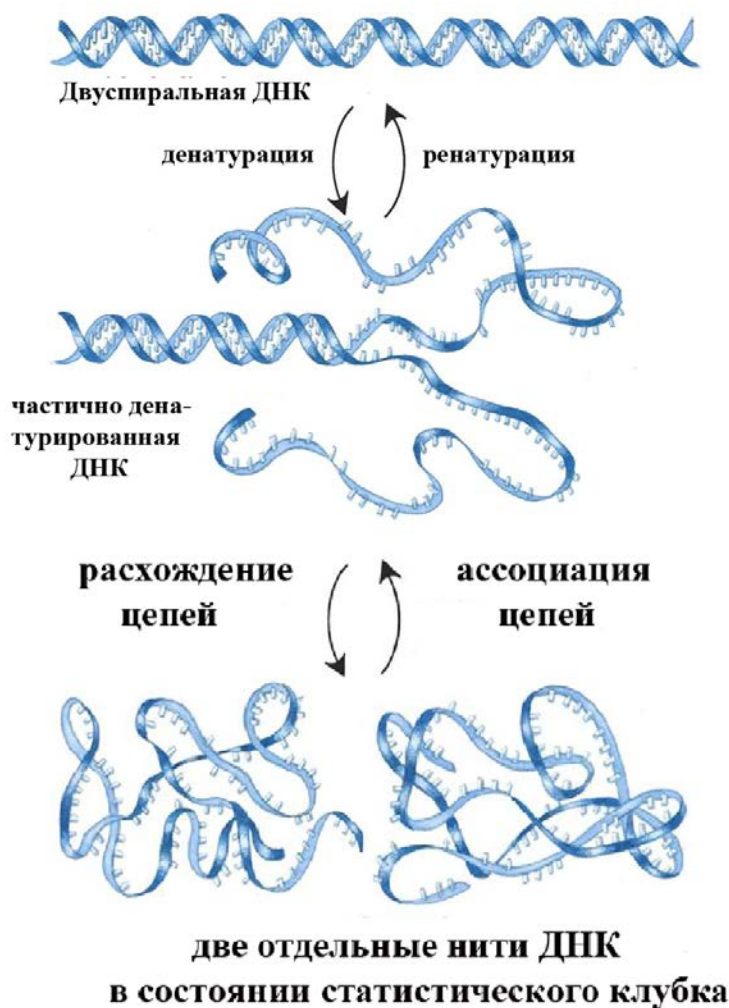


Рис. 7.10. Денатурация и ренатурация ДНК.

Температура плавления зависит от состава и сложности ДНК: чем сложнее геном и, соответственно, сложнее ДНК, тем дольше идёт денатурация молекулы (рис. 7.11). В среднем можно сказать, что чем выше содержание Г-Ц-связей в ДНК, тем выше средняя температура плавления. Используя определённые математические формулы, можно вычислить температуру плавления, а также температуру ренатурации.

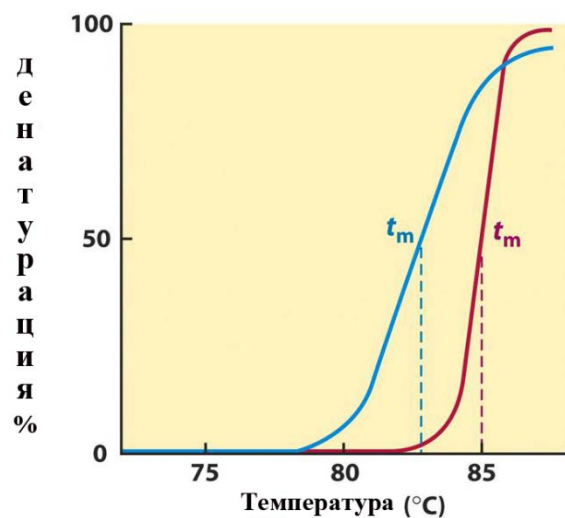


Рис. 7.11. Зависимость времени денатурации от температуры и структурных особенностей (синей линией обозначена ДНК эукариот, красной - прокариот)

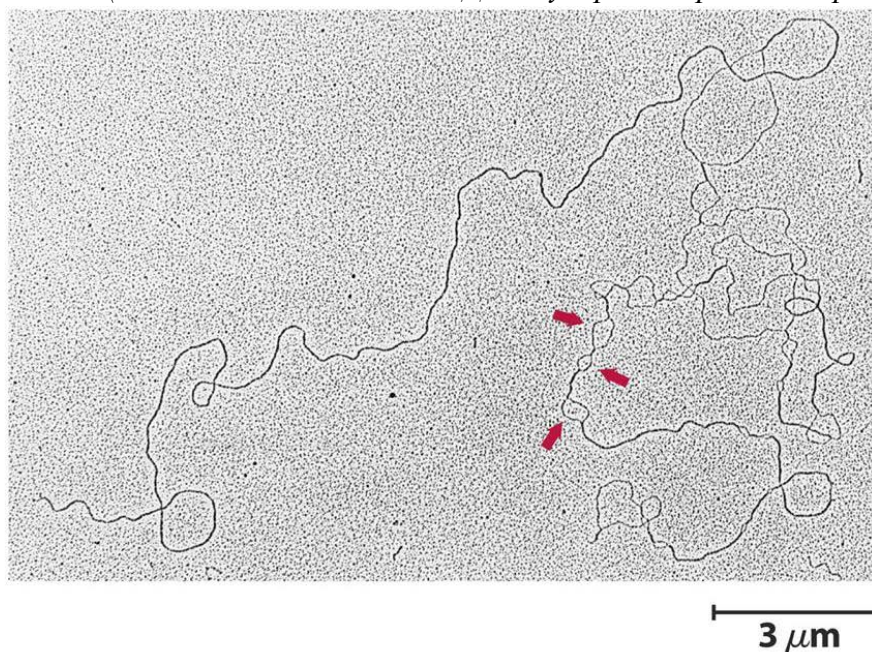


Рис. 7.12. Электронная микрофотография частично расплавленной молекулы ДНК (стрелками указаны зоны частичного плавления).

ДНК — очень длинные молекулы. Бактериальная ДНК в длину может достигать 1 мм. ДНК эукариот обычно в несколько раз длиннее. В связи с этим связаны сложности работы с ними.

Лекция 8. Белки и аминокислоты

8.1. Свойства аминокислот

Название указывает, что в составе аминокислот есть две различных по свойствам группы: основная аминная и кислая карбоксильная. В живых организмах встречается около 300 различных аминокислот. Считается, что 20 из них включается в белки. Это не совсем верно, поскольку есть аминокислоты, которые подвергаются модификации уже в составе белка. Также есть ещё одна аминокислота с особым путём включения (селеноцистеин).

Аминогруппа и карбоксильная группа в молекуле присоединены к определённому углеродному скелету. Возможны варианты, когда обе этих группы присоединены либо к одному и тому же атому углерода, или к различным. В белки входят только аминокислоты, у которых кислотная и азотная группы присоединены к одному и тому же крайнему атому углерода, образуя т.н. α-аминокислоты (рис. 8.1.).

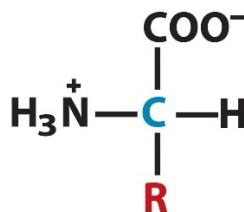


Рис. 8.1. Общая формула α-аминокислот

Аминокислоты могут встречаться и вне белков, и там уже возможны иные расположения функциональных групп (β-аланин, γ-аминомасляная кислота). Таких экзотических аминокислот много у растений. В клетке довольно много аминокислот, которые не включаются в белки, но участвуют в обмене веществ. Промежуточные продукты синтеза и распада тоже зачастую являются аминокислотами, но при этом не входят в состав белков (орнитин).

8.2. Протеиногенные аминокислоты. Заменяемые и незаменимые аминокислоты

Аминокислоты, входящие в состав белков, называют **протеиногенными**. Не все организмы способны синтезировать все необходимые аминокислоты для синтеза белков. По этому принципу аминокислоты делят на заменяемые и незаменимые. Оба этих термина, скорее, физиологические, потому как применимы только к конкретному организму, поскольку незаменимые для одних организмов аминокислоты спокойно синтезируются другими.

Интересно, что для человека аргинин является незаменимым до определённого возраста. В младенчестве аргинина синтезируется недостаточно или не синтезируется вообще. Но с возрастом это проходит и аргинин начинает вырабатываться.

Другой пример связан с тирозином. Человек может синтезировать тирозин только из фенилаланина. Но сам фенилаланин при этом продуцироваться в нашем организме не

может. В некоторых случаях незаменимость кислоты может возникать как результат определённых мутаций.

8.3. L- и D-аминокислоты

Центральный атом углерода, изображенный на рис. 8.1. в общем случае имеет 4 разных заместителя, что делает его оптически-активным атомом. Во всех биологических системах задействованы L-аминокислоты. D-аминокислоты возникают только в определённых ситуациях (рис. 8.2).

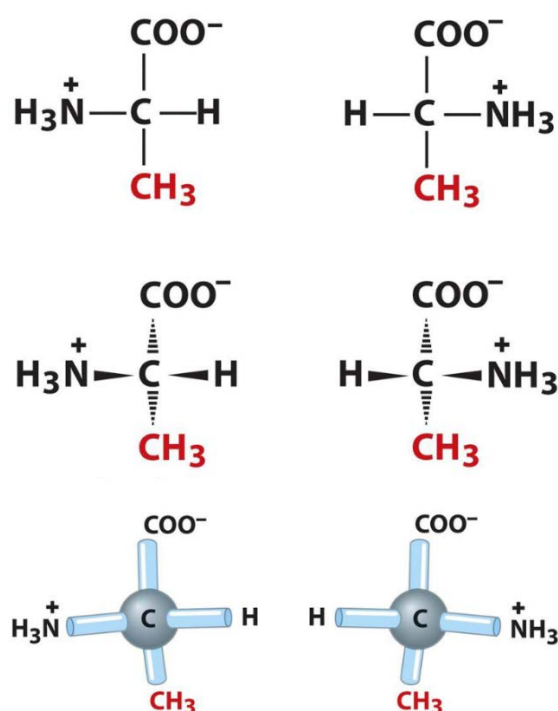


Рис. 8.2. Различные варианты изображения L- и D-формы аланина (слева и справа, соответственно).

Клетки достаточно строго поддерживают аминокислоты в L-форме, поскольку основные реакции с участием аминокислот заточены под работу только с одной из форм. Есть даже системы, разрушающие D-изомеры соответствующих аминокислот

8.4. Алифатические аминокислоты

Радикалы у аминокислот различны по составу и по природе, что приводит к разнообразию функций аминокислот в отдельности и белков, которые они образуют. Есть группы радикалов, не содержащие заряженных групп (рис. 8.3). В основном, это углеводородные радикалы. Исключение – глицин, у которого в качестве радикала выступает протон.

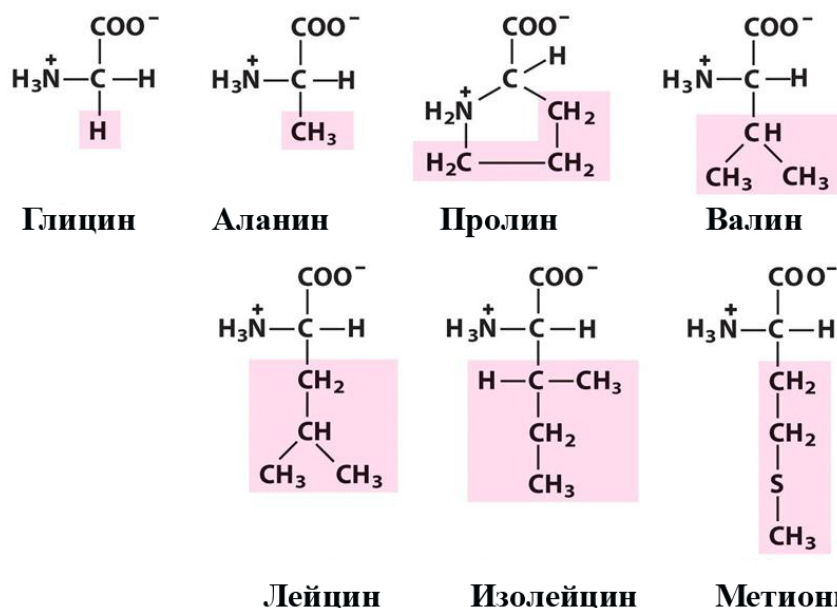


Рис. 8.3. Аминокислоты с неполярными алифатическими радикалами

Радикал валина представляет из себя изопропильный радикал. В отличие от глицина и аланина, обладает уже несколько более ярко выраженными гидрофобными свойствами.

Лейцин и изолейцин являются структурными изомерами друг друга и отличаются по положению метильной группы. Образуются они при этом различными путями. Пролин правильнее будет называть не аминокислотой, а имнокислотой, поскольку у атома азота замещены 3 валентности. Это происходит из-за того, что соединение циклизуется, и к азоту присоединяется конец углеводородного радикала. Образуется замкнутое неплоское пятичленное кольцо.

Метионин в цепочке имеет атом серы. Сера в данном соединении неполярна, поскольку имеет присоединённый углеводород с двух сторон. Он также играет роль в обменных процессах. Метильная группа на конце при определённых активациях достаточно легко отщепляется и передаётся на другое соединение, что позволяет использовать метионин как донор метильной группы. Также при синтезе белка метионин является инициаторной молекулой, при этом в белках она встречается достаточно редко.

8.5. Ароматические аминокислоты

Радикалы гидрофобных аминокислот могут иметь и ароматическую природу (рис. 8.4). Фенилаланил – строго гидрофобная кислота. Тирозин же, отличающийся от фенилаланина наличием ОН-группы в кольце, нельзя полностью отнести к аминокислотам с гидрофобным радикалом, поскольку он обладает выраженными фенольными свойствами: образование иона, образование водородных связей, образование радикального центра. Таким образом, в тирозине у достаточно сильного гидрофобного радикала есть ярко выраженная гидрофильная группа.

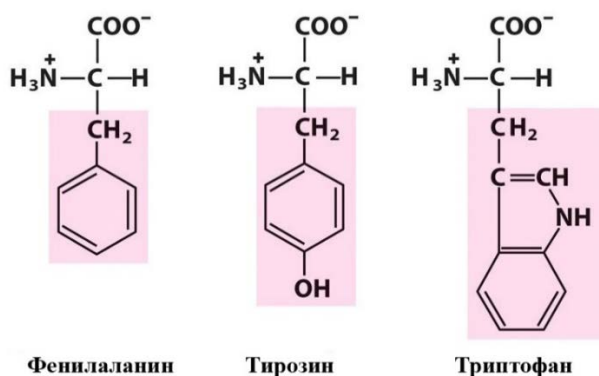


Рис. 8.4. Аминокислоты с ароматическими боковыми радикалами

У триптофана есть сопряженная структура из пяти- и шестичленного кольца, называемая индолем. Эта аминокислота, как и другие, способна к поглощению света. Ароматические кольца – единственные структуры в белках, способные к этому. Благодаря этому можно, к примеру, измеряя различия в УФ-поглощении раствора следить за количеством белков.

Естественно, разные ароматические аминокислоты поглощают свет по-разному. На рис. 8.5 показаны спектры поглощения для тирозина и триптофана. Триптофан поглощает наиболее интенсивно, но в обоих случаях поглощение не выходит за пределы ближнего ультрафиолета. Триптофана в белках мало, потому что триптофановые кольца между собой достаточно прочно агрегируют, что не всегда полезно при синтезе белка. Тирозина в белках больше, так что именно он вносит основной вклад в поглощение света белками. Спектр поглощения фенилаланина же крайне маленький, хотя и не нулевой, и сдвинут в более коротковолновую область.

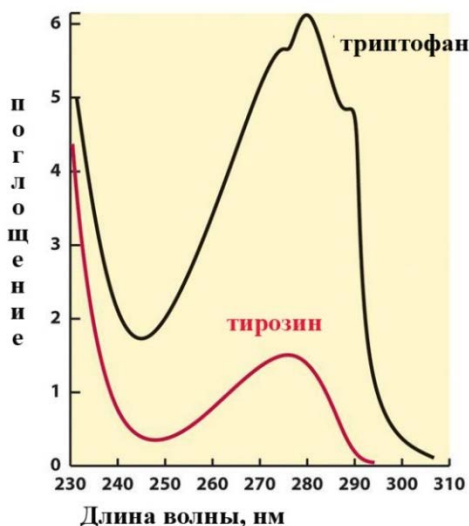


Рис. 8.5. Спектры поглощения тирозина и триптофана.

Триптофан – единственный радикал в составе белков, имеющий собственную флуоресценцию. Это позволяет использовать его как флуоресцентный зонд в составе белка. По флуоресценции триптофана можно улавливать конформационные переходы белка, в состав которого триптофан входит.

8.6. Полярные аминокислоты

У определённых аминокислот радикалы способны к поляризации. Они содержат отдельные электроотрицательные атомы, образующие полярные связи. Примеры таких аминокислот изображены на рис. 8.6.

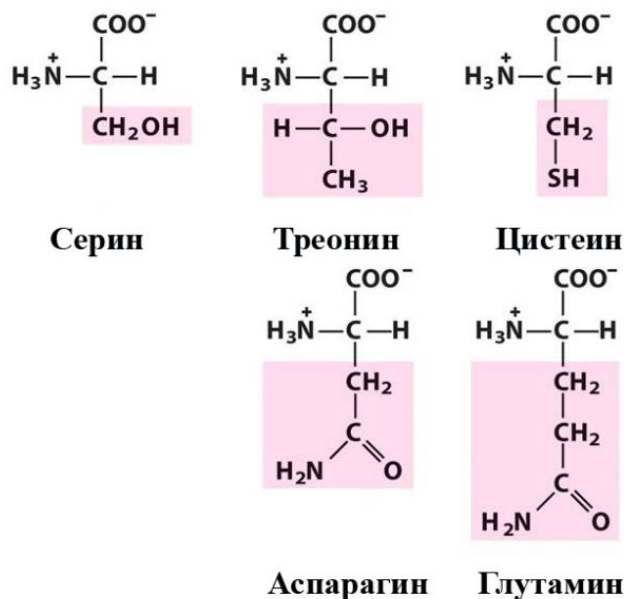


Рис. 8.6. Аминокислоты с полярными незаряженными радикалами.

Серин и треонин содержат гидроксильные группы. Гидроксил находится у β -тома углерода, а треонин дополнительно метилирован по этому атому. При этом синтез серина и треонина идёт разными путями. OH-группы могут образовывать водородные связи, а кислород в них может служить и акцептором. По ряду реакций серин, треонин и тирозин образуют единую группу оксиаминокислот. По этим гидроксилам часто к белкам присоединяется фосфатная группа.

Цистеин – гомолог серина, только вместо OH-группы к нему присоединена SH-группа. Фактически, к аминокислоте присоединён остаток сероводорода со всеми вытекающими отсюда свойствами: молекула проявляет слабые кислотные свойства, которая может в белках диссоциирует. При этом SH-группа может депротонироваться, что используется для образования серных мостиков при укладке белка. Образующий димер цистеина называется цистин.

Аспаргин и глутамин – амиды, которые могут в значительных количествах накапливаться. У растений они часто работают как транспортная форма азота. Аспаргин

был обнаружен в спарже ещё до того, как предположили, что он входит в состав белков. Глутамин отличается от аспаргина наличием дополнительной CH_2 -группы. Это не сильно влияет на его свойства. Аспаргин и глутамин очень охотно образуют двойные связи из-за того, что амидные группы дают молекуле заметную поляризацию и гидрофильность. Как правило, эти группы «торчат» наружу в белковой молекуле для связывания с растворителем.

8.7. Положительно заряженные аминокислоты

Положительно заряженными принято считать три аминокислоты: лизин, аргинин и гистидин (рис. 8.7). И лизин, и аргинин действительно являются таковыми, поскольку об несут азот в форме, которая в физиологических условиях всегда протонируется. Аргинин – одно из самых основных соединений в клетках. В аргинине присутствует гуанидиновая группа, содержащая три атома азота, присоединённые к одному углероду. На практике, двойной связи там нет, но образуется система сопряженных связей. Возникает единый заряд у всей группы.

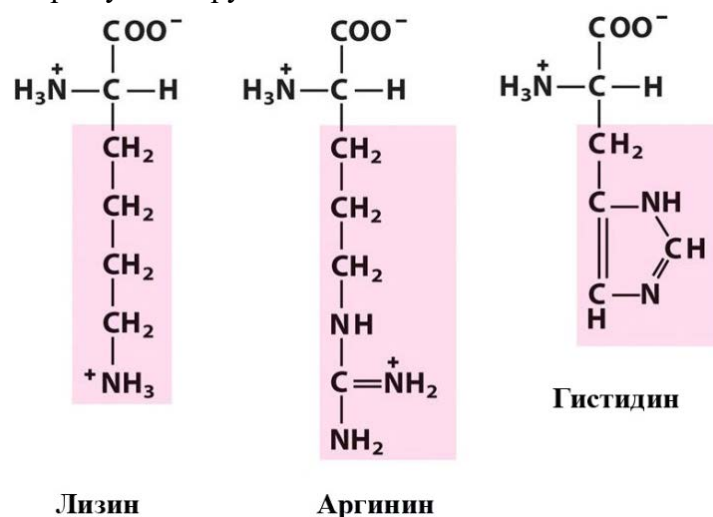


Рис. 8.7. Аминокислоты с положительно заряженными радикалами

Гистидин содержит пятичленное кольцо с двумя атомами азота, называемое имидазолом. Это кольцо также имеет сопряженную электронную систему. Заряд, возникающий при протонировании, перемещается между азотами. Гистидин является важным переносчиком протонов в некоторых реакциях синтеза.

8.8. Отрицательно заряженные аминокислоты

Аминокислот с отрицательным зарядом на радикале существует две: аспариновая кислота и глутаминовая кислота (рис. 8.8). Структурно и генетически они связаны с аспарагином и глутамином.

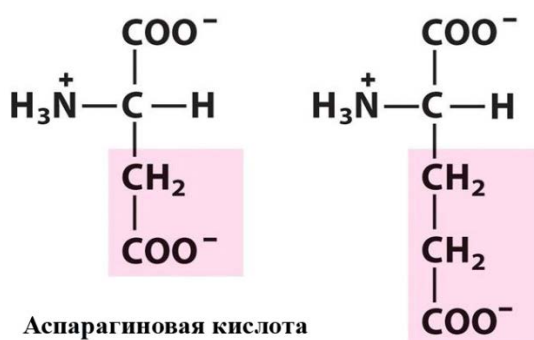


Рис. 8.8. Аминокислоты с отрицательно заряженными радикалами

Данные дополнительные карбоксильные группы являются кислотами средней силы: они сильнее уксусной кислоты, но всё равно слабее кислотной группы при α -атоме аминокислоты. В физиологических условиях эти группы, как правило, депротонированы и находятся в заряженной форме.

8.9. Степень протонирования аминокислот

Некоторые аминокислоты имеют несколько способов выражения своих свойств. Гистидин, хоть и считается положительно заряженным, заряда в формуле не имеет. В организме преобладает его депротонированная форма. Однако, в белках под воздействием соседних групп он может протонироваться. Вообще белковое окружение достаточно сильно влияет на свойства аминокислот. Поэтому, константа диссоциации для аминокислоты в чистом виде и в составе белка будет различаться. Гистидин в реакционных центрах ферментов протонирован, когда реакция не идёт, и депротонирован во время прохождения реакции.

8.10. Оксипролин

В белках также встречаются некоторые аминокислоты, которые получаются путём модификации других аминокислот. Такие модификации иногда достаточно крупномасштабные. Как правило, модификации связаны с включением дополнительных групп, которые в клетке легко переносятся, но иногда модификация идёт более сложным путём.

Оксипролин (рис. 8.9) очень часто окисляется, чтобы не мешал своими азотными группами образовывать водородные связи. В первую очередь такая модификация пролина характерна для коллагенов. В коллагене примерно четверть всех аминокислот – пролин. Большое количество таких аминокислот задаёт определённый тип укладки белка, образуя т.н. пролиновую спираль, которая возникает в том числе из-за ограничения подвижности радикала в оксипролине. Для поддержания структуры белка и взаимодействия с другими пролиновыми группами необходимо образование водородных связей.

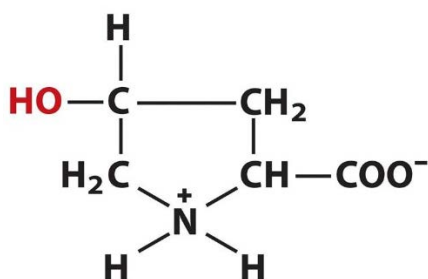


Рис. 8.9. 4-оксипролин.

Реакция окисления пролина интересна тем, что в ней для окисления используется молекулярный кислород и дополнительный субстрат (поскольку молекула кислорода двухатомная). Этим субстратом служит ион железа, который потом нужно восстановить обратно. Восстановителем железа выступает аскорбиновая кислота (витамин С). При её дефиците возникает неогидроксилированность пролина и коллагеновая сетка становится менее прочной. Возникает заболевание цинга, вызывающее ослабление соединительной ткани дёсен с последующим выпадением зубов, истирание гиалиновой ткани хрящей с последующим артрозом и неподвижностью суставов.

Цинга была распространена среди мореплавателей в период длительных путешествий. От цинги в своё время скончался Витус Беринг. Из-за боязни цинги в XIX веке в российском флоте при длительных плаваниях с собой обязательно брал квашеную капусту, которая является неплохим источником витамина С. В британском флоте каждому моряку в день выдавали половину лимона.

8.11. Оксилизин

При гидроксилировании лизина образуется оксилизин (рис. 8.10). Он также встречается в ряде белков соединительной ткани. Наличие гидроксила в углеродной цепочке значительно снижает гидрофобность молекулы. Молекула становится гидрофильной, получает способность образовывать двойную связь в центральной части молекулы и стабилизировать межбелковые взаимодействия.

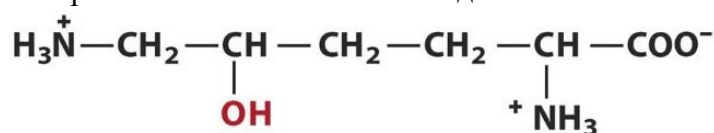


Рис. 8.10. 5-оксилизин

8.12. Метиллизин

Помимо ввода OH-групп в лизин, его также можно метилировать по аминогруппе в радикале. Таким образом получается метиллизин (рис. 8.11). У модифицированного радикала практически во всех условиях есть заряд. Такие модификации осуществляются в гистоновых белках. За счёт дополнительных положительных зарядов гистоновым молекулам проще фиксировать ДНК. Это также приводит к выключению соответствующих генов.

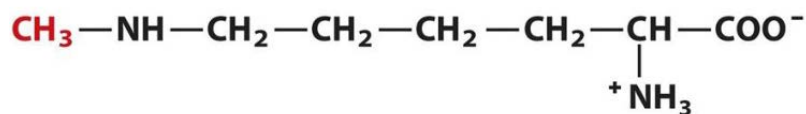


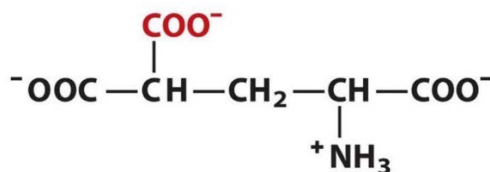
Рис. 8.11. 6-N-метиллизин

8.13. Ацетиллизин

Ацетиллизин образуется схожим образом из лизина, но в данном случае с NH_2 -группой радикала связывается остаток уксусной кислоты амидной связью. В отличие от метиллизина, он не может присоединять протоны и не содержит положительного заряда. Такие модификации в гистонах приводят к ослаблению связывания их с молекулой ДНК и активации генов в этой области.

8.14. Карбоксиглутамат

Присоединение лишней кислотной группы к глутаминовой кислоте приводит к образованию карбоксиглутамата (рис. 8.12). Рядом оказываются два отрицательных заряда, что в целом делает радикал более отрицательно заряженным. Такие модификации осуществляются в активных центрах ферментов, у которых действующим фактором в катализе являются ионы металлов. Радикал карбоксиглутамата очень успешно их связывает.

Рис. 8.12. γ -карбоксиглутамат

8.15. Селеноцистеин

Селеноцистеин включается в белки в процессе синтеза. По сути своей он является гомологом цистеина, у которого сера заменена на селен (рис. 8.13). Селен и сера обладают сходными свойствами, но у селена более выраженные металлические свойства. Поэтому, он более охотно отдаёт водород. Во всех белках, в которых он обнаружен, селеноцистеин работает в активном центре и гасит активные формы кислорода. Поэтому почти все белки, содержащие селеноцистеин, являются белками окислительного стресса, т.е. частями антиоксидантной системы клетки. Такие системы наиболее развиты у анаэробных организмов. Естественно, существует система восстановления селеноцистеина через использование других клеточных переносчиков водорода.

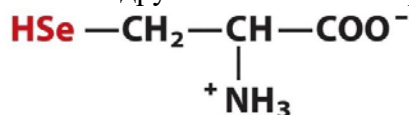


Рис. 8.13. Селеноцистеин.

Селеноцистеина в белках мало. Селен включается в аминокислоту, уже присоединённую к РНК. Его предшественником является не цистеин, а серин.

8.16. Десмозин

Десмозин представляет из себя четыре остатка лизина, связанных между собой (рис. 8.14). Формируется пиримидиновое кольцо. За счёт образования десмозина происходит связывание лизинов разных белковых молекул, в частности, коллагенов.

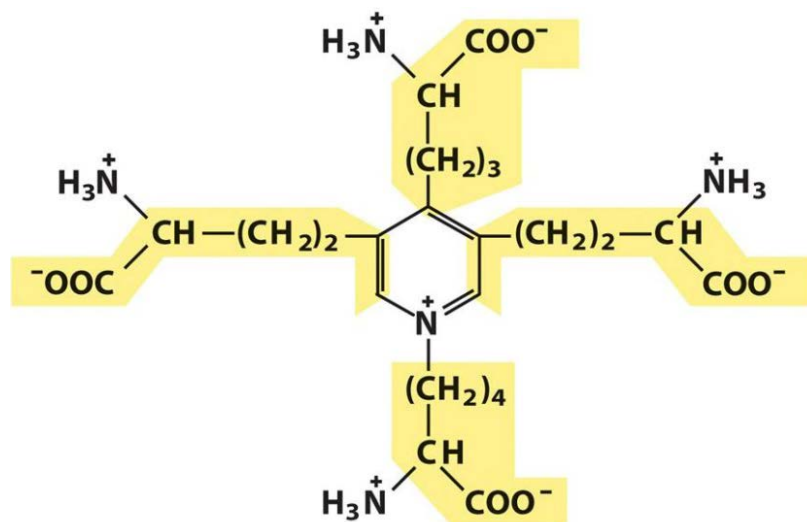


Рис. 8.14. Десмозин.

Образованные белки крайне плохо расщепляются большинством протеаз. Но при этом таких ферментов много у грибов и хищников.

8.17. Орнитин и цитруллин

Орнитин и цитруллин (рис. 8.15) не входят в состав аминокислот, но играют важную роль в общем обмене веществ. Орнитин – гомолог лизина, у которого в цепи не хватает одного углерода. Он образуется отличным образом и служит предшественником аргинина. Цитруллин же является промежуточным соединением в синтезе аргинина из орнитина. Эти аминокислоты метаболизируются в клетках в большом количестве и играют важную роль в аминокислотном обмене. У млекопитающих они служат промежуточными соединениями при синтезе мочевины, как формы вывода продуктов азотного обмена из организма.

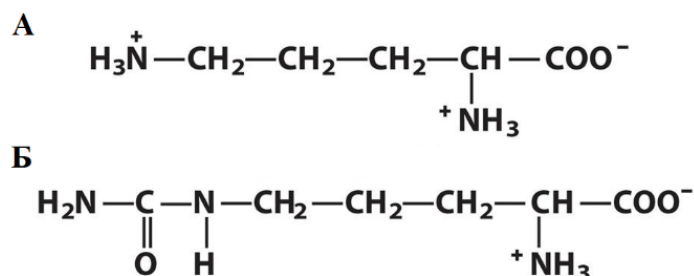
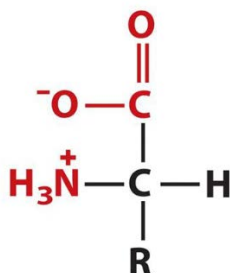


*Рис. 8.15. А – орнитин, Б – цитруллин.***8.18. Кислотно-основные свойства аминокислот. Изоэлектрическая точка.**

В растворах аминокислоты переходят в форму цвиттер-иона, когда есть депротонированный карбоксил и протонированная аминогруппа (рис. 8.16). Аминокислоты в незаряженном виде встречаются редко, обычно только в случае их кристаллизации.

*Рис. 8.16. Цвиттер-ион аминокислоты в общем виде*

Переход в форму цвиттер-иона происходит не сразу, поскольку для этого должно произойти и протонирование, и депротонирование. Они, обычно, идут последовательно. При этом в сильно кислых условиях аминокислота будет полностью протонирована, а в очень щелочных условиях – полностью депротонирована. Константа диссоциации карбоксильных групп в аминокислотах находится в пределах 2 – 2,5, что говорит о том, что аминокислоты более сильные, чем обычные карбоновые кислоты. Это происходит как раз за счёт наличия аминогруппы.

Таким образом, при увеличении количества OH^- -ионов в растворе сначала достигается точка, в которой карбоксильная группа наполовину диссоциирована, а аминогруппа полностью протонирована. Заряд аминокислоты в таком случае – +0,5. Дальнейшее защелачивание среды приводит рано или поздно к депротонированию аминогруппы. Достигается точка, в которой аминогруппа наполовину депротонирована, а кислотная группа полностью диссоциировала. Аминокислота в таком случае имеет заряд -0,5.

Между этими величинами существует точка, в которой положительный и отрицательный заряд гасят друг друга. Она называется изоэлектрической точкой аминокислоты (рис. 8.17). Для большинства аминокислот она составляет около 6. В реальности, аминокислота будет незаряженной на достаточно большом промежутке рН.

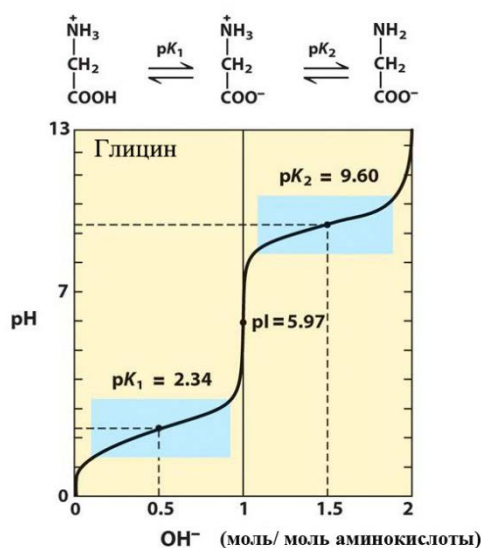


Рис. 8.17. Кривая титрования глицина

Разные аминокислоты будут иметь разные заряды при одной кислотности среды. Это используется при анализе смесей аминокислот. Подбираются условия, при которых разница между зарядами аминокислот наибольшая.

В случае, если в боковом радикале имеется ионизируемая группа, кривая титрования будет иметь три перегиба: два от кислотной и азотной группы, общей для всех аминокислот и третий от заряженной группы в радикале (рис. 8.18).

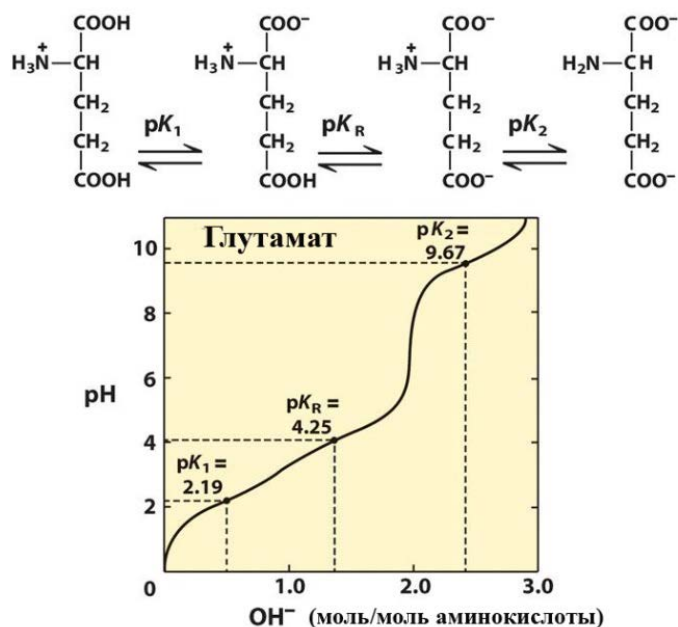


Рис. 8.18. Кривая титрования глутамата.

Аминокислоты обладают определённой буферной ёмкостью. Иными словами, в некоторых условиях добавление щелочи или кислоты не будет влиять на pH раствора. Иногда говорят, что свободные аминокислоты могут работать как буферобразующие единицы в клетках. Но это не так, поскольку данное свойство аминокислот проявляется либо в очень кислых, либо в очень щелочных условиях.

8.19. Окисление цистеина.

Цистеин в клетках легко окисляется с образованием димера под названием цистин (рис. 8.19). Этот димер может восстановлен обратно с помощью дополнительного восстановителя.

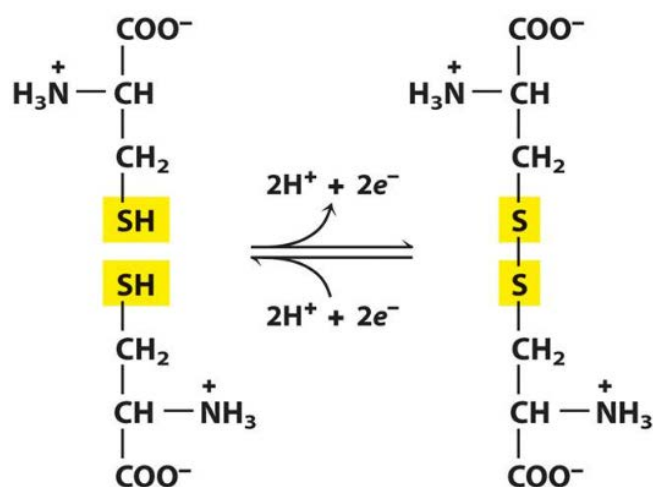


Рис. 8.19. Образование цистина из двух молекул цистеина.

Эта реакция имеет большое значение для структуры и функционирования белков. SH-группы в свободном виде часто находятся в активных центрах различных ферментов, а для нормальной работы фермента необходимо пресекать димеризацию. Также такие связи могут образовываться внутри белка для закрепления его структуры. Образуются дисульфидные мостики, которые являются надёжными ковалентными соединительными элементами для отдельных частей белка и даже отдельных белковых молекул. Поэтому в клетках обычно есть механизмы и для образования таких связей, и для их разрыва.

8.20. Оптическая изомерия аминокислот

В норме в клетках эукариотических организмов нет D-аминокислот. Но существуют группы организмов, которые используют именно D-аминокислоты. Прежде всего, это бактерии и некоторые виды грибов. Бактерии строят с их помощью крайне устойчивые к расщеплению белки, используемые как компоненты клеточной стенки и как антибиотики. Как правило, углеводные цепи в клеточной стенке бактерий сшиты между собой пептидными остатками, имеющими в составе D-аланин, и именно с него

начинается образование пептидной структуры. Антибиотики, построенные с участием D-аминокислот, с одной стороны ведут себя как полипептиды, имея сходные с обычными пептидами группы, но при этом не подвергаются воздействию обычных протеаз.

8.21. Аминокислотные гормоны.

Кроме обычных аминокислот, иногда встречаются их производные. Они образуются путём модификации существующих аминокислот либо в составе белка с последующим их отщеплением, либо в свободном виде. Так образуются некоторые гормоны. Адреналин, например, получается путём окислительных модификаций тирозина, серотонин получается из триптофана. Также из триптофана у растений синтезируются ауксины.

Для образования гормонов щитовидной железы субстратом также служит тирозин, но не свободный, а в составе специального белка тироглобулина. Тироглобулин образуется только в щитовидной железе. В составе этого белка к тирозину присоединяются атомы йода. При этом йод присоединяется с обеих сторон от гидроксильной группы тирозина. Специальный фермент может оторвать модифицированный радикал аминокислоты и присоединить его ко второму такому же. Образуется тироксин (рис. 8.20).

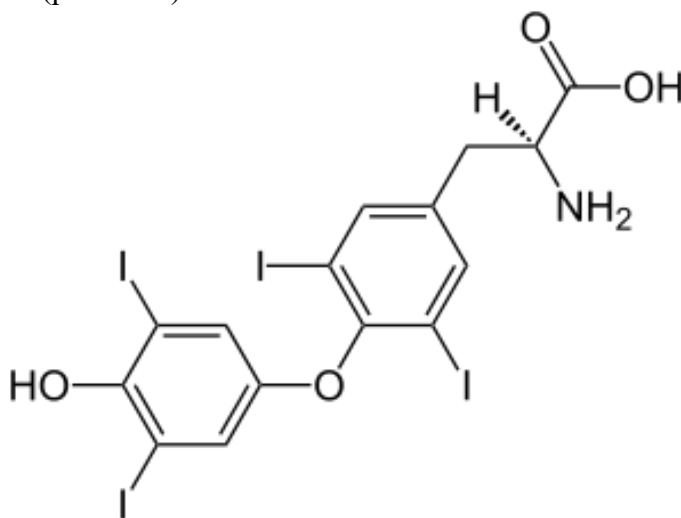


Рис. 8.20. Тироксин

Лекция 9. Полипептиды

9.1. Пептидная связь.

Аминокислоты могут соединяться между собой с образованием пептидной связи (рис. 9.1). Две аминокислоты, взаимодействуя между собой, теряют воду, а углерод кислотной группы одной молекулы и азот аминной группы другой молекулы соединяются между собой. Пептидная связь – частный случай амидной связи. Возникает сопряженная система π -электронов.

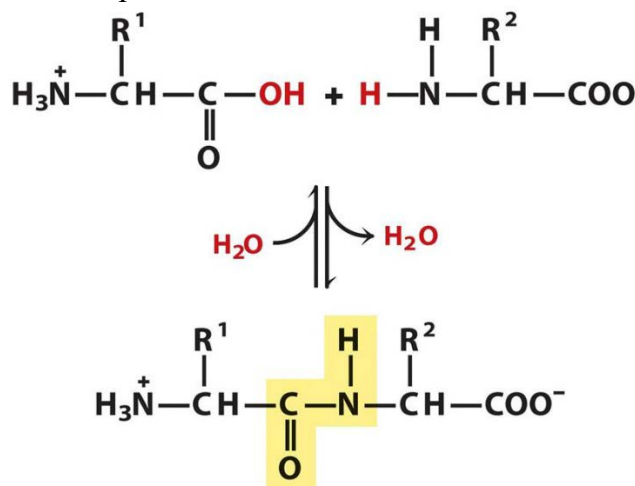


Рис. 9.1. Образование пептидной связи двумя аминокислотами.

9.2. Гидролиз пептидной связи

Данная реакция является обратимой. Внутри клетки в стандартных условиях она сдвинута в сторону гидролиза из-за большого количества воды. Поэтому внутри клеток связь образуется иным способом, а по данному пути идёт расщепление.

Пептидная связь отличается достаточно высокой прочностью. Гидролиз белка, при кажущейся простоте, очень сложная и энергозатратная процедура. Требуется преодолеть энергетический порог, связанный как раз с образованием сопряженной системы.

В лабораторных условиях для гидролиза белка используется белок в сухом виде, который затем обрабатывается шестимольной соляной кислотой. Далее смесь нужно нагреть примерно до 105°C в герметичных условиях и держать в таком состоянии около 20 часов. Этот способ позволяет провести полный гидролиз белковой молекулы, но он достаточно длительный и дорогой. Аминокислоты, используемые в качестве пищевых добавок, чаще всего получают микробиологическим путём.

При жестком гидролизе распад полипептида может сопровождаться разрушением аминокислот. В кислотном гидролизе, к примеру, полностью разрушается триптофан. Многие другие аминокислоты также окисляются в жестких условиях, поэтому гидролиз нужно вести в бескислородной среде. В лабораторных условиях этого добиваются

неоднократной продувкой смеси инертным газом. Иногда для анализа аминокислоты наоборот полностью окисляют, чтобы получить однородный продукт, а затем вводят какой-нибудь окислитель.

9.3. Ферментный гидролиз пептидной связи.

Практически всё наблюдаемое в природе разрушение белков осуществляется ферментами микроорганизмов. Таких ферментов много, потому что зачастую они специфичны к аминокислотам. В результате этого длинные полипептидные цепи постепенно расщепляются на более и более короткие промежутки, пока в дело не вступают пепсидазы, расщепляющие совсем короткие пептиды.

9.4. Вариации пептидных связей

Количество пептидных связей может быть разным. Поэтому возникают цепочки разной длины. Количество вариантов, которые могут образовываться, неограниченно. Теоретическое многообразие возможных вариантов позволяет живым организмам выбрать те, что максимально удовлетворяют конкретным задачам. Для некоторых задач длинная цепь не нужна. Короткие полиаминокислотные остатки принято называть пептидами, а длинные – белками. Граница между пептидами и белками весьма условна. Раньше деление в основном осуществлялось так: меньше 100 аминокислот – пептиды, больше 100 аминокислот – белки.

Также следует понимать разницу между словами «белок» и «полипептид». Полипептид – химическое понятие, обозначающее любую комбинацию аминокислот, связанных пептидной связью. Белок же – природное вещество, образованное в живых организмах для выполнения определённых функций. По этим функциям белки очень многообразны. Но и относительно короткие пептиды тоже разнообразны. Определённые комбинации аминокислотных групп могут привести к тому, что даже короткие полипептидные цепи могут с чем-то связываться и чем-то узнаваться.

9.5. Карнозин

Карнозин – дипептид, состоящий из гистидина и орнитина (рис. 9.2). Этот пептид в клетках встречается как сигнальная молекула или для связи определённых компонентов. Данный полипептид также может связывать активные окислители, в том числе кислородные радикалы, и является поэтому хорошим антиоксидантом. Он присутствует в заметных концентрациях в крови и тканевой жидкости, работая как защитный механизм.

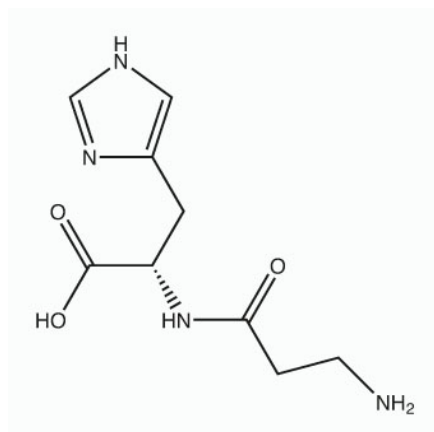


Рис. 9.2. Карнозин.

9.6. Аспартам

Аспартам – искусственно синтезируемое вещество, являющееся синтетическим заменителем сахара. Оно представляет из себя фенилаланин, этерифицированный по карбоксильной группе метильной группой и образующий пептидную связь с аспарагиновой кислотой (9.3). Аспартам примерно в 400 раз слаще сахарозы, активнее вступает в связь с соответствующими рецепторами и дольше на них пребывает.

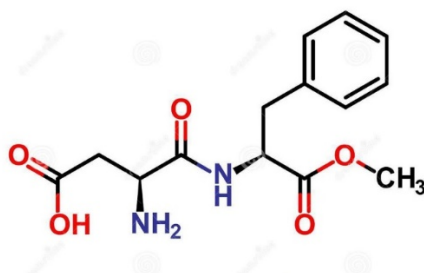


Рис. 9.3. Аспартам

Аспартам, в отличие другого сахарозаменителя, сахарина, легко подвергается разрушению в организме и не имеет проблем с усваиванием. Однако, из-за долгого нахождения на рецепторах, у людей, употребляющих аспартам в больших количествах, смещается порог чувствительности. Помимо аспартама, некоторые аминокислоты (глицин) также обладают сладким вкусом. Другие просто менее сладкие

9.7. Глутатион

Глутатион – естественный трипептид, состоящий из глутаминовой кислоты, цистеина и глицина. Глутаминовая кислота при этом образует пептидную связь не α , а γ -атомом азота (рис. 9.4). Является естественным буфером в живых системах. Также он служит для регенерации окисленных SH-групп других белков. Образующийся димер глутатиона отдаёт свои водороды на неудобную организму дисульфидную связь.

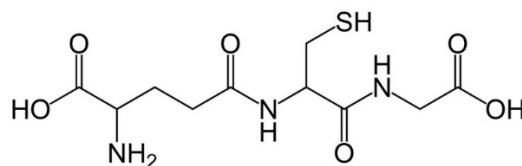


Рис. 9.4. Глутатион

9.8. Окситоцин и вазопрессин

Как правило, пептиды длиннее тех, что были рассмотрены выше. Такие длинные пептиды зачастую играют роль сигнальных веществ. Например, гормон окситоцин (рис. 9.5). Окситоцин – стимулятор сокращения гладкой мускулатуры. Вазопрессин – структурно похожий на окситоцин гормон, отличающийся от него одной аминокислотой (восьмая аминокислота у вазопрессина – аргинин, а не лейцин). Но при этом они связываются с разными рецепторами. Вазопрессин – регулятор системы кровообращения, под воздействием которого происходит сужение сосудов.

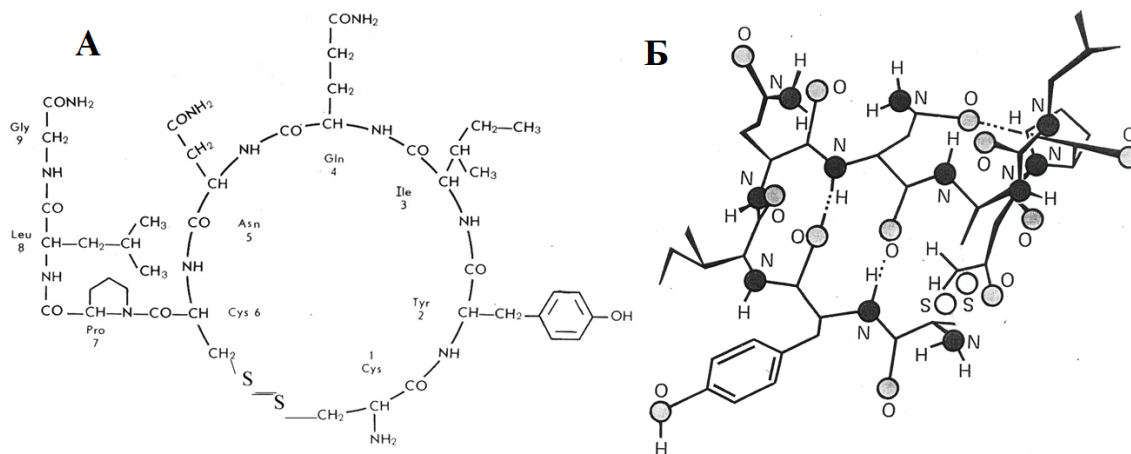


Рис. 9.5. А – структура окситоцина, Б – пространственная конфигурация окситоцина

И окситоцин, и вазопрессин достаточно компактно упакованы за счёт образования водородных связей внутри молекулы.

9.9. Грамицидин S

Грамицидин S – пептид, образуемый не на рибосомах. Это антибиотик, выделенный из культуры *Bacillus brevis*. Его использовали в основном как поверхностный антибиотик, поскольку он оказывает сильное токсическое воздействие. Молекула этого антибиотика симметрична и построена из двух одинаковых половин (рис. 9.6). Ферменты, синтезирующие грамицидин S, переносят строго определённую кислоту в строго определённое положение. Синтез начинается с фенилаланина, при этом происходит его изомеризация, и в итоге в состав готового пептида включается D-фенилаланин. Известно, что рибосомы не могут работать с D-аминокислотами.

Окончательная фаза синтеза заключается в сшивании двух отдельно синтезируемых половин.

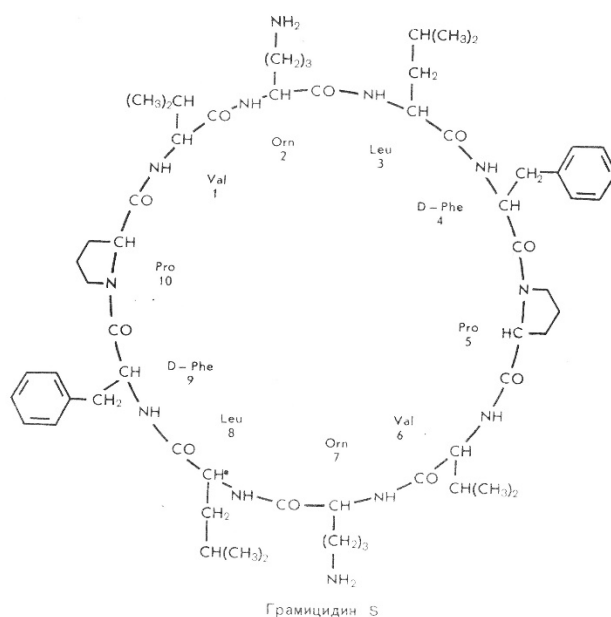


Рис. 9.6. Грамицидин S

9.10. Бацитрацин А

Бацитрацин – ещё один представитель пептидных антибиотиков. В его состав входят различные модифицированные аминокислоты. Полученная структура гидрофобна и влияет на проницаемость мембран. Также она связывает многие протеолитические ферменты. В его составе также присутствуют D-аминокислоты.

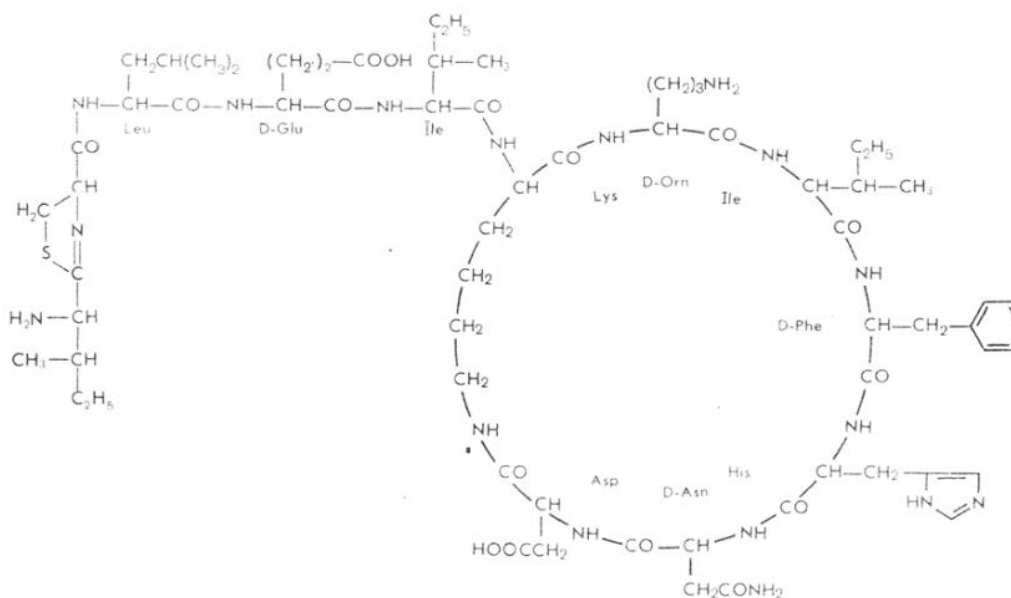


Рис. 9.7. Бацитрацин А.

9.11. Токсины бледной поганки

На рис. 9.8 представлена структурная формула одного из токсинов бледной поганки, α -аманитина. Он построен из 8 аминокислот, которые замыкаются в кольцо, а также сделаны дополнительные модификации аминокислотных остатков. Аманитины – семейство веществ, различающиеся по этим радикалам. α -аманитин – основное токсическое вещество, вырабатываемое бледной поганкой.

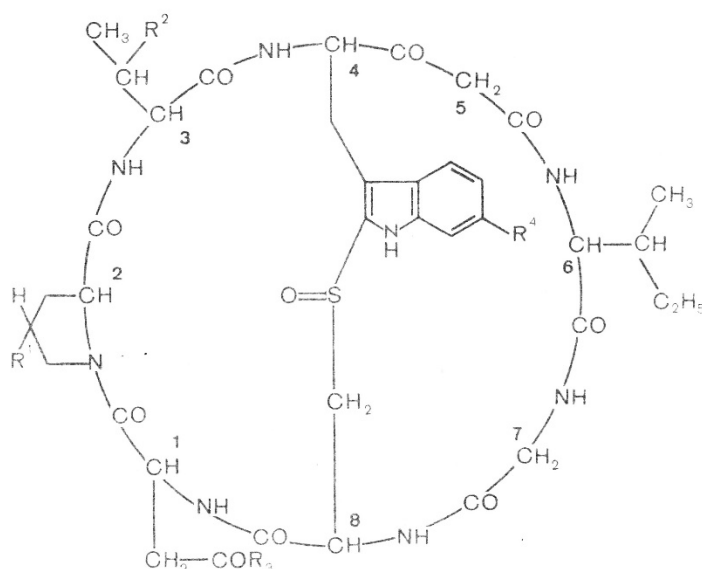


Рис. 9.8. α -аманитин, токсин бледной поганки.

Этот пептид очень прочно связывается со своей мишенью. Мишенью же является РНК-полимераза II, синтезирующая мРНК. Образующаяся связь нековалентна, но очень устойчива к денатурации. Нарушение синтеза мРНК полностью тормозит нормальную жизнедеятельность клетки и приводит к смерти. Для человека летальной дозой считается примерно 150 г сырого веса бледной поганки. А противоядия к этому токсину практически нет.

Кроме аманитинов в бледной поганке есть другая группа токсических веществ, называемая фаллоидины. Фаллоидины разрушают цитоскелет и нарушают внутриклеточный транспорт.

9.12. Структура белка. N- и C-концы

Полипептидная цепь может быть разной длины, потому что в теории при любой длине цепи всегда можно присоединить следующую аминокислоту. В клетках путём матричного синтеза для каждого белка строго определены порядок и количество включаемых аминокислот. Присоединение следующей кислоты идёт только по аминогруппе свободной аминокислоты. Иными словами, наращивание цепи идёт со стороны карбоксила.

Было принято называть конец белковой молекулы со свободной карбоксильной группой С-концом, а конец со свободной аминной группой – N-концом. Они не всегда свободны. N-конец зачастую ацетируется. Видимо, это делает белок более стабильным, поскольку такие модификации в основном обнаруживаются в белках вирусных капсидов и белках, синтезируемых клеткой наружу. К С-концам часто присоединяется метильная группа, которая также защищает белок. В ряде случаев возможны и другие концевые модификации.

9.13. Первичная структура белка

Каждая аминокислота занимает своё строго определённое место. Последовательность аминокислот в полипептидной цепи носит название первичной структуры белка. (рис. 9.9). Она задаётся синтезом на мРНК и генетически задана. Первичная структура – результат достаточно длительного отбора.

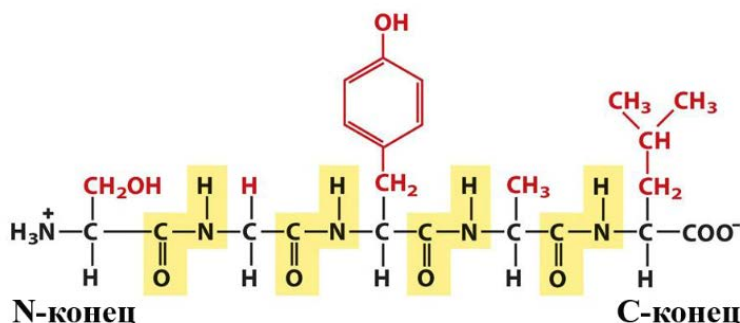


Рис. 9.9. Первичная структура фрагмента полипептида.

Важно помнить, что белок, имеющий определённую функцию и определённое название не всегда имеет одну и ту же структуру и может быть представлен разными типами молекул. Например, белок кристаллин, являющийся основным веществом хрусталика, есть у разных организмов и поэтому они могут различаться в строении. Иными словами, одни и те же белки у разных организмов будут иметь различающуюся, но при этом достаточно близкую структуру. По разнице в полипептидной последовательности одного фермента для нескольких видов можно сказать, насколько далеко эволюционно эти виды друг от друга находятся.

Однако и в рамках одного вида возможны вариации в первичной структуре одного и того же белка. Для них, как и для генов, свойственно различаться по аллелям. Такие полиморфизмы в белках достаточно распространены.

Зачастую в синтезе белка возникают ошибки, что почти неизбежно ведёт к нарушению первичной структуры белка. Получаемые варианты очень сложно исследовать, потому что они случайны и не закреплены генетически. Такие замены могут быть несущественными. Но в случае серьезных нарушений первичной структуры белок может полностью терять свою функцию. Например, при серповидной клеточной анемии в первичной цепи гемоглобина заменяется всего одна аминокислота: отрицательно заряженная глутаминовая кислота заменяется на гидрофобный валин. В

результате между отдельными молекулами гемоглобина формируются связи, образуются специфические гемоглобиновые волокна и изменяется форма эритроцитов. У некоторых животных есть мутации в белке, осуществляющем синтез кожного пигмента. Мутировавший белок сохраняет свою работоспособность только при пониженных температурах.

9.14. Вторичная структура белка

Пептидная связь имеет сопряженную π -электронную систему. Связь получается не одинарная, а существующая в резонансных формах (рис. 9.10). Она имеет плоскую структуру и не допускает свободного вращения вокруг себя. При этом на азоте и кислороде формируются положительный и отрицательный заряды, которые позволяют формировать водородные связи между такими же пептидными группировками. Для этого цепь должна изогнуться.

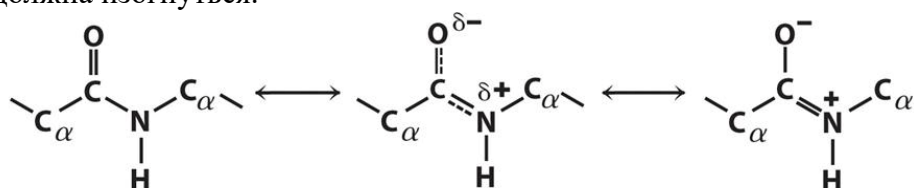


Рис. 9.10. Резонансные формы пептидной связи.

В результате таких изгибов образовались регулярные структуры, называемые вторичная структура белка. Вторичная структура белка всегда образована за счёт водородных связей пептидных группировок и имеет в составе регулярно повторяющиеся элементы. Также необходимо отметить, что сохраняется подвижность α -атома углерода, который может вращаться по оси своих связей. У этих вращений есть пространственные ограничения из-за того, что при определённых углах будет происходить наложение участков молекулы друг на друга. Для визуализации возможных углов для конкретной аминокислоты используются так называемые карты Рамачандра (рис. 9.11). На рисунке синим показаны области, в которых соотношение углов позволяет связи быть наиболее устойчивым, и чем интенсивнее окраска, тем устойчивее состояние.

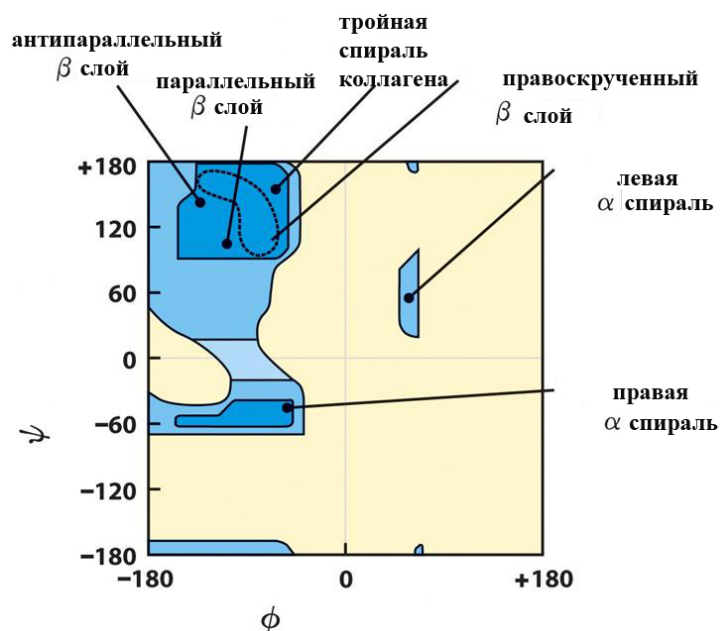


Рис. 9.11. Карта Рамачандра для различных вариантов вторичной структуры белка.

Когда возможностей и методик рентгеноструктурного анализа ещё не было, люди работали с относительно короткими полипептидами, в которых соответствующие параметры было проще измерить. Далее на основе полученных данных строились различные модели. По одной из таких моделей между каждым первым и четвёртым аминокислотным радикалом в белке должна была образовываться водородная связь и образовывалась спиральная структура (рис. 9.12). Остатки связываются попарно каждый с четвёртым следующим (1 с 4, 2 с 5, 3 с 6 и т.д.).

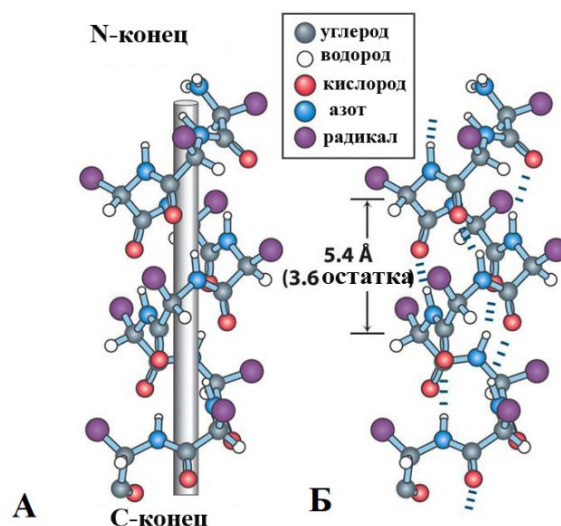


Рис. 9.12. Модель вторичной структуры белка. А – показана условная ось спирали, Б – показаны водородные связи между аминокислотными остатками.

Каждый виток такой спирали составляет примерно 3,6 остатка. Такая структура получила название α -спираль. Боковые радикалы аминокислот при этом смотрят в стороны от основной оси спирали. Это позволяет им удаляться друг от друга, не допуская нежелательных взаимодействий. Но, естественно, всех межрадикальных взаимодействий не избежать, поскольку некоторые заряженные радикалы аминокислот склонны к достаточно сильным взаимодействиям. Более того, определённые остатки дестабилизируют α -спираль. Искусственно выяснили, какие последовательности аминокислот вообще не допускают образование α -спирали, какие её лишь слегка дестабилизируют и какие легко образуют. Это используется при моделировании трёхмерной структуры белка.

Реальная структура α -спирали несколько отличается от той, что приведена на рисунке выше. Из-за того, что межатомные связи в реальности являются «палочками», вся модель будет состоять из «шариков» (рис. 9.13). Более того, в стержневой модели в центре спирали образуется отверстие, которое в реальности перекрывается веществом атомов.

В α -спирали избыточные заряды карбоксильной и амидной группы компенсируются водородными связями. Поэтому центральная часть спирали оказывается нейтральной. На концах же водородных связей нет, поэтому на С-конце будет избыточный отрицательный заряд, а на N-конце – избыточный положительный. Поэтому зачастую (но не всегда) для компенсации суммарного заряда на С-конце расположена положительно заряженная аминокислота (лизин), а на N-конце – отрицательно заряженная (глутаминовая кислота).

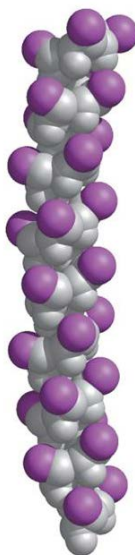


Рис. 9.13. Бесстержневая модель белковой α -спирали

Не все белки могут свернуться в α -спираль. В ряде случаев пептидные цепи расположены параллельно друг другу, при этом водородные связи образуются между

отдельными белковыми нитями. В образованной структуре цепи могут располагаться параллельно друг другу (когда С-концы всех молекул направлены в одну сторону, а N-концы направлены в противоположную), или антипараллельно. Такое связывание белковых цепей назвали β -структурой (рис. 9.14).

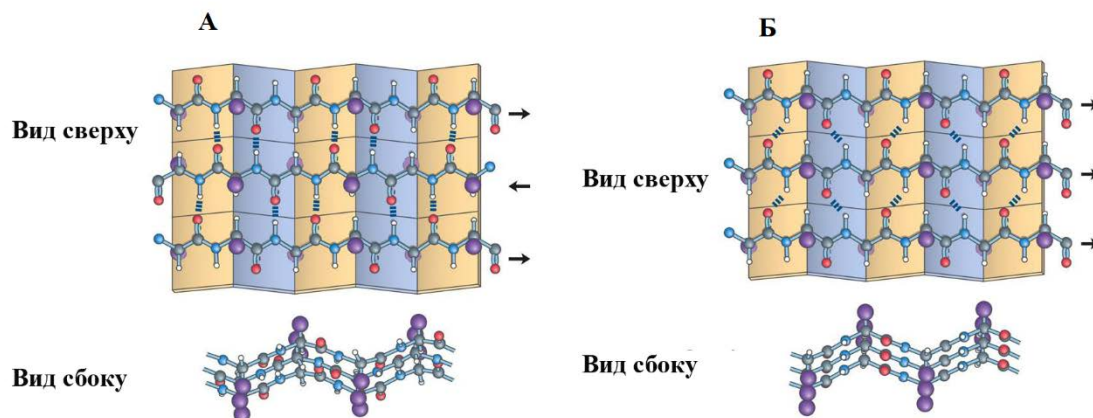


Рис. 9.14. β -структура белка. А – антипараллельная, Б – параллельная.

В случае, когда образуется параллельная β -структура угол для образования водородных связей не слишком благоприятный. Связи при этом оказываются менее прочными. Поэтому параллельная структура энергетически менее выгодна, чем антипараллельная и встречается реже. При этом во многих β -структурах сочетаются параллельные и антипараллельные участки.

Такой слой практически никогда не бывает плоским. Углы связей здесь не 180° и поэтому возникает некая пропеллерность слоя: одни участки поднимаются или опускаются относительно других. Образуется так называемый скрученный β -лист (рис. 9.15). Этот факт был предсказан ещё на стадии теоретических исследований структуры белков.

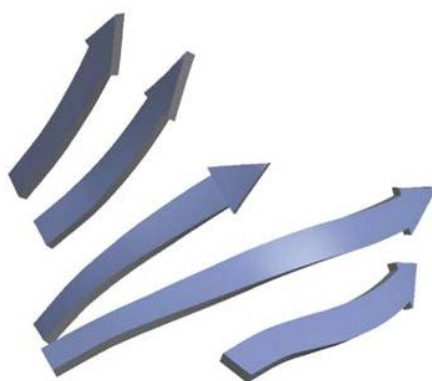


Рис. 9.15. Варианты скрученных β -листов.

При большом количестве молекул в β -структурах образуемая плоскость может свернуться в цилиндр. Такая структура получила название **β -баррель** (рис. 9.16).



Рис. 9.16. β -баррель.

В любом β -слое боковые радикалы направлены перпендикулярно плоскости слоя с чередованием: каждый следующий радикал смотрит в противоположную сторону. Такое расположение позволяет несколько «проредить» радикалы, которые мешали бы друг другу, если бы находились в том же порядке в α -спирали.

β -баррель внутри заполнен боковыми радикалами. Эти радикалы могут образовывать определённые цепочки (например, с определёнными зарядами). Такие структуры могут использоваться организмами как мембранные каналы для транспорта веществ. Внутренние радикалы могут иметь определённый заряд, а внешние радикалы гидрофобные, что позволяет им встраиваться в мембрану. Иногда в центрах β -баррелей находятся активные центры ферментов.

Для образования β -слоя цепочки необходимо изгибать. Для этого существует структурный элемент, называемый β -поворот. Грубо говоря, β -поворот представляет из себя один разомкнутый виток α -спирали: аминокислота условной первой кислоты образует водородную связь с условной четвёртой аминокислотой. За счёт такого структурного элемента цепочка в β -слое поворачивается и образуются антипараллельные цепи. Есть два типа таких поворотов. Основная разница между ними в угле поворота и ориентации радикалов (рис. 9.17). При II типе часто третьей кислотой в структуре является глицин в цис-конформации. Принципиально при этом типы поворота не различаются.

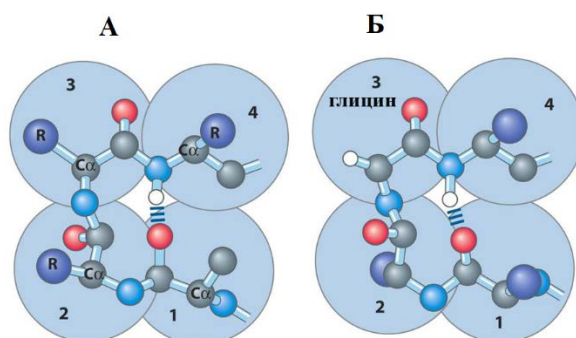


Рис. 9.17. β -поворот: А – тип I, Б – тип II.

Зачастую β -поворот нельзя наблюдать, потому что его нет. Между двумя нитями β -слоя может быть достаточно большое расстояние. Вообще могут образовываться различные комбинации из α - и β -структур в пределах одного белка. Могут встречаться и иные структуры, образование которых зачастую связано с взаимодействием аминокислотных радикалов.

Также, помимо α -спиралей могут быть другие спирали, поскольку спиралеобразующие водородные связи могут образовываться не только между 1 и 4 остатком, но и между 1 и 3 остатком. Такая структура менее устойчива, но всё же встречается на участках различных белков.

Особым вариантом белковой структуры являются пролиновые спирали, наблюдаемые в коллагенах. угол в пептидной группировке задан более жёстко за счёт того, что аминокетон входит в состав кольцевой структуры.

Лекция 10. Структура белков

10.1. Третичная структура белка

В структурных моделях, приведённых в предыдущей лекции, не показаны боковые радикалы аминокислот. Из-за их многообразия аминокислот и их свойств возникают различные взаимодействия и свойства для каждого белка.

Взаимодействия боковых радикалов могут осуществляться на уровне уже сложившихся вторичных структур. На рис. 10.1 показаны примеры таких межструктурных взаимодействий без указания задействованных радикалов. Различные варианты таких упаковок остаются стабильными, потому что в местах контакта структур взаимодействуют гидрофобные радикалы аминокислот. Иногда закрепление двух структур происходит благодаря наличию у них противоположно заряженных радикалов.

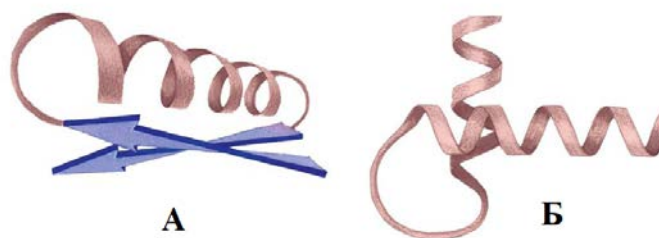


Рис. 10.1. А – β - α -петля, Б – α - α -угол.

В результате взаимодействия вторичных структур белка образуются компактные структуры, называемые глобулами. Из-за особенностей взаимодействия вторичных структур в центре глобул обычно образуется гидрофобный участок. Получается нечто похожее на липидные мицеллы, но собранное из одной молекулы и более устойчивое.

Возникает ещё ряд аминокислотных взаимодействий, которые приводят к фиксации отдельных участков полипептидной цепи. Пример таких взаимодействий – электростатические взаимодействия между радикалами (притягивание разнозаряженных и отталкивание однозаряженных участков).

Также в формировании третичной структуры участвует большое количество водородных связей, которые способны образовывать полярные незаряженные радикалы. Таких групп много, поэтому в белках средних размеров как правило образуется несколько сотен водородных связей. Но не все они имеют одинаковое значение для структуры белка. Вклад связей, находящихся на периферии белка, меньше, поскольку наблюдается конкуренция за образование связи с молекулами воды.

Белковая глобула не может настолько идеально сложиться, чтобы спрятать внутрь все заряженные радикалы. Некоторые из них оказываются снаружи молекулы. При этом заряженные и полярные группы могут оказаться окруженными неполярными радикалами, что нивелирует возможную конкуренцию. Гидрофобное окружение очень сильно стабилизирует любую и водородную, и электростатическую связь.

Зачастую молекула белка складывается в достаточно компактную структуру с относительно малой асимметрией по осям. Когда их начали изучать, выяснилось, что в растворе они ведут себя почти так же, как сферические частицы. Однако в дальнейшем выяснилось, что, как правило, это не совсем так и в реальности физических частиц не наблюдается.

Определённая часть неполярных радикалов также оказывается на поверхности. Поэтому на поверхности одной глобулы наблюдаются различные варианты взаимодействия с растворителем. Формирование водородных связей полярных радикалов с водой приводит к образованию объёмного слоя гидратной оболочки.

Неполярные радикалы также вынуждены взаимодействовать с водой. В этом случае вода образует неустойчивый почти жидкокристаллический слой. В некоторых условиях, когда, к примеру, есть гидрофобные компоненты, белок может взаимодействовать своими гидрофобными частями с этими компонентами. Для мембранных белков такие взаимодействия особенно характерны. В таких белках средняя часть, выступающая на поверхности, образует гидрофобный пояс, который встраивается в липидный бислой мембраны. Такие белки не могут нормально находиться в растворе, потому по своим свойствам они несколько выпадают из общей массы белков. Также гидрофобные области могут приводить к тому, что отдельные белковые молекулы могут слипаться между собой.

На рис. 10.2 показаны третичные структуры нескольких различных белков. Это маленькие белки с длиной цепи чуть больше 100 остатков.

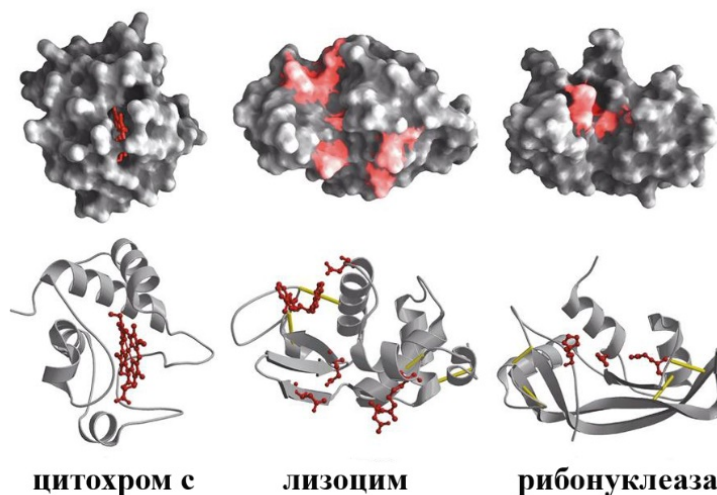


Рис. 10.2. Третичные структуры различных белков. Верхний ряд – распределение электронных плотностей в молекуле, нижний ряд – вторичные структуры, входящие в состав глобулы.

На поддержание третичной структуры белка также оказывает влияние наличие дисульфидных мостиков, образованных димерами цистеина. Два отдалённых участка цепи, содержащие цистеин, могут ковалентно связываться. При этом возможные связывания цистеина не всегда полезны для функционирования белка. Поэтому в клетке существует ряд ферментов, которые способны разрушать связь между цистеинами, давая возможность перестроиться в более энергетически выгодное положение. Этот фермент использует глутатион, который, за счёт SH-группы восстанавливает связь между цистеинами, а потом образует её снова. S-S-мостики служат скорее для жесткой фиксации структуры белка, чем для её создания.

В белках, секретируемых во внеклеточное пространство, цистеиновых мостиков больше, чем в белках, синтезируемых клеткой для себя. В более жёстких внеклеточных условиях S-S-мостики нужны для закрепления структуры гораздо больше, чем в условиях внутри клетки. Часто за счёт S-S-мостиков могут объединяться между собой разные полипептидные цепи. Первоначально считалось, что именно за их счет возникает устойчивая функциональная структура. Так, к примеру, считалось для инсулина (рис. 10.3). Однако впоследствии выяснилось, что на первый взгляд дипептидный инсулин образуется из одной цепи, которая сложилась определённым образом за счёт дисульфидных связей, а затем из этой цепи на вырезали лишние участки. Похожая ситуация наблюдается при синтезе хемотрипсина.

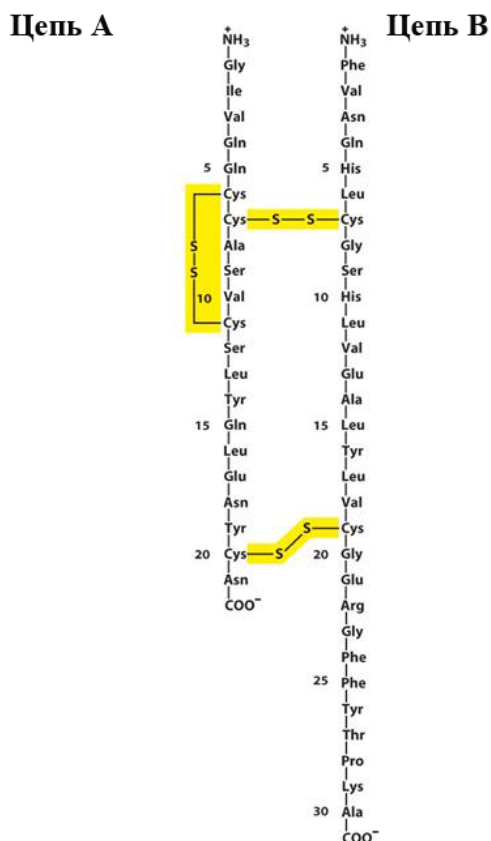


Рис. 10.3. Инсулин

10.2. Базы данных структурных белков. Рентгеноструктурный анализ

Существуют международные базы данных, в которых содержатся известные на данный момент структуры белков. В них, как правило, заложена возможность вывести любую из доступных форм модели. В настоящее время расшифровано достаточно много белков, поскольку сейчас появились более совершенные подходы к методам рентгеноструктурного анализа. Современные методы позволили избежать необходимости наличия некой точки отсчёта в анализе. Раньше в качестве такой точки в исследуемый раствор вносили тяжелые атомы. Сейчас рентгеноструктурный анализ позволяет разрешать достаточно крупные частицы (рибосомы).

10.3. Глобула

Часто встречается ситуация, когда внутри глобулы может находиться несколько гидрофобных областей. В общем случае сейчас глобула в физическом приближении рассматривается не как шар, а как эллипсоид. И соотношение длины соответствующих осей может меняться в достаточно больших пределах. Но у большинства белков это соотношение находится между 1:1 и 1:5.

Именно в моменты, когда белок оказывается сильно вытянут, происходит распад гидрофобной области. Образуются как бы независимые глобулы в составе одной большой глобулы. Обычно, такие структуры называют доменами. Домен – независимая структурная единица в составе глобулы, которая может в пределах глобулы целиком менять своё положение. Такая доменная структура зачастую компактна и очень устойчива. Отдельные домены остаются соединёнными. Иногда структура белков меняется за счёт перемещения доменов друг относительно друга.

Есть и отдельные случаи, когда белковая молекула сворачивается с образованием нескольких глобул. При этом каждая глобула может выполнять свои определённые функции, вплоть до различных ферментативных активностей. Такие глобулы иногда оказываются похожими на другие белки. Это характерно для белков животных, на которых происходит сборка сложных структур.

10.4. Четвертичная структура белка. Глобулярные белки

В некоторых случаях белки построены из нескольких полипептидных цепей, каждая из которых свёрнута в свою собственную глобулу. Каждая отдельная глобула проявляет свою активность.

Первый такой белок, который был расшифрован – гемоглобин (рис. 10.4). Разные субъединицы гемоглобина на рисунке показаны разным цветом, но все они сложены одинаковым образом: 7 α -спиральных структур, в каждую из которых вложен гем, каждая связана с двумя соседними. Взаимодействие между частицами осуществляется за счёт наличия гидрофобных поверхностей и заряженных групп.

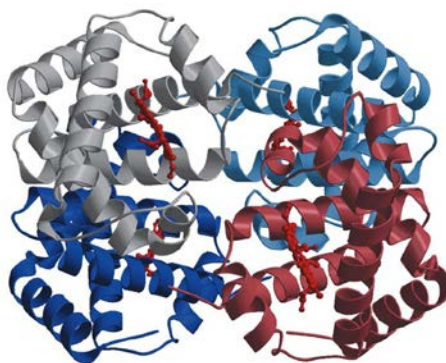


Рис. 10.4. Модель гемоглобина.

В структуру сложного белка могут входить как разные типы субъединиц, так и одинаковые. Было принято обозначать отдельные субъединицы греческой буквой и добавлять подстрочный индекс для указания их количества. Четвертичная структура гемоглобина будет выражаться как $\alpha_2\beta_2$.

Ещё один пример – фермент синтеза пиримидиновых нуклеотидов у бактерий (рис. 10.5). Он состоит из двух разных типов глобул, каждый из которых представлен в

количестве 6 штук. Образуется два шестигранника, наложенных друг на друга. Такой белок будет иметь обозначение $\alpha 6\beta 6$.

Как правило, такие сложные упаковки белков имеют регулярный характер, то есть образуют геометрически правильные структуры. Но частицы могут располагаться абсолютно несимметрично, как в случае с ДНК-зависимой-РНК-полимеразой бактерий. На рис. 10.5 показана коровая часть этого фермента, состоящая из 4-х единиц. Две субъединицы этого белка обозначены как β и β' , потому что их долго не могли разделить для более точного анализа и считали одинаковыми. Оказалось, что эти субъединицы не только различны по составу, но и выполняют различные функции.

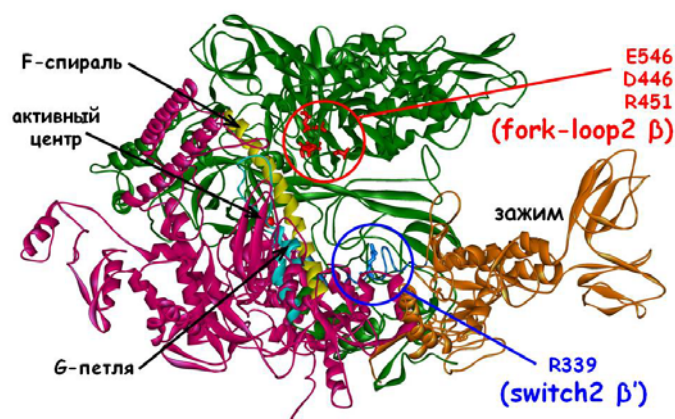


Рис. 10.5. Ленточная модель кор-фермента ДНК-зависимой-РНК-полимеразы бактерий.

Также этот белок достаточно сильно вытянутый, несмотря на глобулярную природу. Отношение длины осей для него равно примерно 1:7. Эта молекула достаточно крупная, при этом она едина функционально. Таки сложные молекулы часто образуются для выполнения сложных функций.

Существует также понятие **белковый комплекс**. Чётких границ между этим понятием и понятием глобулы нет. Здесь работает, скорее, исторический аспект: некоторые белковые структуры просто принято называть белковыми комплексами или глобулами.

На рис. 10.6 приведены некоторые глобулярные белки, различающиеся по размерам и форме четвертичной структуры. В качестве сравнения размеров, на рисунке также представлены соответственные размеры липидного бислоя, ДНК и тРНК. В центре некоторых белков может находиться отверстие.

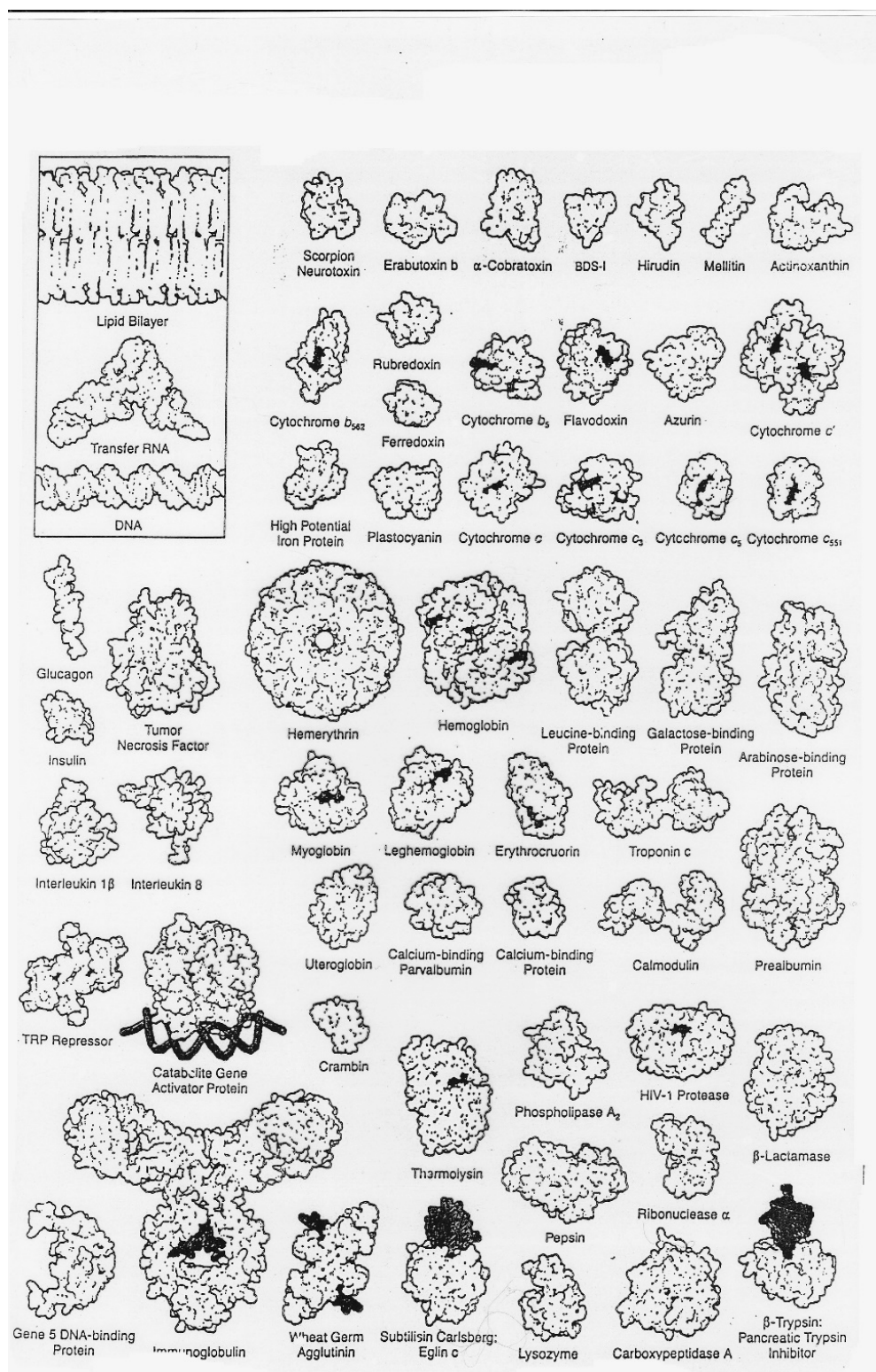


Рис. 10.6. Разнообразие белков

10.5. Фибриллярные белки

Существует группа белков, которые для выполнения своих функций образуют вытянутые структуры. Они могут формироваться за счёт разных типов взаимодействий. Такие белки называют **фибрилярными**. В некоторых случаях наблюдается вытянутость самой полипептидной цепи, которая синтезирована таким образом, чтобы слабо подвергаться компактизации. Формируются длинные белковые тяжи, которые взаимодействуют между собой в дальнейшем. Пример такого белка – кератин. Кератин – основа верхнего слоя кожи, волос, ногтей.

Вообще подобные структуры образуются примерно одним и тем же образом. Разница возникает уже в том, в каких клетках происходит синтез и накопление. Синтез начинается с образования α -спирали. Она жёсткая, но слегка изогнутая, что позволяет двум таким спиральям обернуться друг вокруг друга. Также между отдельными спиральями образуются S-S-мостики. На концах таких спиралей образуются небольшие глобулярные домены, которые способны достаточно прочно друг с другом слипаться. Двойная спираль получает дополнительную жесткость. За счёт взаимодействия глобулярных доменов разных молекул друг с другом образуются протофиламенты. Параллельно ей формируется вторая такая же, но точки соединения у них сдвинуты относительно друг друга. Протофиламенты попарно объединяются и образуют протофибриллы (рис. 10.7). Затем уже протофибриллы определённым образом располагаются в клетке. Так, на рис. 10.8 приведено расположение таких белковых структур в волосе. В данном случае протофибриллы заполняют всё пространство клетки, ориентированы в одном направлении и дают волосу большую прочность.

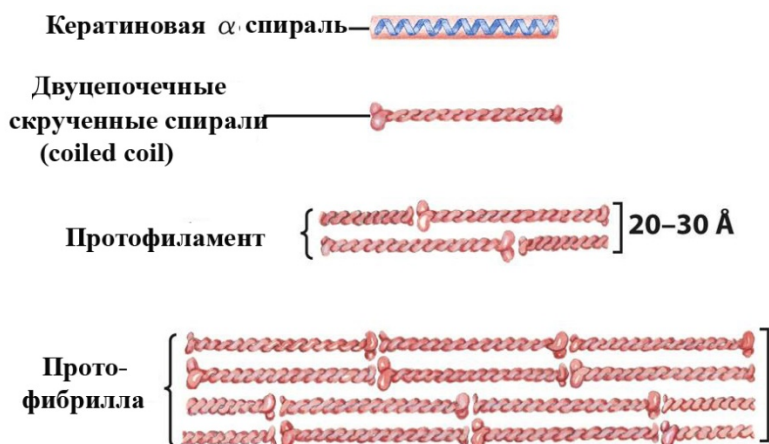


Рис. 10.7. Образование протофибриллы кератина.

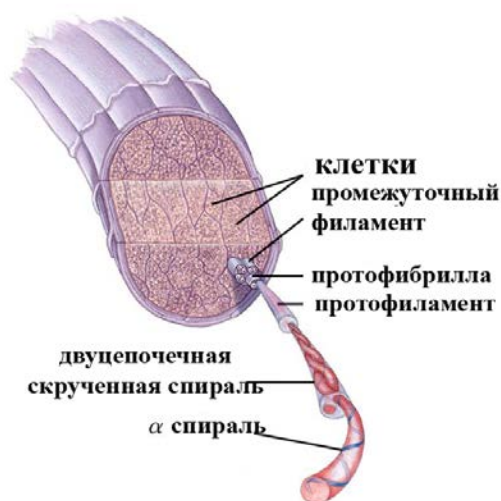


Рис. 10. 8. Поперечный срез волоса

В фибриллярных белках зачастую достаточно много цистеина. За счёт этого образуются S-S-мостики между α -спиралями. Эти мостики мешают молекулам двигаться в продольном направлении. При восстановлении этих мостиков появляется возможность сделать молекулы более подвижными и даже немного их переместить друг относительно друга. Таким образом можно как распрямить волокна, так и наоборот, завить. На этом основан принцип химической завивки волос (рис. 10.9).

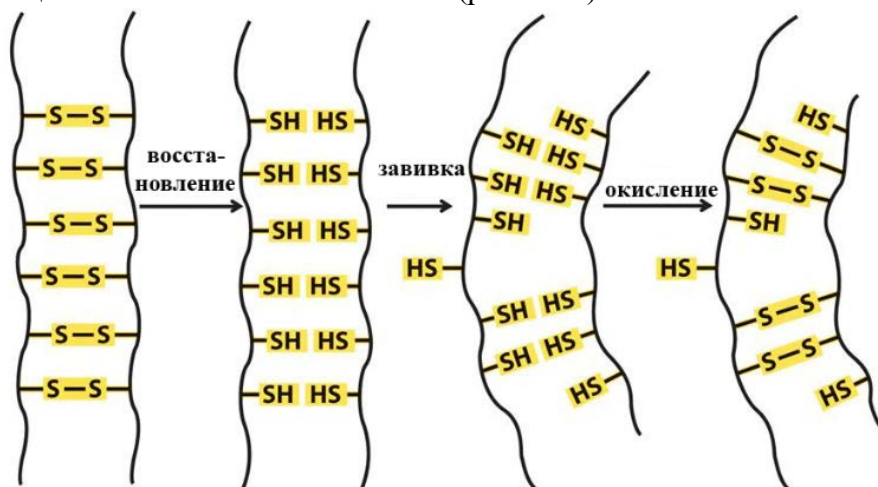


Рис. 10.9. Принцип работы химической завивки волос

Другим широко распространённым в живых тканях фибриллярным белком является коллаген. В разных типах тканей продуцируются разные типы коллагенов в разных соотношениях. Коллаген – основа костей, хрящей, связок. Из коллагена состоит так называемый костный клей, который раньше использовали в качестве мебельного клея. Также некрупные фрагменты коллагена служат основой для желатина.

Отдельные волокна коллагена состоят из трёх полипептидных цепей, закрученных друг относительно друга (рис. 10.10). Эти цепи отдельно сшиваются между собой, образуя длинные структуры большой толщины. Тройная спираль обеспечивает молекуле прочность, а сшивки позволяют агрегировать волокна между собой.

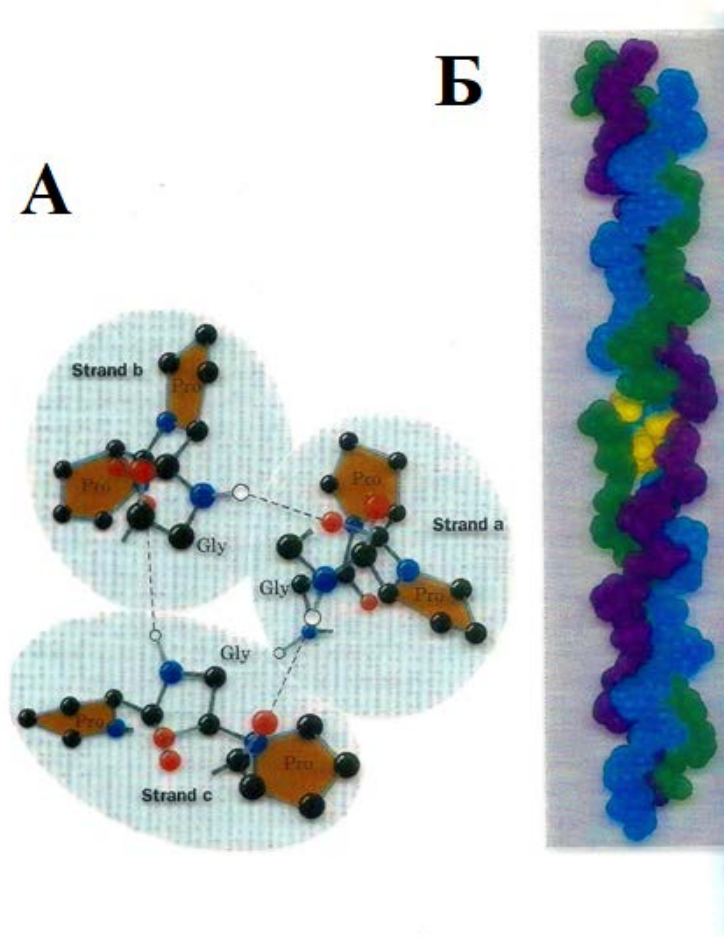


Рис. 10.10. Модель коллагенового волокна. А – поперечный разрез, Б – продольный общий вид (различные цепи показаны разными цветами).

Параметры спирали коллагена отличаются от обычной α -спирали. Она образуется не за счёт формирования водородных связей вдоль цепи, а за счёт наличия большого количества пролина в составе (примерно каждый третий остаток в коллагене – пролин). За счёт того, что пролин – иминокислота, он формирует достаточно жёсткую структуру, не подверженную вращению. Также в коллагене много глицина, потому как его маленький радикал не мешает пролину. Нити коллагена удерживаются между собой не только водородными связями, образованными серином. Коллаген подвергается посттрансляционной модификации. Примерно каждый четвёртый пролин гидроксилируется с образованием оксипролина. Также могут модифицироваться и

другие аминокислотные остатки. За счёт таких модификаций между отдельными цепями образовывается больше водородных связей.

К фибриллярным белкам также относят белки с взаимодействующими между собой β -слоями. Эти белки исходно называли **фиброины**. Сам же фиброин – основной компонент шёлка (рис. 10.11). Структура изначально растворимая, но по мере удаления растворителя, твердеет.

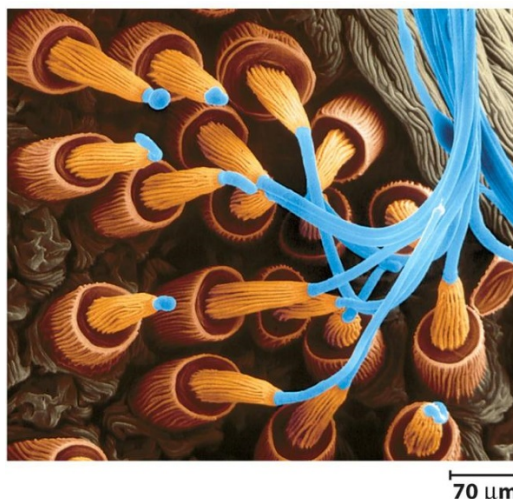


Рис. 10.11. Шёлковая железа тутового шелкопряда.

В данном случае β -структуры взаимодействуют между собой своими боковыми радикалами. Слои слипаются между собой за счёт гидрофобных взаимодействий аланина и глицина (рис. 10.12). Формируются длинные и прочные волокна.

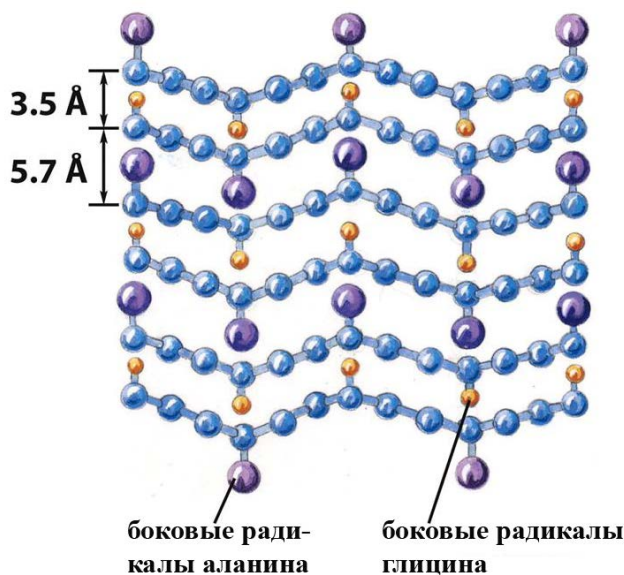


Рис. 10.12. Структура фиброина.

Похожим образом у пауков образуется паутина. Белки, входящие в её состав, получили название спайдерины. Они – самые прочные из природных материалов. Спайдерины используются как подложки для размножения культур клеток.

10.6. Фолдинг белка. Прионы

Слипание β -слоёв может происходить при взаимодействии белков, когда у одного белка есть жёсткая структура, а другой белок способен изменить свою конформацию, чтобы прошло слипание. В некоторых случаях такие перестройки могут быть опасны. Белки, которые фактически служат матрицами для перестройки других белков, назвали **прионы**.

В случае заболевания вертячка овец инфекционным агентом является неправильно свёрнутый белок, который в дальнейшем влияет на то, как сворачиваются другие подобные белки. Образуются рыхлые структуры, получившие название **амилоиды**.

Природа коровьего бешенства также связана с подобными белками. Они, попадая в организм, связываются с другими белками и вызывают их неправильное сворачивание. Также выяснилось, что такие неправильно свёрнутые белки очень устойчивы к протеолизу и могут вызывать заражение даже пройдя через пищеварительный тракт. Аналогичные процессы происходят при болезни Альцгеймера и болезни Паркинсона. Определённые белки нервной системы начинают неправильно сворачиваться, что стимулирует неправильное сворачивание других белков по матрице первого и так далее.

Лекция 11. Функции белков

11.1. Гликопротеиды и способы их образования

Для выполнения своих функций белки часто образуют комплексы с другими молекулами. Среди таковых наиболее часто встречается углеводный компонент. Комплексы белка и углевода называют **гликопротеидами**.

Есть два способа образования гликопротеидов:

О-гликозидная связь (огликопротеиды) – углеводный остаток образует связь между своим гликозильным гидроксильным с гидроксильным серина в белковой цепи (рис.1). Механизм специфический: связь формируется между остатком серина, находящимся в определенной аминокислотной последовательности, к которому присоединяется первый остаток, который почти всегда N-ацетилгалактозамин. Его присоединение – это инициация: все остальные углеводородные остатки будут присоединяться к нему по очереди по одному, а какие именно – зависит от ферментов синтеза в клетке.

Например, к N-ацетилгалактозамину присоединяется остаток сиаловой кислоты (рис. 1). Такой короткий углеводный компонент не должен сильно влиять на свойства белка. Но сама по себе сиаловая кислота – большая молекула с набором определенных узнаваемых групп, и часто такая сиаловая группировка на конце даже небольшого углеводного компонента, присоединённого к белку, создает дополнительные эпитопы для, например, узнавания антителами, т.е. это иммуногенные группировки.

Более сложный пример: к N-ацетилгалактозамину с одной стороны присоединяется галактоза и далее к ней цепь из чередующихся остатков глюкозамина и галактозы, а с другой – глюкозамин, к нему галактоза и на конце еще некоторые группировки. Пример демонстрирует возможность разветвления цепей, но каждый моносахаридный остаток присоединяется самостоятельно определенным ферментом. Соответственно, ферментный набор клетки определяет, что именно будет присоединяться.

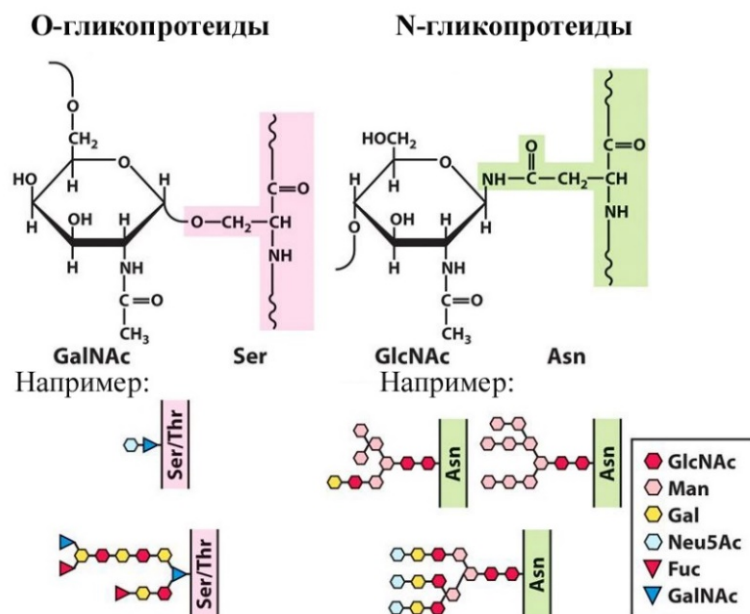


Рис. 11.1 Способы образования гликопротеидов

N-гликозилирование - углеводный компонент присоединяется N-гликозидной связью к амидной группе аспарагина, находящемуся в определённой последовательности (рис. 11.1). Процесс сопряжен с ЭПР (с транспортом белка в процессе синтеза в ЭПР), а также может быть сопряжен с выводом белка из клетки. Такого рода гликозилирование чаще всего встречается в белках внешней мембраны или в секретируемых белках, реже – в других мембранных компонентах.

Скорее всего, углеводная часть играет важную роль в стабилизации белков, взаимодействующих с окружающей средой. Если один и тот же белок можно получить негликозилированным, то его устойчивость к повышенным температурам в первом случае сильно ниже.

Перенос группировки – это первый этап, далее группировка подвергается модификациям (отщепление, присоединение). По окончании процесса присоединяется некий «стандартный набор»: остатки N-ацетилглюкозамина, галактозы и сиаловые кислоты.

11.2. Функции гликопротеидов

Различные варианты гликозилирования играют функцию стабилизации белков, а также создают на поверхности клеток узнаваемые эпитопы – уникальные группы, которые могут взаимодействовать с другими белками, узнаваться ими. Таким образом, они играют значительную роль в узнавании клеток друг друга у животных. Особая роль в этом принадлежит олигосахаридам, которые содержат сиаловые кислоты на своих концах.

11.3. Болезни, связанные с нарушением гликозилирования

Для образования определенных видов таких углеводных остатков нужно удалить некоторую часть из первичного комплекса. Для этого требуются определенные ферменты. При потере таковых процесс нарушается, и с этим связан ряд наследственных заболеваний. Зачастую они приводят к неправильному взаимодействию клеток между собой и/или разрушению тканей, т.е. мутация может быть летальной.

11.4. Протеогликаны

Не всегда маленькие углеводные группы/моносахаридные остатки присоединяются к большому белку. Нередко наоборот – углеводный остаток является БОЛЬШИМ компонентом. Так, например, происходит при образовании определенных комплексов в хрящевой и соединительной тканях, в основе которых лежит гиалуроновая кислота, к которой присоединяются определенные белки и полисахариды. Здесь полисахариды представлены большими молекулами, и в таком случае говорят уже не о гликопротеидах, а о **протеогликах**.

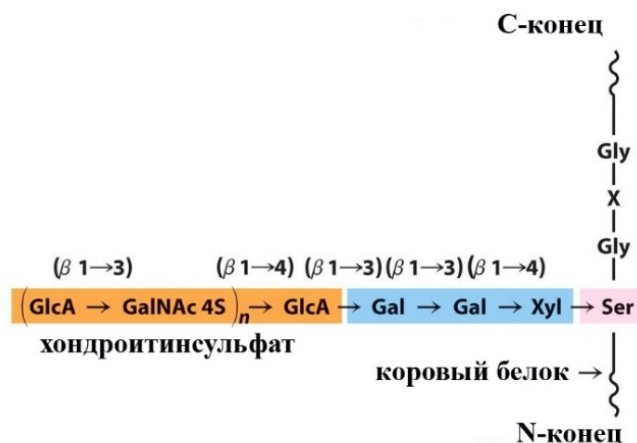


Рис. 11.2. Химическая структура протеогликана хрящевой ткани

Например, пищевой протеогликан (рис. 11.2). Есть коровый белок с определенной последовательностью с серином. Серин служит акцептором для присоединения ксилоты, а к ней – двух галактозных остатков, далее пришивается хондроитинсульфат. Такая цепочка несет много отрицательных зарядов, она вытянутая и образует «вырост» белковой молекулы. Белок сам по себе тоже имеет вытянутую форму с множественными участками присоединения. В итоге возникает структура «ершика» (рис. 11.3). Сам коровый белок связан с молекулой гиалуроновой кислоты.

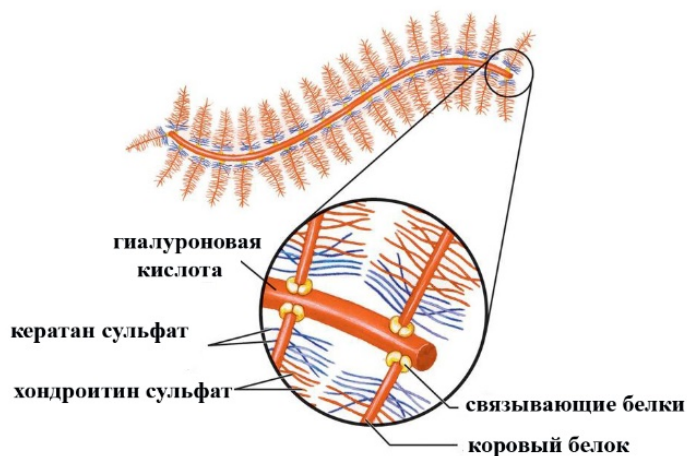


Рис. 11.3. Схематическая структура протеогликана хрящевой ткани

11.5. Клеточная стенка бактерий

Другой пример соединения белков и углеводов – клеточная стенка бактерий, молекула **муреина**, состоящая из повторяющихся единиц (рис. 11.4). Здесь два моносахаридных остатка соединены между собой: N-ацетилглюкозамин и N-ацетилмурамовая кислота (отличается от первого молочной кислотой, пришитой к третьему положению простой эфирной связью, её карбоксил служит для связывания цепей). Такие связи делают стенку крепче, т.к. не будут расщепляться обычными протеолитическими ферментами.

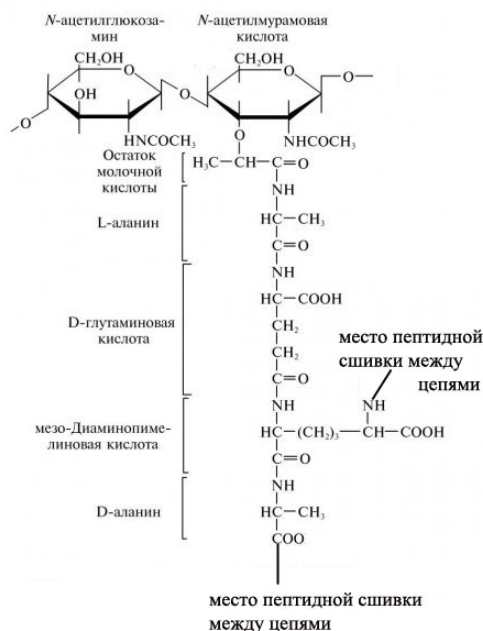


Рис. 4 Единица молекулы муреина – бактериальной клеточной стенки

Часто в процессе синтеза молекулы происходит изомеризация L-аминокислот в D-аминокислоты. На рис показана такая аминокислота – диаминопимелиновая кислота. У бактерий это промежуточный продукт в синтезе лизина (если её декарбоксилировать, то получится лизин). У ряда бактерий декарбоксилирования не происходит, и эта аминокислота включается в соответствующий пептид – возникает ответвление, несущее аминокислотные и карбоксильную группы. У других бактерий включается только лизин (нет карбоксильной группы). Получается, к полисахаридному каркасу поперек присоединяется цепочка. Дальше она продолжается за счёт присоединения аланина. Через один остаток будут образоваться сшивки с другими цепями. Так получается гигантская молекула, и можно считать, что бактериальная клетка окружена всего одной или несколькими такими молекулами. Эти компоненты ковалентно связаны и достаточно устойчивы. Многие организмы (например, животные) выработали лизоцим – расщепляющий фермент. Под его воздействием полисахаридная часть распадается, остается часть пептидов, связанных с дисахаридами, и бактериальная клетка погибает. Грибы же используют ингибиторы ферментов синтеза клеточной стенки бактерий (пенициллины, ампицеллины и др.).

11.6. Способы образования липопротеинов

Существуют случаи присоединения к белкам липидных компонентов. В основном это связано с необходимостью белков закоротиться в мембране. Наиболее часто встречаются 3 способа.

Первый базируется на связывании белка с липидным компонентом – жирной/миристиновой кислотой. Она активируется и далее переносится на N-концевую аминокислотную группу в белке. При этом белок модифицируется, и чаще всего этой группой оказывается глицин. Происходит это только в определенных белках на заданных аминокислотных последовательностях.

Второй – присоединение изопrenoидного компонента фарнезила по цистеиновому остатку, расположенному на определенном расстоянии от C-конца белка. Здесь последовательность представлена двумя аланинами, идущими после цистеина. Она подвергается действию сложного комплекса, который отрезает три концевых аминокислоты и присоединяет к цистеину изопrenoидный остаток. Как правило, при такой модификации при отщеплении пептида концевой карбоксил метилируется, т.е. снимается отрицательный заряд C-конца.

Третий – взаимодействие белка с липидо-олигосахаридным компонентом мембраны с образованием GPI-якоря из остатка фосфатидинозитола с полисахаридной группой и белком. Таким образом, белок от мембраны отделяет достаточно длинная «ножка» и такие белки могут отделяться от мембран, т.к. углеводный компонент и инозитольный остаток могут служить местом начала деградации комплекса.

11.7. Комплексы белков

Часто в состав белков входят не столько широко представленные группы. Белки могут быть ковалентно связаны, например, с группами, ответственными за перенос электронов, с соединениями неорганической природы (например, йонами металлов). Способность белков образовывать комплексы – основа их функциональности в клетке и многообразия их функций. Такие комплексы могут быть достаточно прочными и достаточно специфичными. Самое прочное и специфичное – это связь белков с биотином. Например, белок авидин (из куриного яйца) образует комплекс с биотином с константой 10^{-15} – фактически неразрушимый. Со стороны метаболизма такие комплексы сложны для всасывания в кишечнике, например. При этом такие комплексы интересны в исследовательской деятельности. Также такая высокая константа говорит о высокой специфичности. Многие белки имеют константы 10^{-10} – 10^{-8} . Это величина оптимальна для тех случаев, где процесс должен быть обратимым или иметь возможность быть обратимым при определенных условиях (например, антиген – антитело, регуляторная молекула – активатор/репрессор гена и др.). При ярко выраженной обратимости константы находятся в районе 10^{-5} .

11.8. Свойства белков. Размеры молекул

Размеры белковых молекул довольно сильно варьируются. Длина полипептидных цепей чаще всего составляет 300-500 аминокислот. Общих закономерностей в размере молекул нет, поскольку длина цепи зависит от функции белка (например, нужно ли иметь много реакционных центров или быть удобным в транспортировке). Говоря о размере белков, стоит различать функциональный размер молекулы и размер конкретного полипептида. Многие белки имеют четвертичную структуру, где большой размер достигается объединением большого числа субъединиц. А некоторые достигают довольно больших размеров, представляя из себя только одну полипептидную цепь. Такой вариант может быть объяснён сложной функцией белка, требующей больших размеров (например, аполипопротеин-В содержит около 4000 аминокислот). Другие белки могут быть собраны из отдельных глобул, каждая из которых является результатом сворачивания отдельного участка одной и той же цепи. Еще один вариант – необходимость большого размера как структурной единицы. Например, самые большие белки связаны со сборкой мышечных волокон – титин (около 27000 аминокислот, 3 000 000 Да) и дистрофин.

11.9. Заряд молекул

Если взять полипептидную цепь, то все группы, связанные с альфа-атомами, кроме двух концевых, объединены в цепь пептидной связи. Аминогруппы и карбоксильные группы, образующие пептидную связь, не несут зарядов, и заряженными оказываются только N - конец с аминогруппой (+) и C - конец с карбоксильной группой (-). В целом мы имеем нулевой заряд (при широком интервале pH в нейтральной

области). При этом, по-видимому, почти у каждого белка боковой радикал несёт заряд. И общий белка будет являться суммой зарядов.

Для каждой группы существует свой интервал, при котором происходит переход из заряженной в незаряженную форму, что хорошо демонстрирует титрование. **Изоэлектрическая точка белков** – значение рН, при котором количество положительных и отрицательных групп равно. Знание о заряде белков является актуальным при их разделении и выделении. Для большинства белков изоэлектрическая точка находится в слабокислой области (6-7,5рУ). Есть белки сильнокислые, например, пепсин (1рУ), есть щелочной природы – лизоцим (11рУ), цитохром С. Для смены заряда белка есть специальные методы, которые создают постепенно сменяющиеся условия рН так, чтобы белок, попав в свою изоэлектрическую точку, не имел заряда.

11.10. Денатурация и ренатурация

Укладка белковых цепей происходит за счет не очень сильных взаимодействий – водородных, ван-дер-ваальсовых, ионных. Процессы нарушения пространственной структуры без нарушения ковалентного каркаса называются **денатурацией** белка. Пример такого процесса – нагревание. Белок подвергается воздействию постоянно повышающихся температур – и на начальном этапе с ним не происходит ничего значительного (тепловая энергия недостаточна). Будут происходить небольшие перестроения, но важно понимать, что белок в растворе ведет себя иначе, чем в кристалле: у него есть некоторые естественные пульсации. По мере повышения температуры колебания будут усиливаться (собственная кинетическая энергия будет суммироваться с энергией растворителя), начнется постепенный распад. До некоторого уровня температуры он происходит медленно, затем – резкая потеря структуры. Этот процесс фактически аналогичен такому фазовому переходу как плавление, но реально же происходит исключительно разворачивание структур. Процесс денатурации специфичен для каждого белка в зависимости от размера молекулы и прочности связей в его структуре (рис. 11.5).

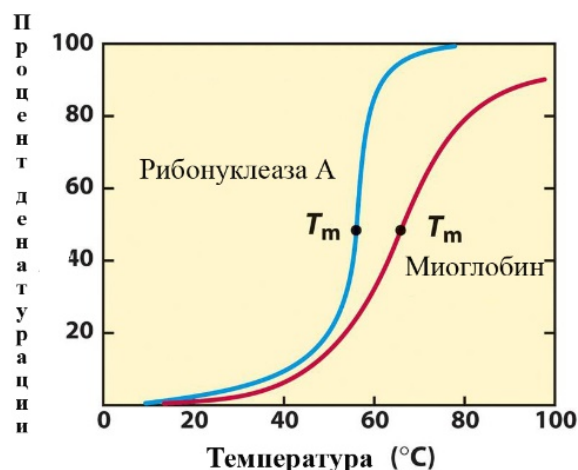


Рис. 11.5. Сравнение процесса денатурации рибонуклеазы и миоглобина (небольшого и крупного белков соответственно) при нагревании.

На рибонуклеазе впервые было показано, что денатурация является обратимым процессом (рис. 11.6). Внутри неё имеются 4 SS-мостика и одна полипептидная цепь, свернутая определенным образом. При нагревании фермента и введении в среду реагента, восстанавливающего SH-группы/ помещении в раствор с высоким содержанием мочевины, произойдет разрушение структуры до неупорядоченного клубка. Если из раствора начать удалять мочевины, то белок начнёт восстанавливать водородные связи, а в присутствии кислорода SH-группы окислятся и образуются SS-мостики — белок вернется в исходное состояние.

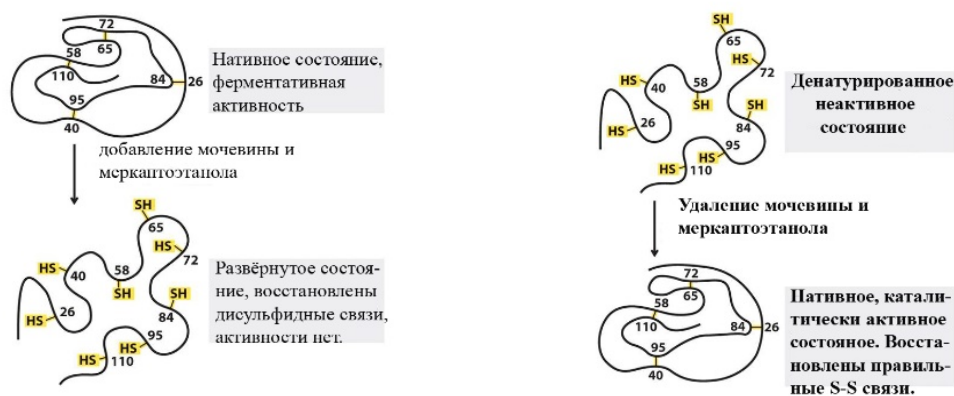


Рис. 11.6. Процесс денатурации и ренатурации рибонуклеазы.

Почему это удалось с рибонуклеазой? Сыграли роль ее небольшой размер и прочная структура. С другими белками большего размера ситуация осложняется случайными связями между частями расплетенной цепи при удалении денатуранта. Они могут быть непрочными, но они осложняют поиск «правильных» связей, а также могут зафиксироваться при резком изменении состояния (например, охлаждение) (рис. 11.7).

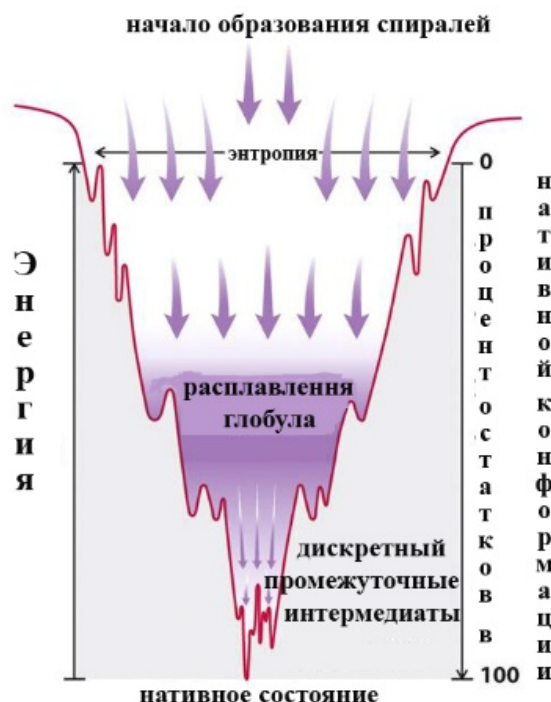


Рис. 11.7. Схематическое представление процесса ренатурации и переходов конформаций

Аналогичный процесс происходит при денатурации. Сначала происходит разрушение нерегулярных структур с отдельными некооперативными связями, а альфа-спирали и бета-структуры сохраняются довольно долго. Такое сочетание разрушения структур с сохранением вторичной структуры называется **состоянием расплавленной глобулы**. Оно является промежуточным и в денатурации, и в ренатурации. В случае ренатурации важно, чтобы элементы вторичной структуры правильно сформировались.

11.11. Каталитическая функция белков

Белки, связывая определенные вещества и определенным образом ориентируя их относительно друг друга и собственных групп, способны ускорять реакции. У бактерий более 80% белков имеют каталитическую функцию.

11.12. Структурная функция белков

Белки могут образовывать комплексы с различными компонентами, и чаще всего белок здесь несет «образующую» функцию. Наиболее часты комплексы с углеводами. В этом случае углеводы формируют прочные фибриллярные структуры, а белки закрепляют отдельные фибриллы, образуя более жесткие пространственные конструкции. Так, например, в клеточной стенке растений целлюлозные фибриллы соединены белками-экстенсинами.

11.13. Механо-химическая функция белков

Функция, присущая исключительно белкам. Белки осуществляют превращение химической энергии соединений в механическое движение. Чаще всего это энергия, запасенная в АТФ, за счет чего белки осуществляют конформационные переходы и перемещение частей. Переходы могут иметь разный конечный эффект. Например, внутриклеточный транспорт по микротрубочкам – это перемещение на относительно небольшое расстояние за счет смыкания-размыкания доменов кинезинов и динеинов. В других случаях это более сложные переходы больших сложных комплексов, в результате чего происходит перемещение более крупных масс с развитием большей силы (мышечная система). Иногда такой процесс осуществляется без участия АТФ, например, вращение бактериальных жгутиков происходит за счет электрического потенциала на мембране (но сам потенциал может генерироваться за счет АТФ).

11.14. Регуляторная функция белков

Подразумеваются белки, участвующие именно в регуляции. Таким образом, ферменты из этого списка выпадают, т.к. являются мишенями регуляции. Истинно регуляторные белки запускают или выключают те или иные процессы.

Первая группа – белки активаторы/репрессоры генов. Механизмы действия тут многообразны. Чаще всего белки узнают определенную последовательность ДНК и имеют 2 формы: одна – узнающая последовательность и связывающаяся с ней, другая – не узнающая последовательность в результате перестройки. Перестройка происходит чаще всего при связывании лиганда. Например, рецепторы стероидных гормонов. Белки имеют участки связывания сигнальных молекул и участки взаимодействия с соответствующими регуляторными областями на ДНК.

Вторая группа – регуляция активности ферментов. Есть несколько механизмов.

Первый. Белки при связывании с ферментом переводят его в неактивную форму, образуя с ним прочный комплекс. Например, ингибиторы трипсина в семенах бобовых растений. Этот механизм примитивный и слишком затратный.

Второй. Модификация ферментов и изменение их активности. Например, протеинкиназы – они присоединяют фосфатные остатки из АТФ в определенной позиции того или иного белка. Протеинкиназы имеют фермент-антипод, который, наоборот, отщепляет эти группы. Такое взаимодействие приводит к опции ферментов то включаться, то выключаться. При этом фосфорилирование может как активировать, так и ингибировать.

Третий. Гормональный. Здесь происходит действие гормона на клетку через опосредованный белковый рецептор. Также за счет разных рецепторов один и тот же гормон может вызывать разные эффекты.

Возможны и другие модификации белков: метилирование лизина, ацетилирование лизина, гидроксирование/карбоксирование и др. Обычно носят характер включателя/выключателя, а не регулятора.

Есть белки, которые служат для разрушения ферментов в случае ненужности последних. Это молекулы-антизимы.

11.15. Транспортная функция белков

Транспорт через мембраны клеток осуществляется только белками. Для этого существуют специальные белковые системы с разными вариантами переноса: по градиенту концентрации или за счет затраты энергии.

Есть системы дальнего транспорта в многоклеточных организмах. Здесь белок работает пассивно как носитель (например, гемоглобин). Обычно это актуально для веществ, которые нельзя растворить или нельзя надолго оставлять в несвязанном виде: липиды (переносятся липопротеидами крови), железо (упаковывается белком-ферритином, переносится белком-трансферином).

11.16. Защитная функция белков

Вспомогательная. Защитные (атакующие) белки бактерий – бактериоцины. Как правило, это ферменты, разрушающие жизненно-важные структуры клетки. Для защиты клетки-хозяина от бактериоцина система состоит из двух генов: гена бактериоцина и гена иммунности. Такая система примитивна. Следующий уровень – яды и токсины. Например, белок из семян клещевины – рицин.

11.17. Энергетическая функция белков

Использование своих белков в качестве источника энергии для клетки не выгодно и происходит в последнюю очередь. Но широко распространен способ получения энергии при расщеплении белков, поступающих в организм извне.

11.18. Запасающая функция белков

Также невыгодная для клетки опция. Запасание белков связано со случаями размножения (в органах, ответственных за развитие нового организма): в семенах, в яйцах и т.д. То есть запасается как источник аминокислот, а не энергии.

Лекция 12. Ферменты

12.1. Свойства ферментов

Ферменты обладают некоторыми общими свойствами с небиологическими катализаторами:

1. Они не влияют на равновесие реакции
2. Катализ происходит при присоединении реагирующего вещества к катализатору

Отличия ферментов от небиологических катализаторов:

1. Эффективность катализа ферментов выше, чем у небиологических катализаторов (эффективность катализа – отношение скорости реакции с участием катализатора к скорости реакции без катализатора). Большинство ферментов ускоряют реакции в 10^7 - 10^{10} раз. Некоторые ферменты ускоряют реакции в 10^{15} раз, а, например, конечный фермент в синтезе пиримидиновых нуклеотидов ускоряет реакцию в 10^{17} раз. Поэтому без катализаторов скорость многих биохимических реакций близка к нулю. Именно скорость ферментативных реакций на первых этапах эволюции была основным параметром отбора. Некоторые реакции происходят быстро, но их обычной скорости недостаточно для функционирования организма. Например, такой является реакция распада угольной кислоты. Кровь проходит через капилляры легких на поверхности альвеол примерно за одну секунду, но за это время распад угольной кислоты (в виде которой транспортируется большая часть углекислого газа) не успевает пройти до конца. Однако стенки капилляров содержат фермент карбоангидразу примерно в 10^7 раз.
2. Ферменты, в отличие от небиологических катализаторов, обладают высокой специфичностью. Как правило, они являются абсолютно специфичными катализаторами: данный конкретный фермент способен превращать только одно определенное вещество по одной определенной реакции в один определенный продукт. Это является причиной того, что в клетке не образуется большого количества побочных продуктов. Иногда специфичность ферментов бывает неабсолютной. В клетке иногда могут оказаться какие-то вещества, похожие на обычные компоненты обмена веществ, но немного отличающиеся по свойствам. Они могут возникать абиотически и проникать в клетку или возникать в результате каких-то нарушений процессов обмена. Эти вещества также требуется как-то использовать дальше, но для них невыгодно иметь специальные ферменты. В таких случаях работают ферменты с групповой специфичностью (например, алкогольдегидрогеназа или ферменты в реакциях протеолиза).
3. Ферменты могут менять свою активность под действием тех или иных факторов или сигналов. По этой причине многие ферменты являются регулируемыми. В случае небиологических катализаторов работает только грубая регуляция: необратимая инактивация катализатора при образовании прочной связи с каким-то веществом. В отличие от этого, регуляция ферментов основана на обратимых процессах. То есть,

«выключая» фермент, мы имеем возможность активировать его в дальнейшем. Кроме того, регуляция ферментов может осуществляться и по принципу резкого переключения. Зачастую это происходит при химической модификации ферментов (например, при фосфорилировании или присоединении адениловых нуклеотидов). Регулируемость функционирования ферментов является основой для поддержания нужных концентрация веществ в клетке. При этом часто имеет место такое явление как регуляция по принципу отрицательной обратной связи: фермент ингибируется продуктом, который образуется в результате того метаболического пути, который катализирует данный фермент.

4. Некоторые ферменты способны сопрягать химические реакции. Это дает возможность проводить реакции, изменение свободной энергии которых является положительным, за счет сопряжения с энергетически выгодными реакциями (например, гидролиз АТФ до АДФ). В результате такого сопряжения изменение свободной энергии суммарной реакции оказывается меньше нуля. Такими свойствами обладают ферменты класса синтетаз и лигаз. По такому механизму происходит, например, азотфиксация.

12.2. Скорость ферментативной реакции. Вывод уравнения Михаэлиса-Ментен

Разница в концентрациях субстрата и фермента обычно составляет 5-6 порядков (субстрат содержится в клетке в гораздо больших количествах, чем фермент). На рисунке 12.1 изображена кривая зависимости скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата. Так как скорость реакции пропорциональна концентрации реагирующих веществ, то такая зависимость должна была быть прямой. Первоначально предполагалось, что подобное отклонение связано с комплексообразованием. В дальнейшем Михаэлис и Ментен вывели уравнение, в котором скорость реакции под действием фермента описывалась двумя этапами: образованием комплекса и его превращение. В предложенной ими формуле для расчета скорости реакции была константа диссоциации фермент-субстратного комплекса и каталитическая константа, определяющая скорость образования продукта, однако в этом случае формула имела неточности. Позже константа диссоциации была заменена на отдельные парциальные константы для прямых и обратных реакций: $k+1$ – скорость образования фермент-субстратного комплекса, $k-1$ – скорость распада фермент-субстратного комплекса, $k+2$ – скорость образования продукта.

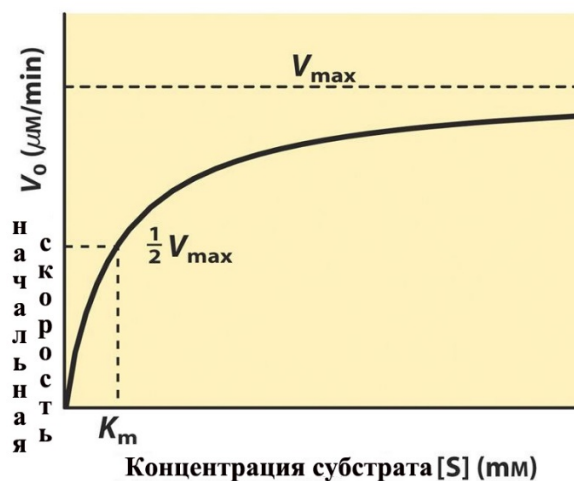


Рис. 12.1. Зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата.

Также было постулировано, что при прохождении реакции с постоянной скоростью не меняется концентрация фермент-субстратного комплекса ($v = k_{+2} \cdot [ES]$). Таким образом, если концентрация фермент-субстратного комплекса является константной, то для описания скорости реакции нужно перемножить концентрацию комплекса на скорость образования продукта. Концентрация комплекса связана с исходной концентрацией фермента (E_0). $[E_0] = [E]$ (текущая концентрация свободного фермента) + $[ES]$ (концентрация фермент-субстратного комплекса). В условиях, когда распад и образование фермент-субстратного комплекса равны, концентрация комплекса будет постоянной (необходимое нам условие). Распад комплекса осуществляется в двух реакций с константами k_{-1} и k_{+2} , а образование – реакцией с константой k_{+1} . То есть $k_{+1} \cdot [E] \cdot [S] = k_{+2} \cdot [ES] + k_{-1} \cdot [ES]$.

Если подставить в это уравнение значение $[E] = [E_0] - [ES]$, то получим $([E_0] - [ES]) \cdot [S] = [ES] \cdot (k_{+2} + k_{-1}) / k_{+1}$. Выражение $(k_{+2} + k_{-1}) / k_{+1}$ – константа Михаэлиса (K_M)

Получаем: $[E_0] \cdot [S] = [ES] \cdot [S] + [ES] \cdot K_M$. Или $[E_0] \cdot [S] = [ES] \cdot ([S] + K_M)$.

Тогда $[ES] = ([E_0] \cdot [S]) / ([S] + K_M)$. Выражаем скорость из уравнения $v = k_{+2} \cdot [ES]$. Получаем: $v = (k_{+2} \cdot [E_0] \cdot [S]) / ([S] + K_M)$.

В таком случае, скорость будет максимальной, когда весь фермент будет связан в фермент-субстратном комплексе. $V_{max} = k_{+2} \cdot [E_0]$.

Итоговое уравнение Михаэлиса-Ментен: $v = (V_{max} \cdot [S]) / ([S] + K_M)$.

Константа Михаэлиса имеет определенный физический смысл. Для того, чтобы с ним разобраться, нужно рассмотреть отдельный частный случай такого уравнения. Так как K_M и $[S]$ складываются, то эти величины имеют одинаковую размерность (моль/л). Если $[S] \ll K_M$, то значением концентрации субстрата в знаменателе уравнения можно пренебречь. Тогда $v = (V_{max} / K_M) \cdot [S]$. То есть при значениях концентрации субстрата

меньше константы Михаэлиса зависимость скорости реакции от концентрации становится линейной.

В другой ситуации, когда концентрация субстрата сильно больше константы Михаэлиса, мы можем пренебречь значение k_M в знаменателе уравнения. Получаем: $v = V_{\max} * [S] / [S] = V_{\max}$

То есть при очень высоких концентрациях субстрата, когда весь фермент переходит в фермент-субстратный комплекс, скорость становится максимальной. Иногда это недостижимо, так как субстрат не растворяется в таких концентрациях, либо возникает явление ингибирования фермента субстратом

Если $[S] = k_M$, то мы получаем следующее выражение для скорости: $v = V_{\max} / 2$.

Физический смысл константы Михаэлиса: константа Михаэлиса – такая концентрация субстрата, при которой скорость реакции равна половине от максимальной. При этом такая концентрация является максимально удобной для регуляции фермента.

Определить максимальную скорость экспериментально очень сложно, но есть математические способы решения данной задачи. Если «перевернуть» график на рисунке 12.1, то получится линейная зависимость $1/V$ от $1/[S]$ (рис. 12.2).

Уравнение этой прямой – уравнение Лайнуивера-Бэрка: $1/V = K_M / (V_{\max} * [S]) + 1 / V_{\max}$. При $1/[S] = 0$ (то есть при максимально большом количестве субстрата) скорость будет максимальной, и линия графика в этом месте пересекается с осью ординат.

Если $1/V = 0$ (при максимальной скорости реакции), то график пересечет ось абсцисс в точке $-1/K_M$.

Таким образом, из линейного графика можно математически вывести все необходимые константы. Получить такой график по экспериментальным данным проще, чем график 12.1, так как для него нужно меньше точек, каждая из которых соответствует эксперименту.

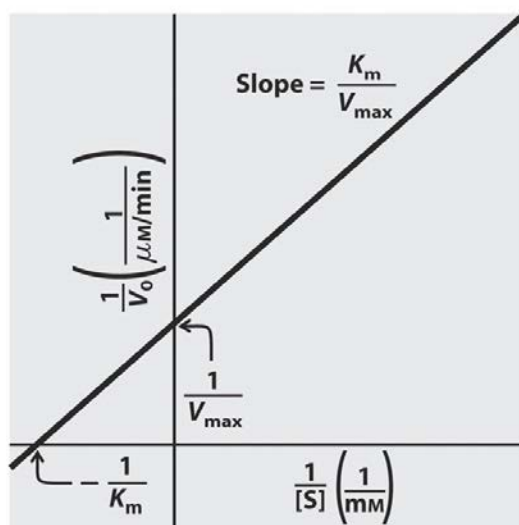


Рис. 12.2. График уравнения Лайнуивера-Бэрка

Активность ферментов зависит от целого ряда параметров (температуры, pH, состава среды).

12.3. Влияние pH на активность фермента

Ферменты в своей активности широко используют кислотно-основной катализ: определенные группы ферментов являются донорами ионов водорода для присоединения к субстрату, другие – акцепторами. За счет этого фермент может в одном участке отнять ионов водорода, в другом – присоединить его, и таким образом переместить какую-то связь. Это осуществляется отдельными группами ферментов, которые работают в протонированном или депротонированном состоянии.

Таким образом работа всего фермента осуществляется при неких компромиссных значениях pH. При сильно низких значениях pH слишком много групп протонируется, из-за чего группы, являющиеся акцепторами водорода, не могут выполнять свою функцию. Это снижает активность фермента. Аналогичный эффект наблюдается и при сильно высоких значениях pH. В результате возникает колоколообразный график зависимости логарифма скорости реакции под действием фермента от значения pH среды (рис. 12.3). При этом при малейшем отклонении от «среднего» участка происходит существенное снижение активности. Значение pH, при котором активность фермента является максимальной, называют pH-оптимумом фермента. Это значение может быть различным для разных ферментов, но обычно находится в пределах от 5 до 8 pH.

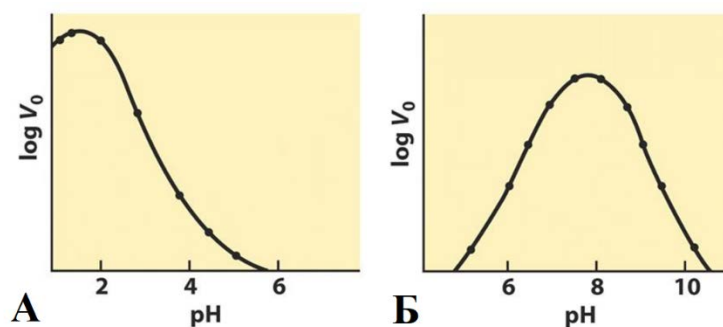


Рис. 12.3. Зависимость активности пепсина (А) и глюкозо-6-фосфатазы (Б) от pH.

12.4. Влияние температуры на активность фермента

Обычно скорость ферментативной реакции увеличивается в 3 раза при увеличении температуры на 10 градусов, но до определенного предела. Наличие такого предела связано с тем, что фермент является белковой структурой, а белки не устойчивы к сильному нагреванию. По международному соглашению активность фермента измеряют при 30°C.

Для определения активности некоторых ферментов нужно учитывать дополнительные факторы, например, наличие SH-реагентов, которые восстанавливают S-S мостики с образованием свободных SH-групп. SH-группы часто являются компонентами активного центра фермента по причине своей высокой реакционной способности.

Для многих ферментов дополнительным фактором является наличие определенных ионов металлов.

12.5. Специфичность ферментов

Специфичность фермента проявляется в том, что фермент образует фермент-субстратный комплекс только с одним определенным веществом. В начале XX века Фишер выдвинул гипотезу ключа и замка для объяснения такой специфичности. Она заключается в том, что субстрат подходит активному центру фермента как ключ к замку, то есть имеется строго однозначное соответствие, и каждая группа субстрата связывается с определенным компонентом фермента.

Далее по мере развития представлений о механизмах реакций было высказано (и оказалось более верным) другое предположение. Если мы посмотрим на ход реакции, то в начале имеется стабильный субстрат. Для того, чтобы этот субстрат вступил в реакцию, его необходимо активировать, и для этого необходимо передать ему какое-то количество энергии. Разница между значениями свободной энергии субстрата в активированном и в стабильном состоянии – энергия активации реакции. После того, как вещество перешло в возбужденное состояние, оно переходит в другое стабильное состояние – продукт реакции (рис. 12.4).



Рис. 12.4. Изменение значений свободной энергии в ходе реакции.

При участии фермента в реакции значение энергии активации снижается (рис. 12.5). То есть реакция «разбивается» на несколько этапов, каждый из которых имеет свою энергию активации, которая ниже, чем энергия некатализируемой реакции.

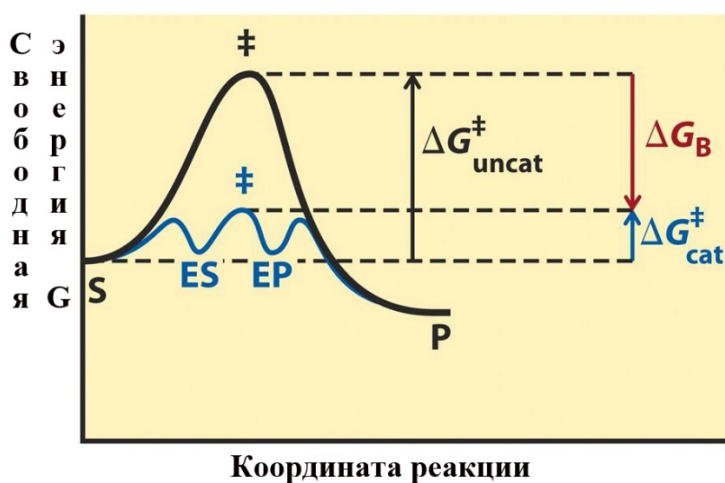


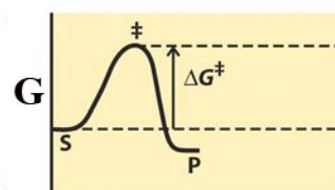
Рис. 12.5. Изменение значений свободной энергии в ходе реакции при участии фермента.

Если субстрат подходит к ферменту как ключ к замку, то при их взаимодействии образуется прочный комплекс. В этом случае данный комплекс будет обладать минимальным значением энергии, в результате фермент-субстратный комплекс сможет перейти в активированное состояние только при сообщении ему большого количества энергии (рис. 12.6 – б).

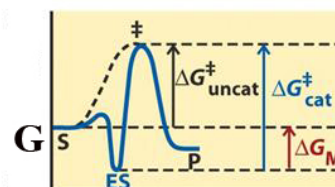
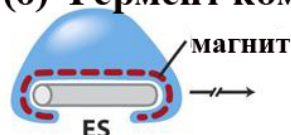
Реально фермент не является строго комплементарным субстрату, но ему хватает функциональных групп для того, чтобы «удержать» субстрат. Но при этом определенная часть компонентов субстрата оказывается невзаимодействующей с какими-то группами субстрата и как следствие возникает «деформация» субстрата (рис. 12.6 – в).

Таким образом, фермент комплементарен не субстрату, а переходному состоянию. Если синтезировать для некоторого фермента аналог субстрата, имеющий структуру переходного состояния, то он окажется очень сильным конкурентным ингибитором этого фермента, так как будет связываться с ферментом намного прочнее субстрата.

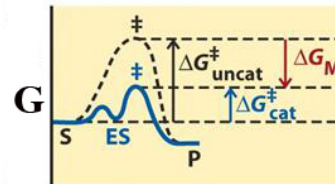
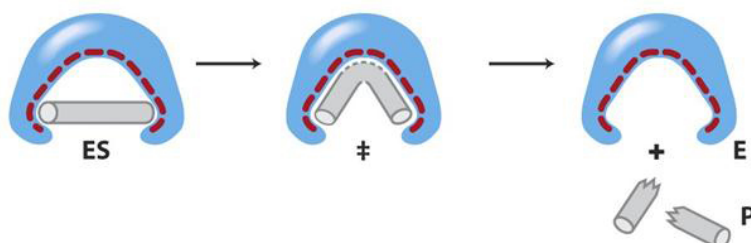
(а) Неферментативная реакция



(б) Фермент комплементарен субстрату



(в) Фермент комплементарен переходному состоянию



Координата
реакции

Рис. 12.6. Гипотетический фермент, катализирующий разлом металлического стержня

Лекция 13. Разновидности ферментов

13.1. Номенклатура ферментов

Первое правило номенклатуры ферментов заключалось в том, что название фермента должно строиться из названия превращаемого субстрата с добавлением суффикса «-аза». Однако это вызвало некоторые сложности для номенклатуры, так как одно и то же вещество может быть субстратом для действия нескольких ферментов. Для разрешения этой проблемы стали добавлять в название характеристику реакции (например, гидролаза, фосфоорилаза и т.д.). Однако такое название не позволяет делать вывод о механизме работы фермента.

Позднее была создана строгая классификация ферментов, присваивающая каждому ферменту четыре цифры, характеризующие данный фермент. Первоначально все ферменты были разделены на шесть классов по тем реакциям, которые они осуществляют (табл. 13.1). Если фермент осуществляет преобразование, приводящее к двум изменениям в субстрате, то в соответствии с общим правилом, этот фермент должен быть отнесен к классу с меньшим номером.

№	Класс	Тип катализируемой реакции
1	Оксидоредуктазы	Перенос электронов (гидрид-ионов или атомов H)
2	Трансферазы	Перенос групп
3	Гидролазы	Реакции гидролиза (перенос функциональных групп на молекулу воды)
4	Лиазы	Присоединение групп к двойной связи или образование двойной связи путем удаления группы
5	Изомеразы	Перенос групп внутри молекулы с образованием изомерных форм
6	Лигаза	Образование связей C–C, C–S, C–O и C–N в реакциях конденсации, сопряженных с расщеплением АТФ

Табл. 13.1. Международная система классификации ферментов

Далее эти классы ферментов делятся на подклассы, и в каждом из них они выделяются по разному принципу. Такое деление можно рассмотреть на примере оксидоредуктаз. В оксидоредуктазах подклассы выделяются в соответствии с тем, какая группа в субстрате подвергается окислению (например, фермент с номером, начинающимся на 1.1, окисляет спиртовые группы, на 1.2 – окисляет карбонильные группы и т.д.). При этом все оксидоредуктазы условно делятся на две группы. Это деление не учитывается в классификации, но отображается в названии: дегидрогеназы (ферменты, отнимающие водород при окислении) и оксидазы (ферменты, присоединяющие кислород или окисляющие за счет кислорода, отнимающего электроны).

При делении подклассов оксидоредуктаз на дополнительные подподклассы (которые обозначаются третьей цифрой) учитывается то, какое вещество является акцептором электронов и/или ионов водорода. Например, ферменты, номер которых начинается с 1.1.1, окисляют спиртовую группу субстрата с восстановлением NAD(F)⁺.

В пределах подподклассов ферменты получают свои индивидуальные номера. Например, фермент с номером 1.1.1.1 – алкогольдегидрогеназа.

К тому времени, когда была создана эта классификация, уже много ферментов были названы лигазами/синтетазами (когда в ходе реакции происходило образование сложного вещества из более простых предшественников). Но оказалось, что в большинстве случаев эти ферменты по механизму действия относятся к трансферазам, так как в них участвует активированное вещество с запасом энергии, и в ходе реакции не расходуются такие вещества как АТФ. Для разрешения этой проблемы было введено два названия: синтетазы (ферменты, осуществляющие реакцию с участием АТФ) и синтазы (ферменты, осуществляющие реакции синтеза сложных веществ из активированных предшественников за счет их внутренней энергии).

13.2. Коферменты

Коферменты, по одному определению, это любые небелковые компоненты, входящие в состав фермента. Иногда к ним относят только те из них, которые являются органическими. При этом ионы металлов, которые участвуют в катализе, как правило рассматриваются в качестве кофакторов. В свою очередь понятие коферментов часто делится на две части: группы, связывающиеся с белком достаточно лабильно, и группы, связанные прочно (их часто называют простетическими группами).

Большая часть коферментов выполняет одну из двух функций: участие в окислительно-восстановительных реакциях и перенос тех или иных функциональных групп.

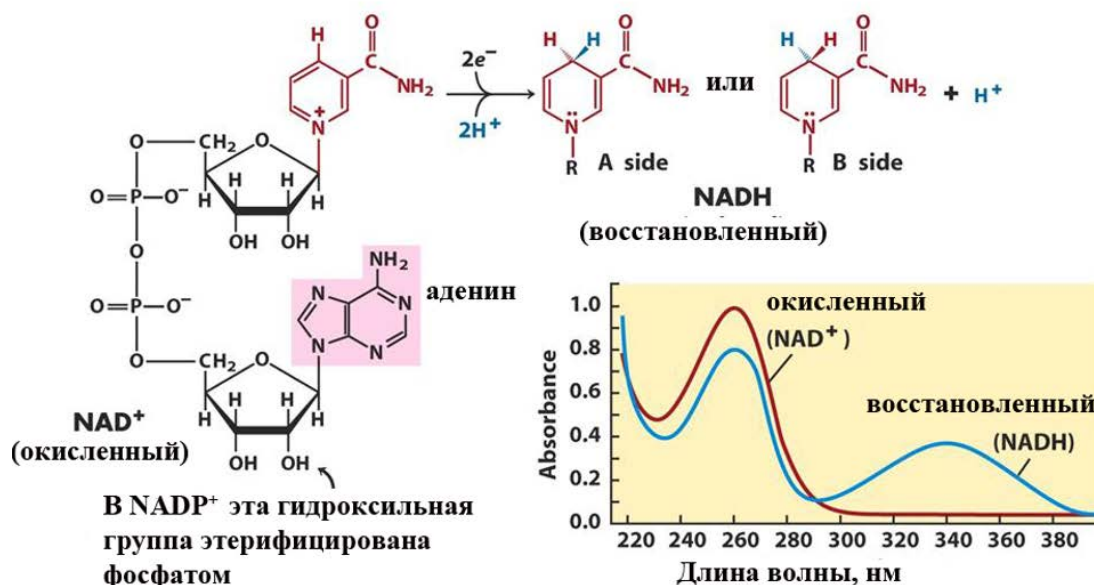


Рис. 13.1. NAD⁺

Как правило, NAD^+ связывается с ферментом достаточно лабильно и может за счет окисления на одном ферменте затем восстановиться на другом (или наоборот). Таким образом, оно является переносчиком восстановительных эквивалентов от одной молекулы к другой. Никотин-амид за счет своего кольца отрывает H^- группировку (водород с валентной парой электронов) и на этом месте оставляет катионную группу в превращаемом субстрате, которая дальше обычно компенсируется тем, что с другой позиции уходит H^+ . В результате происходит выделение водорода и восстановление кольца в никотин-амиде. Реакции такого рода могут быть обращены, поэтому такое соединение может отдать этот гидрид-ион на другом ферменте другой молекуле. Таким образом, в результате работы на одном ферменте NAD^+ превращается в другую форму, то есть фактически не является ферментным компонентом. Аналогичным образом работает близкое к нему вещество – NADP . Есть ферменты, которые могут связываться с обоими веществами, есть специфичные к одному из них.

Другой группой коферментов, которые так же катализируют окислительно-восстановительные реакции являются флавиновые коферменты (рис. 13.2). Они имеют сложное изоаллоксазиновое кольцо, которое присоединено к пятиатомному спирту, а он в свою очередь связан с адениловым нуклеотидом. В отличие от NAD^+/NADH , они обычно прочно связаны с ферментом и не диссоциируют. Таким образом, они являются простетическими группами, которые входе одной и той же реакции восстанавливаются и в дальнейшем переносят водород на какое-то другое вещество. Отсюда понятно, что для того, чтобы цикл замкнулся, это вещество должно пройти сначала по пути восстановления, а потом – окисления.

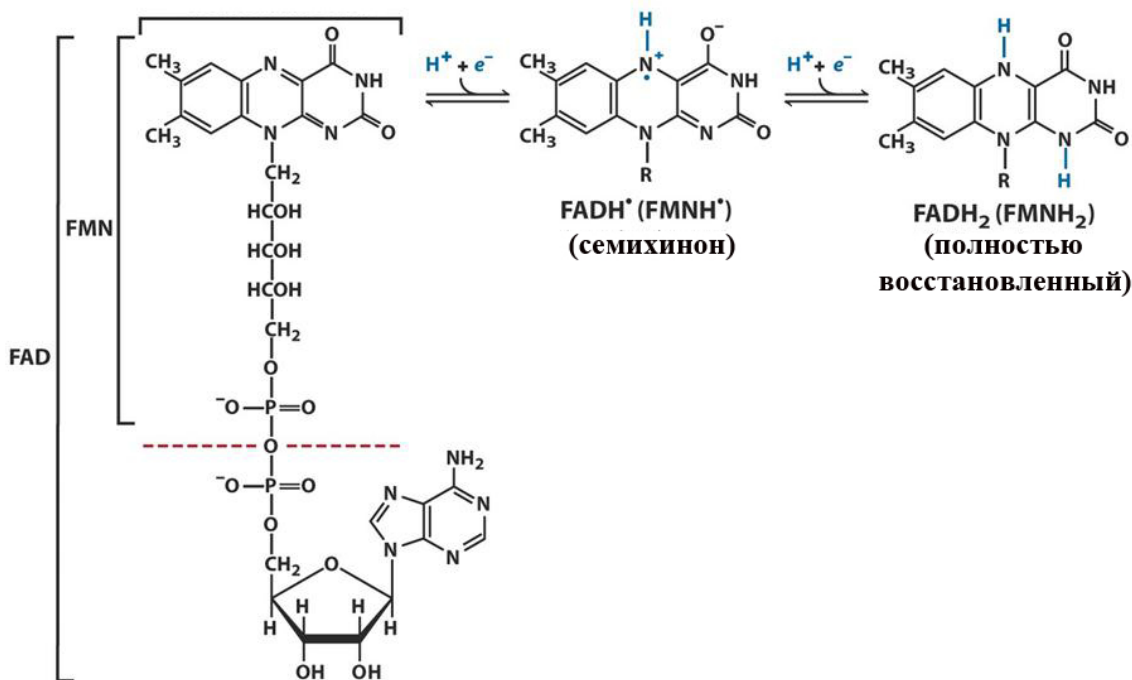


Рис. 13.2. FAD.

Еще одним окислительно-восстановительным коферментом является липоевая кислота (рис. 13.3). Кроме того, иногда она участвует в реакциях переноса ацильного остатка. Окисленная форма липоевой кислоты всегда ковалентно «привязана» за счет карбоксила на противоположном конце к амино-группе лизина. За счет этого образуется «ножка», состоящая в двух местах из четырех CH_2 -групп, за счет которой вся молекула может работать как шарнир. Как правило, окисление и восстановление сопряжены со связыванием окисляемого субстрата и его переносом в другой участок активного центра фермента за счет данного шарнира.

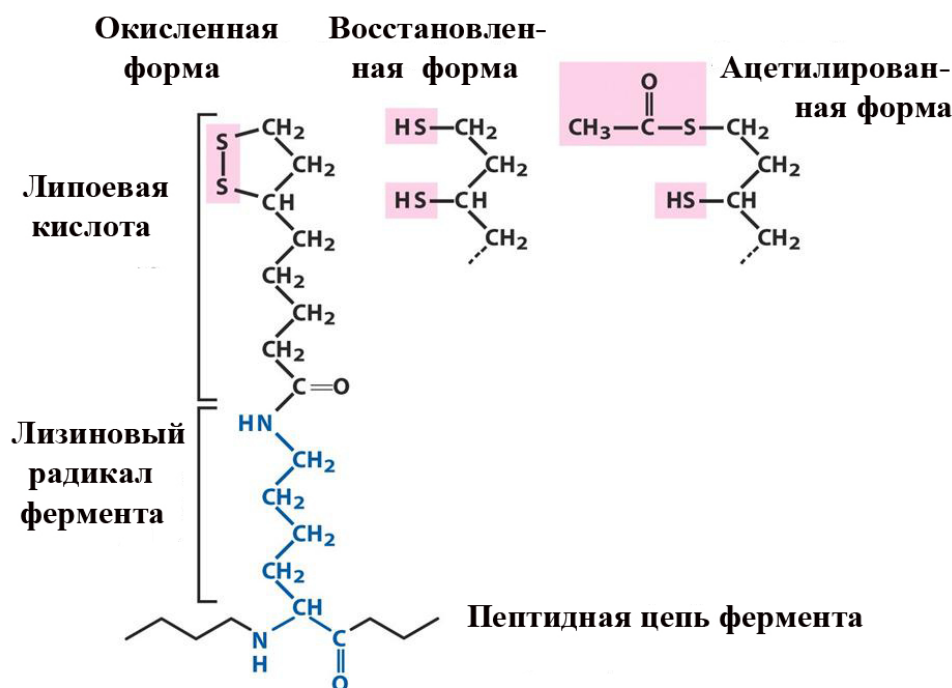
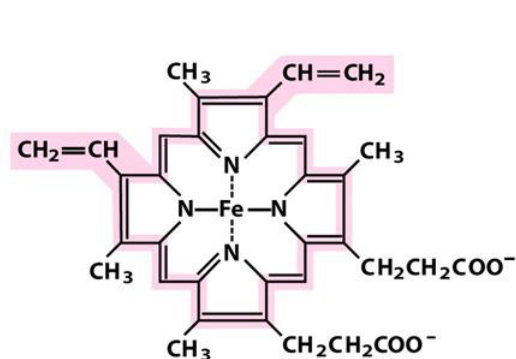


Рис. 13.3. Липоевая кислота.

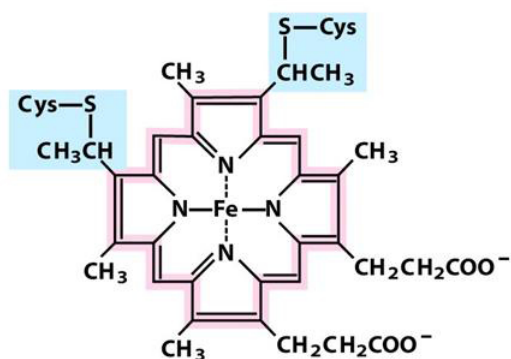
Многие коферменты не образуются в организме человека и животных и часто возникают из витаминов.

Также в качестве окислительно-восстановительных коферментов часто выступают различные гем-содержащие молекулы (рис. 13.4). Чаще всего они являются переносчиками электронов.

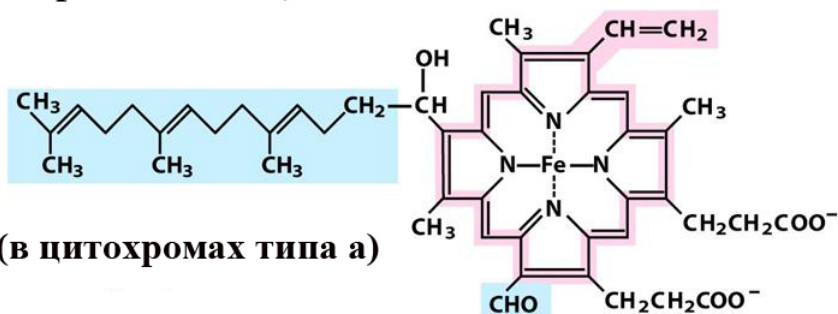
Помимо гемов, железо с переменной валентностью входит в состав Fe-S-белков, в которых железо связано с атомами серы цистеинов (рис. 13.5). Если железо будет окисляться или восстанавливаться, его фиксация в этом комплексе не изменится.



Железо протопорфирин IX (в цитохромах типа b)



Гем с (в цитохромах типа с)



Гем а (в цитохромах типа а)

Рис. 13.4. Важные гем-содержащие молекулы.

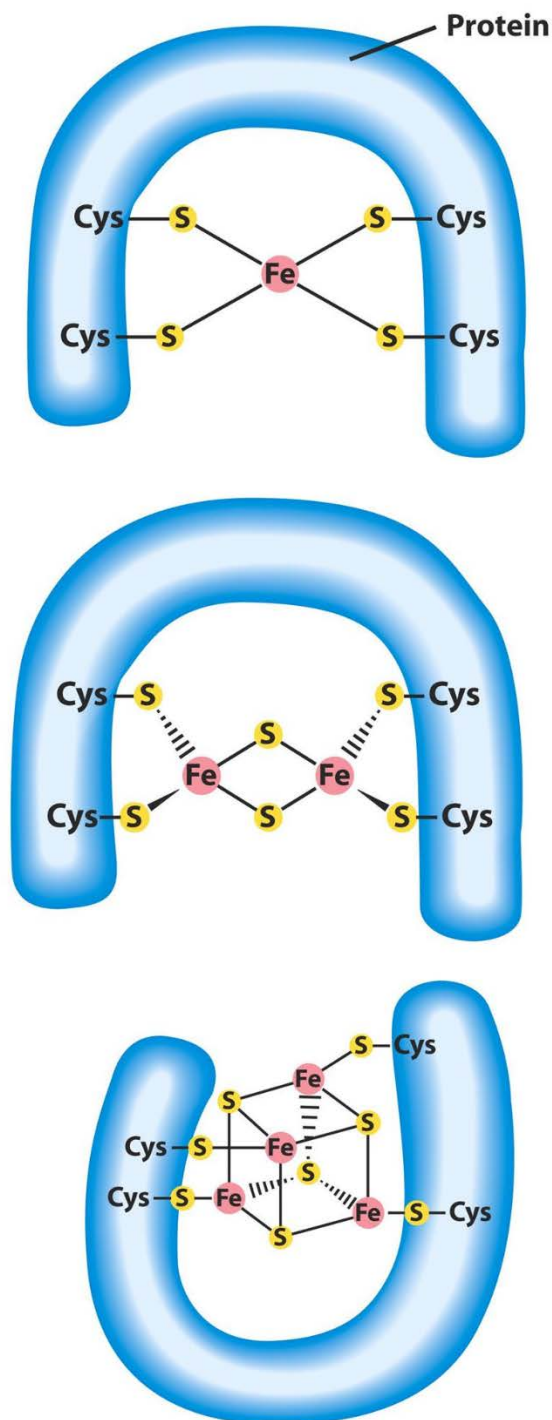


Рис. 13.5. Fe-S-белки.

Другая группа коферментов – убихиноны (рис.13.6). Это ароматические бифункциональные соединения, которые могут переходить в полностью или частично

восстановленную форму. Данное соединение является хорошо растворимым в липидных средах и плохо растворимым в водных, поэтому данное соединение целиком локализовано в мембранах и может достаточно свободно перемещаться в них. За счет этого убихиноны работают в качестве переносчиков ионов водорода и электронов. Прежде всего это происходит в митохондриях. Наличие переходной форме позволяет осуществлять перенос как одного, так и двух ионов водорода и электронов.

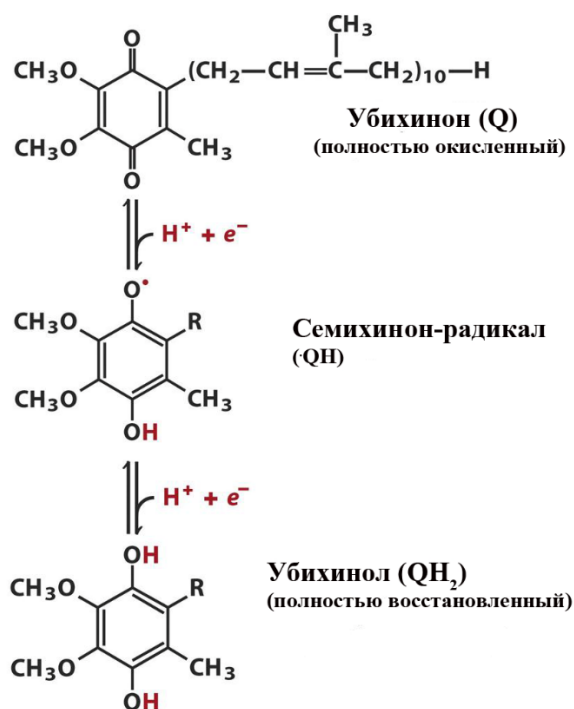


Рис. 13.6. Взаимопревращения убихинона и убихинола.

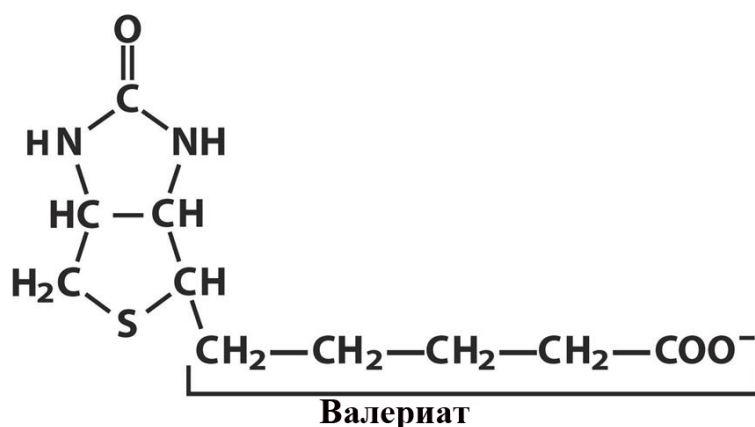


Рис. 13.7. Биотин.

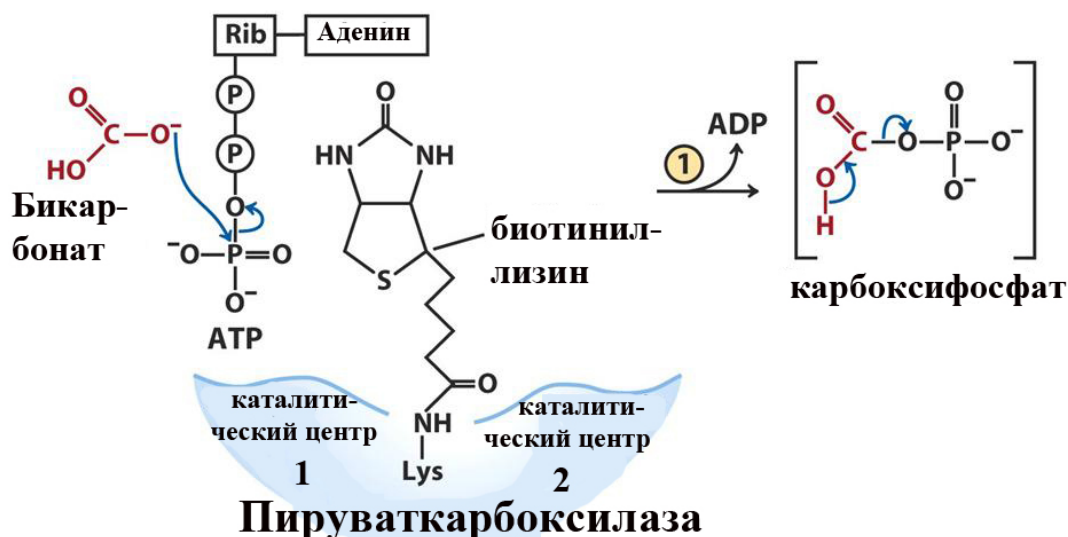


Рис. 13.8. Реакция с участием биотин-содержащего фермента. Стадия 1

В других ферментативных реакциях происходит перенос тех или иных групп. Участвующий в таких реакциях кофермент биотин является витамином. Остаток валериата в составе биотина используется для связывания соединения и его переноса в другой участок активного центра фермента (как и в случае с липоевой кислотой). В целом он осуществляет карбоксилирование различных соединений.

Примером такой реакции служит реакция, осуществляемая ферментом пируваткарбоксилазой. На начальном этапе своей работы биотин находится в каталитическом центре 1, где связывается АТФ и бикарбонат-ион. В результате действия фермента фосфат из АТФ атакует бикарбонатный кислород, образуя с ним связь. При этом образуется неустойчивое соединение – карбоксифосфат (рис. 13.8). Находясь в водной среде, оно подвергается гидролизу, но этого не происходит каталитическом центре фермента, так как там нет воды. Далее это соединения образует связь с биотином, высвобождая фосфат (рис. 13.9). В результате этой реакции образуется карбоксил, сидящий на биотине (рис. 13.10).

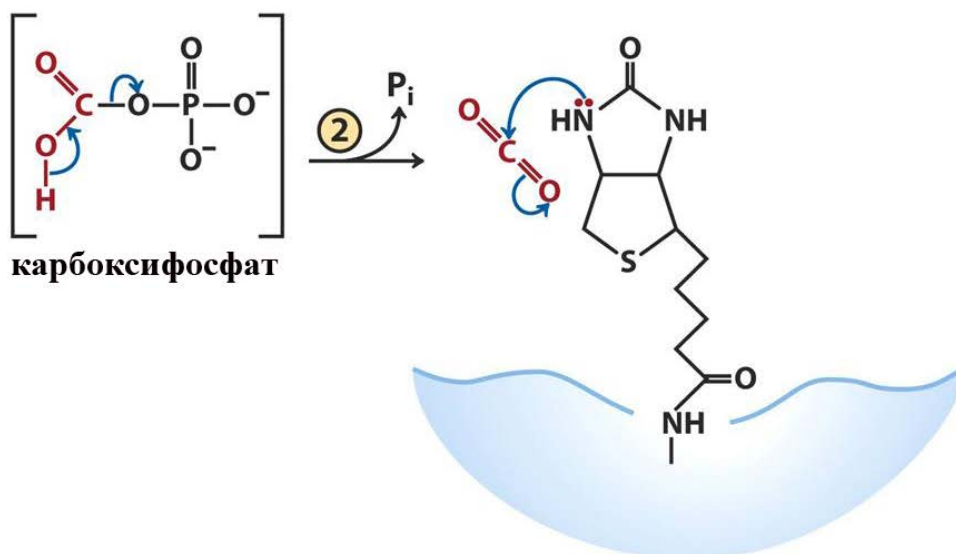


Рис. 13.9. Реакция с участием биотин-содержащего фермента. Стадия 2

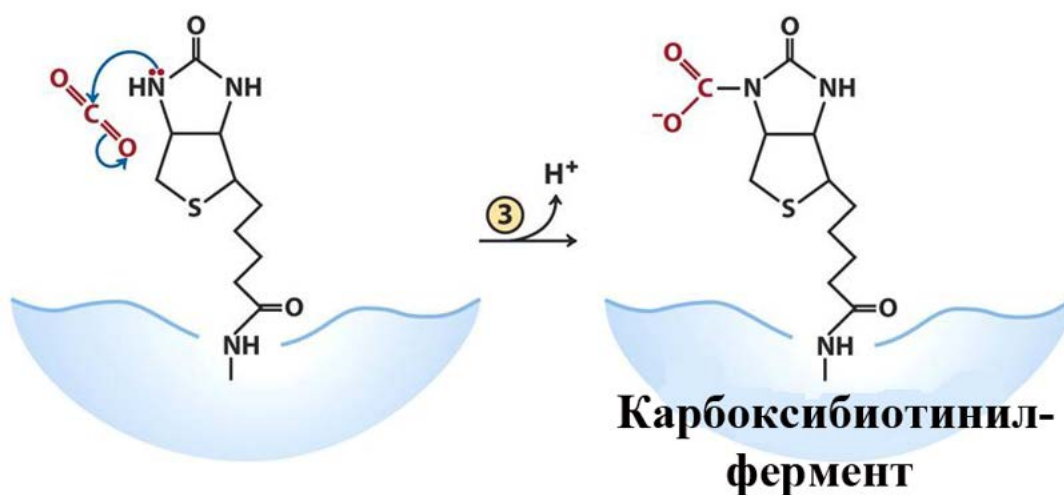


Рис. 13.10. Реакция с участием биотин-содержащего фермента. Стадия 3



Рис. 13.11. Реакция с участием биотин-содержащего фермента. Стадия 4

Далее шарнир перемещает биотиновую активную группировку из активного центра 1 в активный центр 2 (рис. 13.11). В этом активном центре также возникает замкнутая полость, недоступная для воды, где осуществляется реакция переноса пирувата на биотин (рис. 13.12). Находившийся в данной полости карбоксил переносится на пируватенолат (рис. 13.13). В результате данной реакции образуется оксалоацетат, а биотин возвращается в каталитический центр 1 (рис. 13.14).

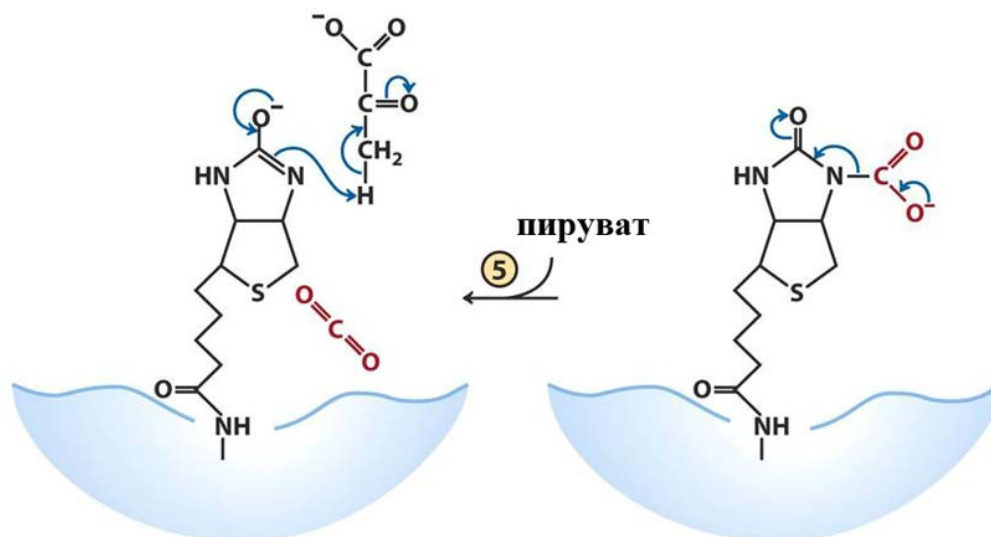


Рис. 13.12. Реакция с участием биотин-содержащего фермента. Стадия 5

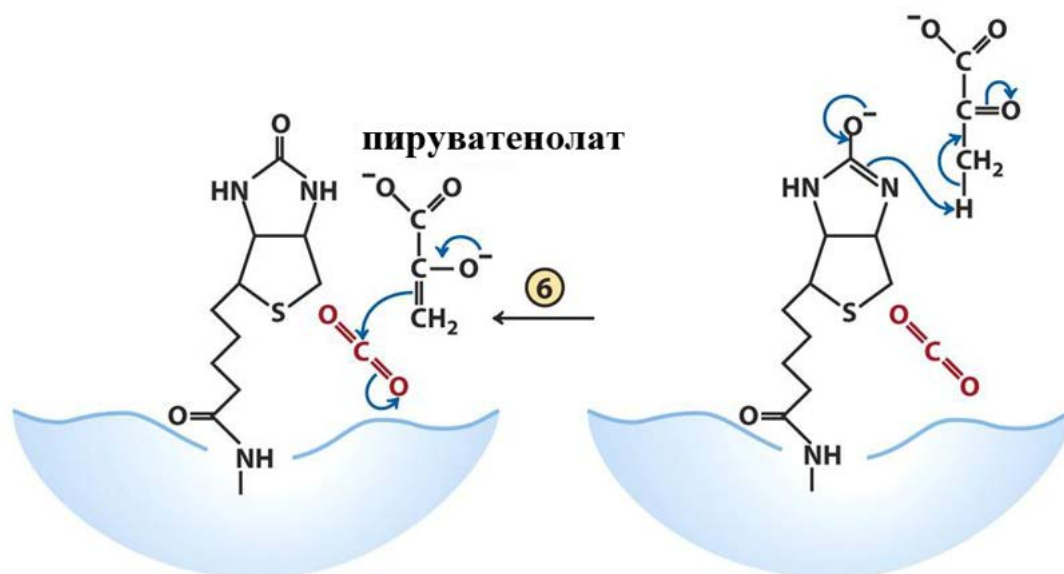


Рис. 13.13. Реакция с участием биотин-содержащего фермента. Стадия 6

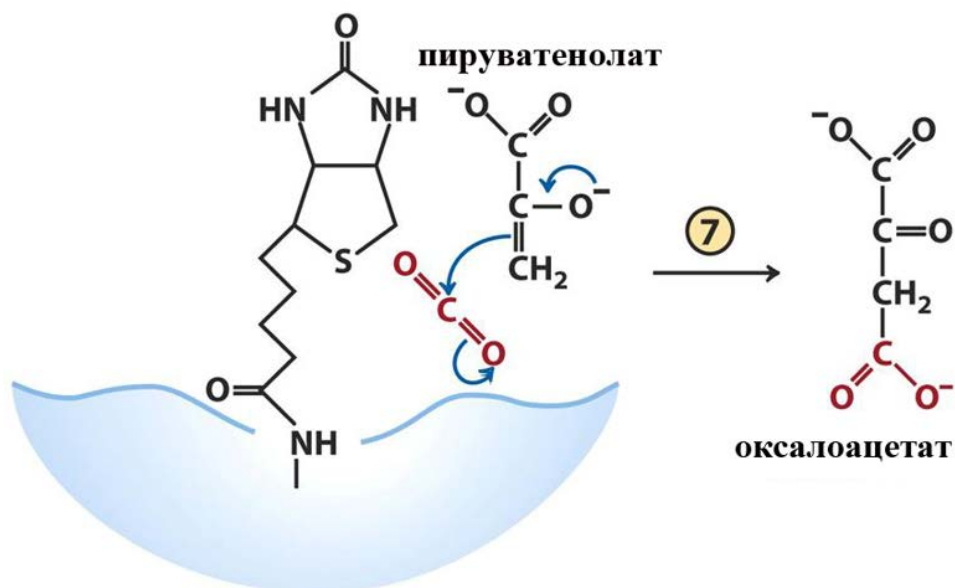


Рис. 13.14. Реакция с участием биотин-содержащего фермента. Стадия 7

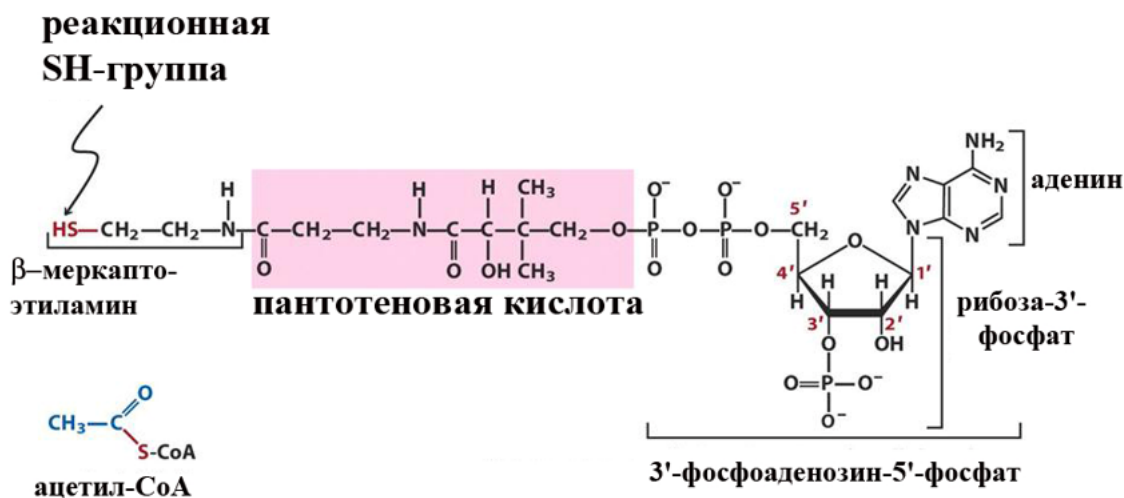


Рис. 13.15. Коэнзим А

В качестве еще одного переносчика, лабильно связанного с ферментами, выступает кофермент А (коэнзим А). Он используется в целом ряде важнейших процессов, например, служит активатором различных ацильных остатков и их переносчиков. Кофермент А содержит реакционную SH-группу, которая является акцептором для присоединения ацильных остатков (рис. 13.15). Остаток уксусной кислоты за счет своей карбоксильной группы образует тиоэфир с коферментом А. Такого рода соединения являются макроэргическими. К коферменту А могут присоединяться разные карбоновые кислоты.

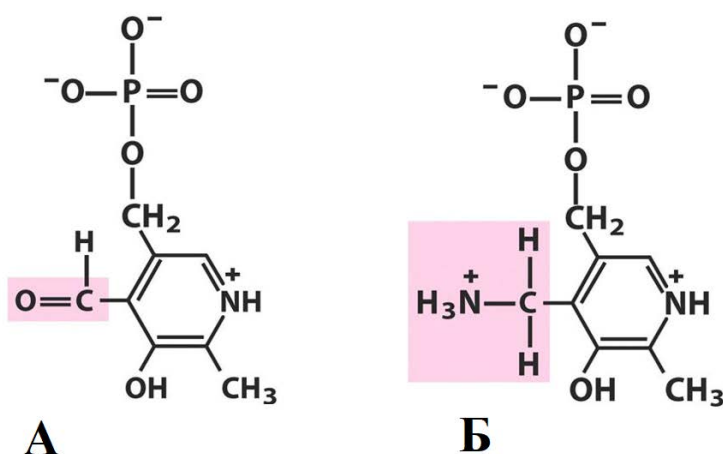


Рис. 13.16. А – пиридоксаль фосфат, Б – пиридоксамин фосфата

Еще один кофермент, участвующий в реакциях переноса групп – пиридоксаль фосфат. Он осуществляет перенос аминогрупп при обмене аминокислот. Активная форма – пиридоксаль фосфат, связанная с аминогруппой форма – пиридоксамин фосфат

(рис. 13.16). Присоединение аминогруппы осуществляется путем образования промежуточного соединения (рис. 13.17).

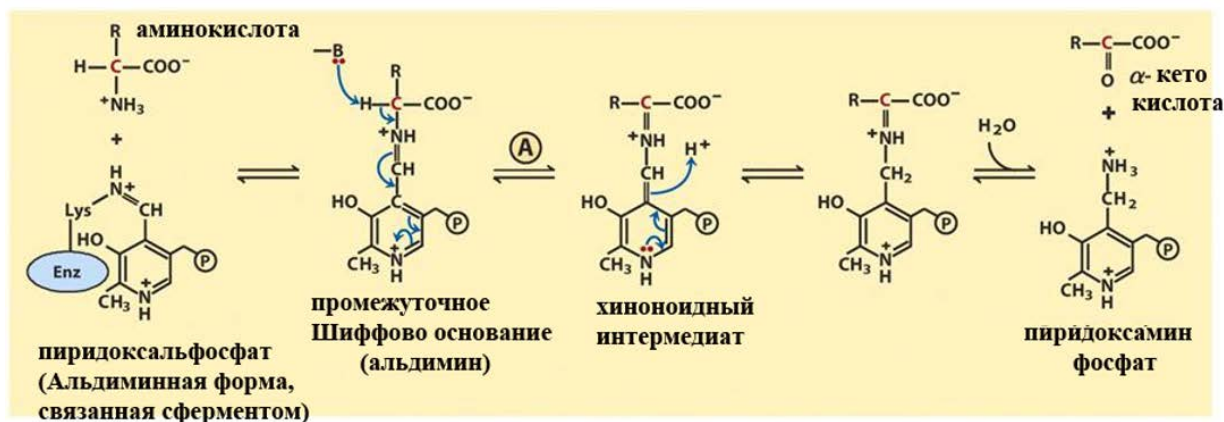


Рис. 13.17. Присоединение аминогруппы к пиридоксаль-фосфату.

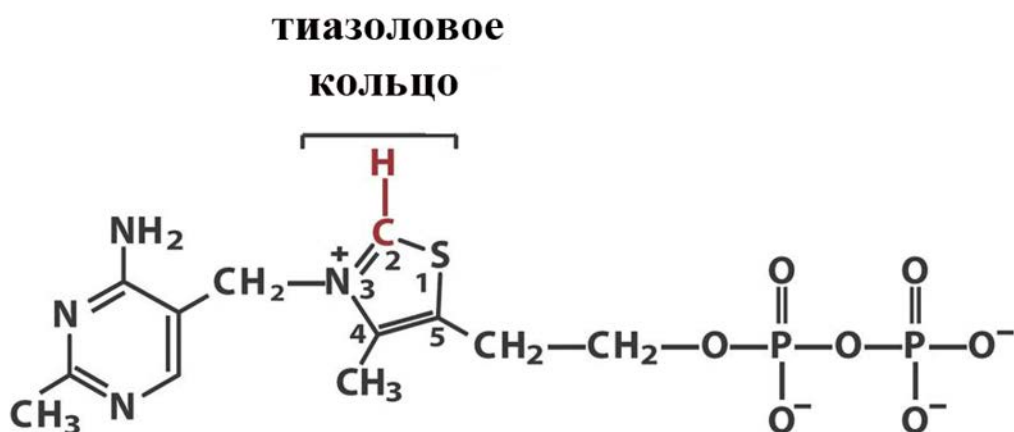


Рис. 13.18. Тиаминпирофосфат

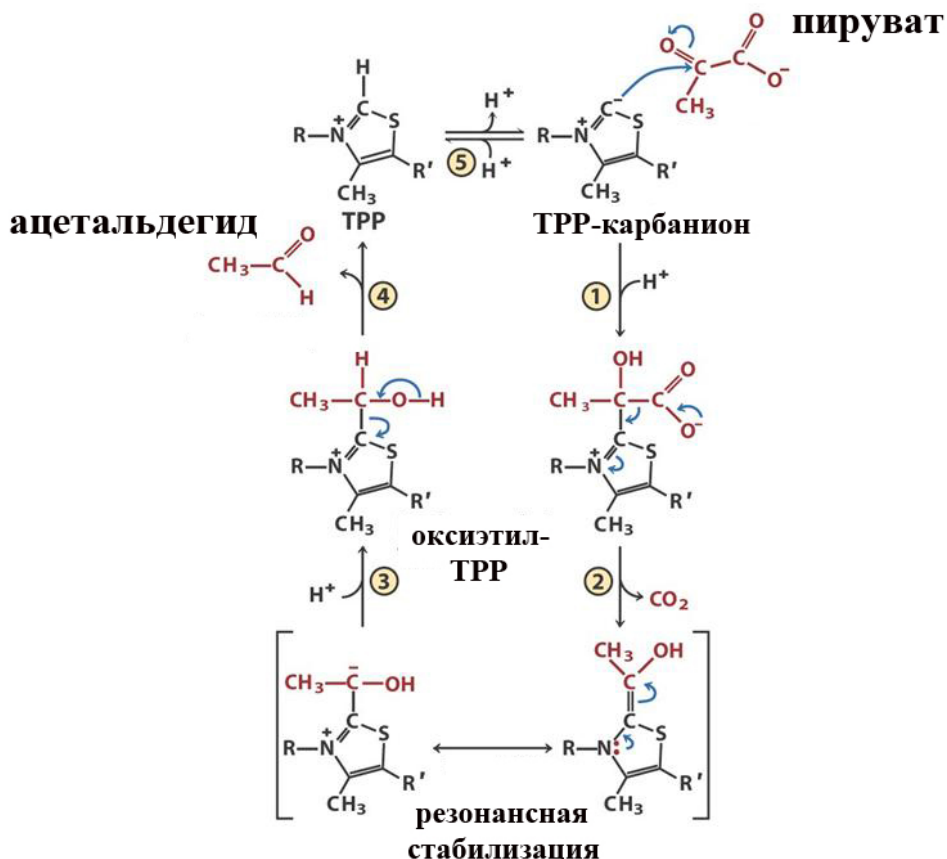


Рис. 13.19. Реакция с участием тиаминпирофосфата.

Другой кофермент, переносящий группы – тиаминпирофосфат (TPP). Основной реакционной группировкой в молекуле данного кофермента является тиазоловое кольцо (рис. 13.18). Оно содержит специфический атом углерода, который оттягивает электронную плотность от связанного с ним водорода. За счет этого данный водород может легко диссоциировать. Образующаяся при этом форма является стабильной и реакционноспособной.

Пример реакции, в которой участвует данный фермент, приведен на рисунке 13.19. Реакция начинается с взаимодействия TPP и пирувата с образованием промежуточного соединения. Далее оно изомеризуется, и полученная молекула протонируется с образованием нового промежуточного соединения, которое далее превращается в ацетальдегид и свободный TPP.

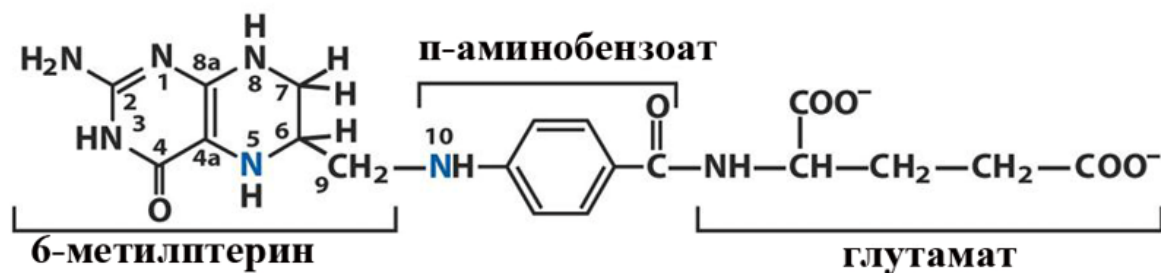


Рис. 13.20. Тетрагидрофолат

Относящиеся к птериновым соединениям тетрагидрофолаты являются производными птерина (рис. 13.21). Функцией тетрагидрофолатов является перенос и взаимные превращения одноуглеродных группировок. Кроме того, ТГФК может подвергаться окислению и восстановлению (рис. 13.22)

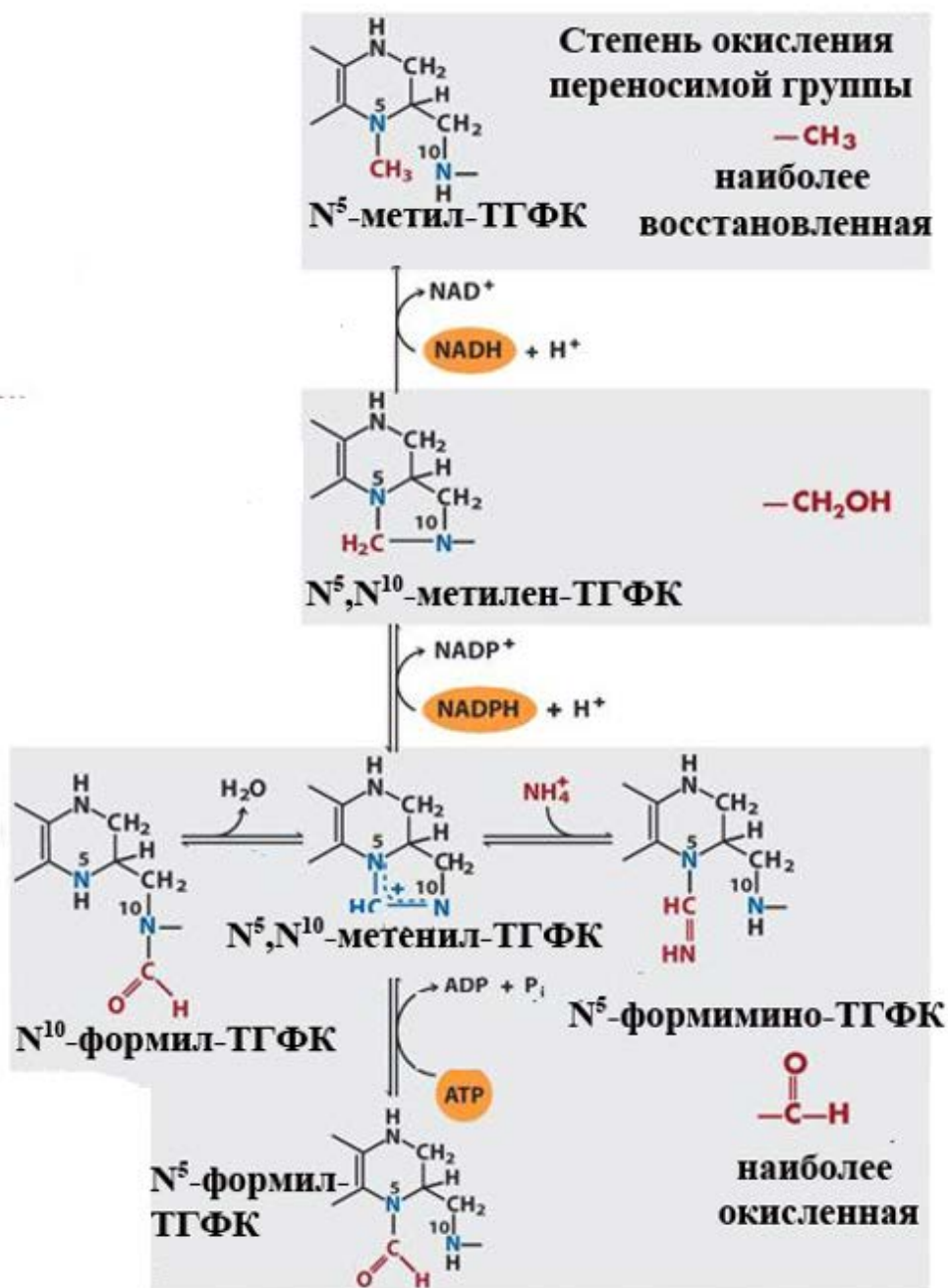


Рис. 13.21. Окисление и восстановление тетрагидрофолатов

Другой кофермент, цианокобаламин, может активировать участки углеводородных цепей и заменять водород при определенном углероде на какой-нибудь заместитель у этого атома (рис. 13.22). Как правило в роли этого заместителя выступает углеводородный радикал.

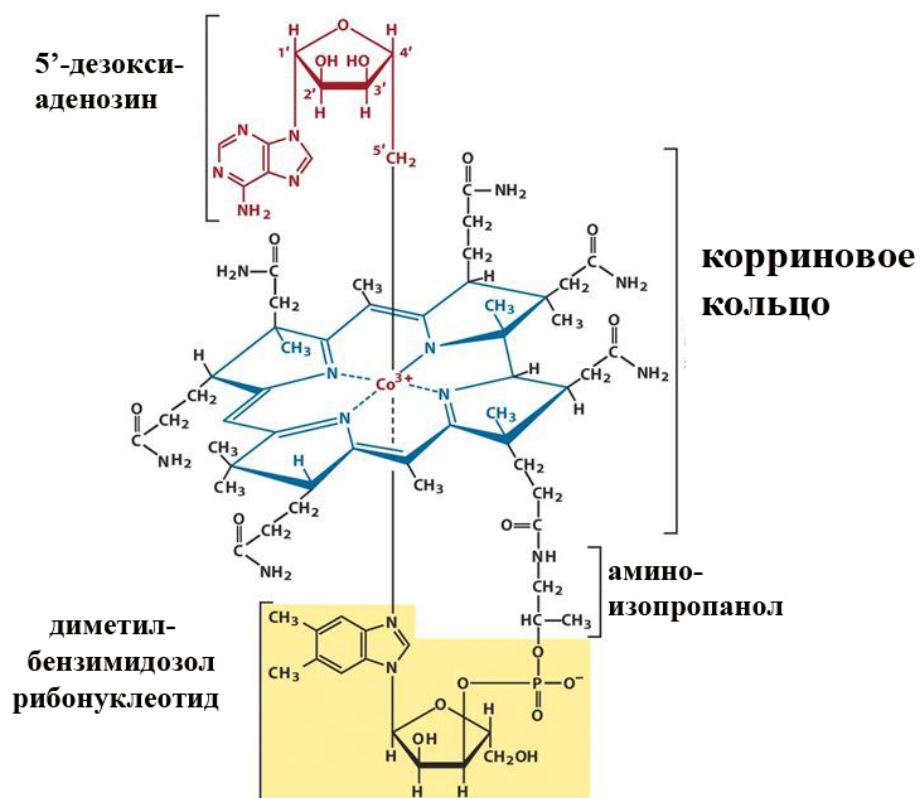


Рис. 13.22. Цианокобаламин

Лекция 14. Мембраны

14.1. Мембраны и транспорт

В клетке процессы пространственно разделены компартментами клетки, часть процессов также связана с обменом веществом со средой и окружающими клетками. Поэтому важен транспорт продуктов реакции, реагентов и ферментов. Мембрана, как барьер между клеткой и средой, играет в этом распределении веществ не последнюю роль.

14.2. История изучения мембран. Модель сандвича.

Цитоплазматическая мембрана не видна в световой микроскоп. Обнаружение мембран стало возможным благодаря выделению определённых фрагментов мембран и использованию электронного микроскопа (рис. 14.1). На первых фотографиях мембрана выглядит как две тонкие плёнки, между которыми находится более толстый слой. Из-за того, что препарат был дополнительно окрашен гидрофильным веществом, было решено, что более толстый слой – это липиды, а по краям – белки. Так, было решено, что цитоплазматическая мембрана устроена по модели сандвича: с обеих сторон мембрана состоит из расположенных по краям слоёв белков, между которыми находится слой липидов.

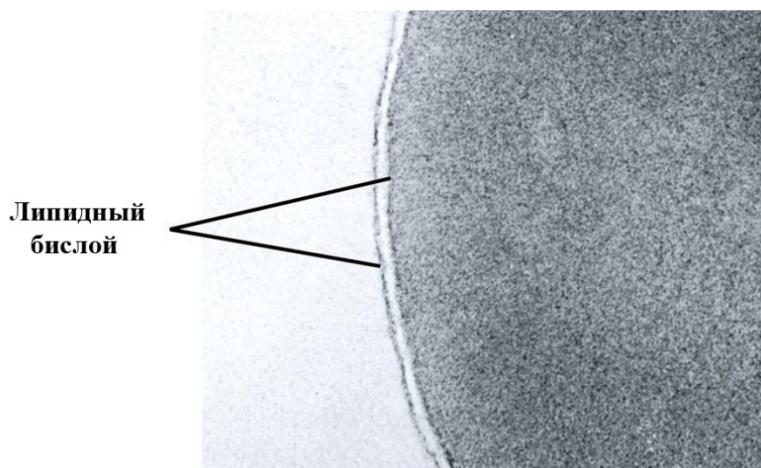


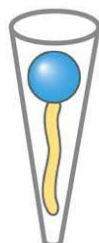
Рис. 14.1. Электронная микрофотография клеточной мембраны.

Однако, такая модель не выдержала критики. Сплошной липидный слой препятствовал бы прохождению гидрофильных веществ. Также было показано, что белки в мембране связаны по-разному.

14.3. Мозаичная модель мембраны

Развитие методов микроскопии и структурного анализа привело к формированию **мозаичной модели мембраны**. Согласно ей, белки и липиды формируют общий слой. При этом белки строго локализованы, а липиды заполняют промежуточное пространство.

В полярных липидах есть гидрофильные «головы» и длинные гидрофобные «хвосты». В растворе они могут агрегировать с образованием различных структур. Так, относительно простые липиды в раствор будут образовывать **мицеллы** (рис. 14.2). Отдельная молекула образует своего рода конус. Из большого количества таких конусов и складывается шарообразная мицелла.



**Коническая элементарная единица
(поперечное сечение через “голову”
больше, чем через боковую цепь)**

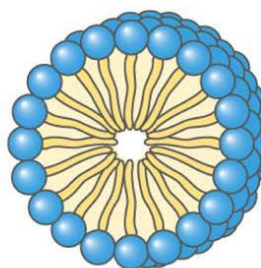
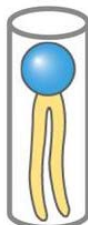


Рис. 14.2. Мицелла и её структурный компонент.

Мембранные липиды обычно имеют два гидрофобных длинных хвоста. Тогда одна молекула будет образовывать подобие цилиндра, имея примерно одинаковую толщину по всей своей длине. Слипаясь, такие молекулы образуют сплошной слой. При определённом уровне диспергирования два таких слоя могут слиться между собой гидрофобными хвостами с образованием липидного бислоя (рис. 14.3). Этот слой является основой всей мембраны.



**“цилиндрическая” единица
(поперечное сечение через “голову”
и боковую цепь одинаковы)**

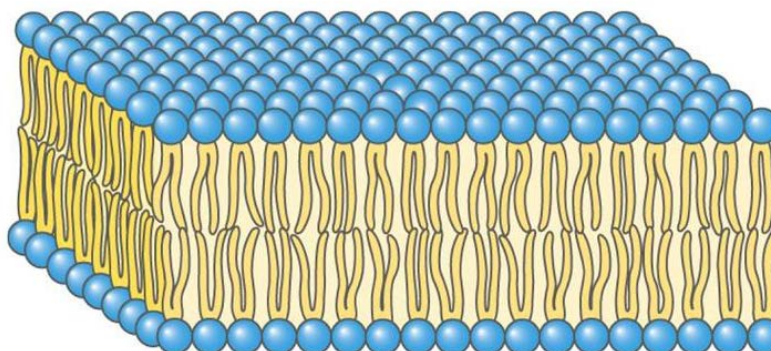
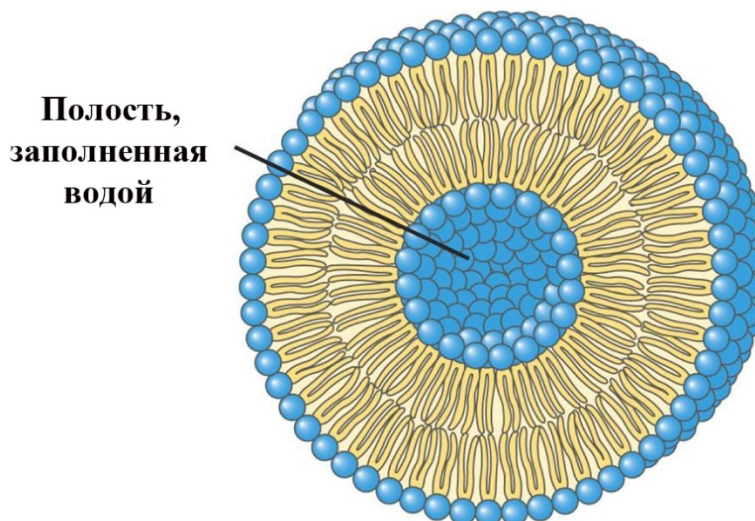


Рис. 14.3. Липидный бислой.

Липидный бислой может сомкнуться в одну трёхмерную структуру, если осмотическое давление с обеих сторон от него будет одинаковым. Образуется липосома (рис. 14.4). Фактически, липосома – это замкнутая структура, образованная липидной мембраной, внутри которой есть полость.

*Рис. 14.4. Липосома.*

14.4. Распределение липидов в слоях

Липиды в составе бислоя весьма разнообразны. Их количественный и качественный состав может различаться у разных типов клеток, а также во внутреннем и внешнем слое (табл. 14.1). Определённые липиды более характерны для внешнего монослоя (фосфатидилхолин, сфингомиелин), другие же чаще встречаются во внутреннем монослое (фосфатидилэтаноламин, фосфатидилсерин). Такая асимметрия имеет свои функциональные причины и последствия, связанные с синтезом липидов, присоединением белковых компонентов, сигнальными путями.

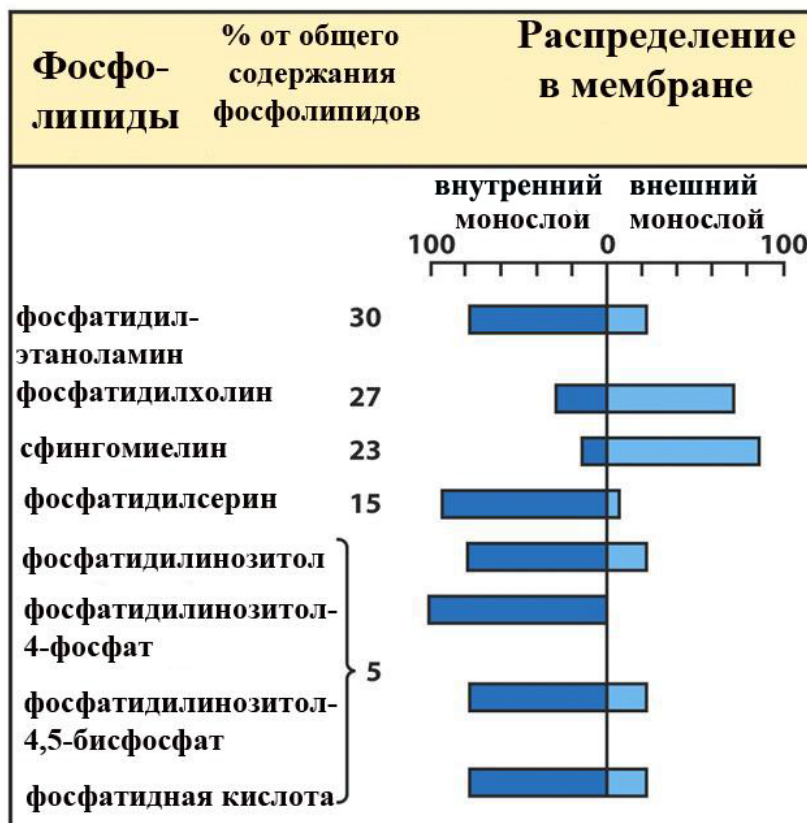


Табл. 14.1. Распределение различных групп фосфолипидов по слоям в мембране эритроцитов.

14.5. Латеральная диффузия липидов

Липиды связаны между собой Ван-дер-Ваальсовыми взаимодействиями, поэтому молекулы подвижны друг относительно друга. В мембранах из-за этого возникает **латеральная диффузия липидов**. Липидная молекула в мембране за счёт теплового движения может поменяться местами с соседними молекулами и переместиться на какое-либо расстояние (рис. 14.5). Такой процесс идёт очень быстро

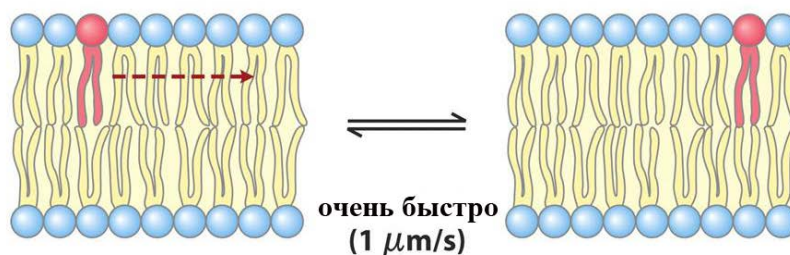


Рис. 14.5. Некатализируемая латеральная диффузия.

14.6. Перескок липидов между слоями (флип-флопы)

С некоторой вероятностью за счёт теплового взаимодействия возможен перескок липида из одного слоя мембраны в другой. Это явление получило название флип-флоп (рис. 14.6.). Но скорость этого процесса очень маленькая.

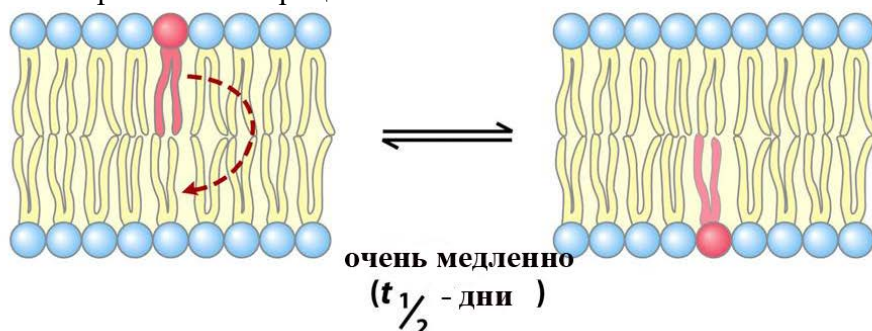


Рис. 14.6. Некатализируемая трансмембранная диффузия (флип-флоп).

У клетки есть механизм, поддерживающий асимметрию мембран. Существует ферментная система, занимающаяся переносом определённых липидов с одного монослоя на другой. Такие ферменты назвали **флиппазы** (рис. 14.7). Белок связывается с необходимым липидом, перестраивается, изменяя конформацию и перенося закреплённый липид на другую сторону. Этот процесс идёт достаточно быстро.

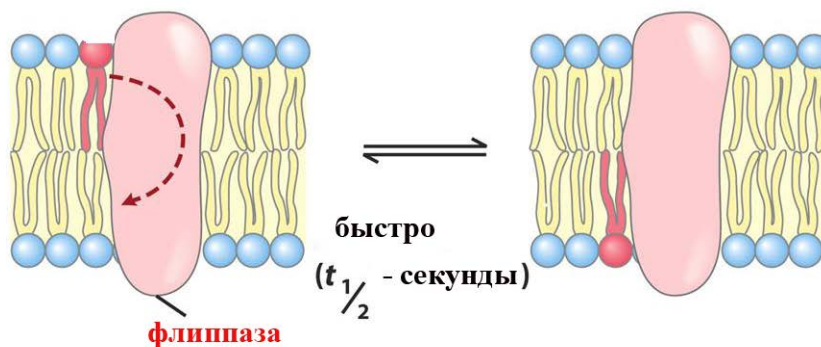


Рис. 14.7. Трансмембранная диффузия, катализируемая флиппазой.

14.7. Соотношение белков и липидов

Белки – один из основных компонентов мембраны наряду с липидами. Во многих мембранах белков и липидов примерно поровну, а в некоторых случаях белков заметно больше, чем липидов. Для некоторых мембранных белков, выделенных в чистом виде, была показана возможность самостоятельно слипаться в слой, который, к сожалению, будет проницаем.

В среднем на одну молекулу белка приходится около 40 липидных молекул. Липиды служат прежде всего для заполнения промежутков между белками и создания относительно непроницаемой поверхности.

14.8. Агрегатные состояния липидов

В зависимости от степени ненасыщенности «хвостов» липидов меняется агрегатное состояние липидной смеси: чем больше ненасыщенных жирных кислот, тем ниже температура плавления смеси. Липиды, образующие мембраны также могут присутствовать в разных агрегатных состояниях. При определённых температурах они плотно слипаются друг с другом или наоборот переходят в псевдо-жидкое состояние. Это приводит к разной подвижности компонентов в составе мембраны.

Экспериментально показано, что клеткам выгодно поддерживать мембрану в состоянии «на границе» температуры плавления для обеспечения подвижности белков, встроенных в мембрану, и их взаимодействия между собой.

14.9. Периферические и интегральные мембранные белки

На рис. 14.8 показаны различные варианты вхождения белков в состав мембран. Есть белки, которые присоединяются к мембране, не входя в её структуру, а «прилипая» к её поверхности в основном за счёт ионных связей. Такие белки называются **периферическими**.

Другая группа белков встраивается в мембрану, пронизывая её. Такие белки называются **интегральными** или **пронизывающими**. У таких белков почти всегда есть внешние компоненты, направленные в среду. Они очень часто гликозилированы.

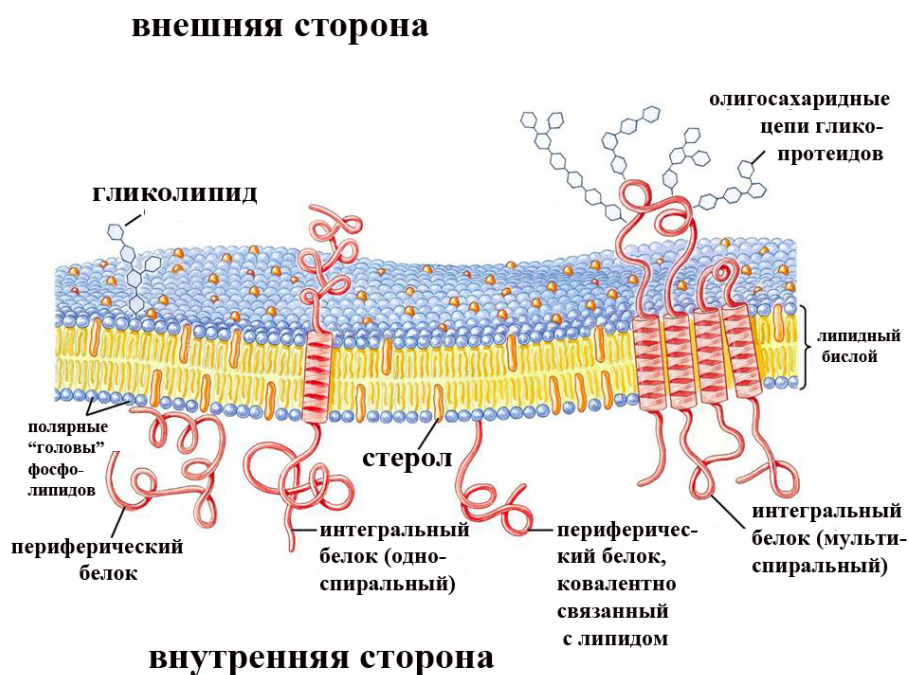


Рис. 14.8. Различные варианты вхождения белков в состав мембран.

Как правило, у трансмембранных белков N-конец находится на внешней стороне мембраны, а C-конец на внутренней.

Периферические белки относительно легко отделить от мембраны. Достаточно бывает изменить ионную силу раствора для разрушения связей между белком и липидным бислоем. Также можно изменить, к примеру, pH раствора, что приведёт к изменениям конформации белка.

Интегральные белки выделить сложнее. Ликвидировать сильные взаимодействия с липидным бислоем можно порой только за счёт различных детергентов (рис. 14.9). Но такие детергенты зачастую вызывают денатурацию белка. Фактически, задача детергента – имитировать структуру мембраны. Также при дальнейшей работе с таким белком необходимо учитывать налипание небелкового компонента.

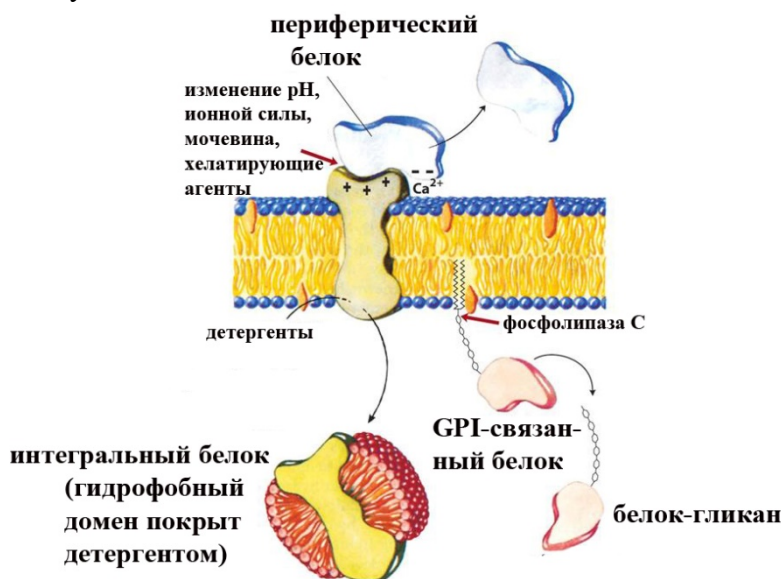


Рис. 14.9. Удаление различных видов белков из мембраны.

14.10. Заякоривание белков в мембране

Заякоривание белков в мембране через **GPI-якорь** основано на ковалентном присоединении белка к определённым липидам-производным инозита через углеводный мостик. Для получения таких связей и получения соответствующих белков производят обработку образца фосфолипазой для разрыва связи с инозитол-фосфатом.

GPI-якорь – не единственный способ зафиксировать подобным образом белковую молекулу на мембране. Другие варианты заякоривания приведены на рис. 14.10. Чаще всего в таких случаях к белку пришиваются гидрофобные группировки, не являющиеся компонентами мембраны. Присоединение может идти через жирные кислоты: пальмитиновую или меристиловую. Также может присоединяться достаточно массивный и более длинный фарнезильный остаток. Во всех перечисленных случаях белки локализованы на поверхности, но при этом прочно зафиксированы на мембране.



Рис. 14.10. Различные варианты заякоривания белков на мембране.

Трансмембранные белки также могут крепиться к мембране различным образом (рис. 14.11). Как правило, во внешнюю сторону выходят N-концевые группы. Выход C-концевых структур также происходит, но это чаще всего является результатом дополнительной перестройки белковой молекулы. Трансмембранный белок может изначально иметь в своём составе несколько α -спиралей, а может быть образован несколькими отдельными α -спиралями. В обоих случаях спирали будут обычно располагаться вдоль друг друга и проходить сквозь всю мембрану. Существуют также смешанные варианты, когда трансмембранный белок дополнительно заякорен.

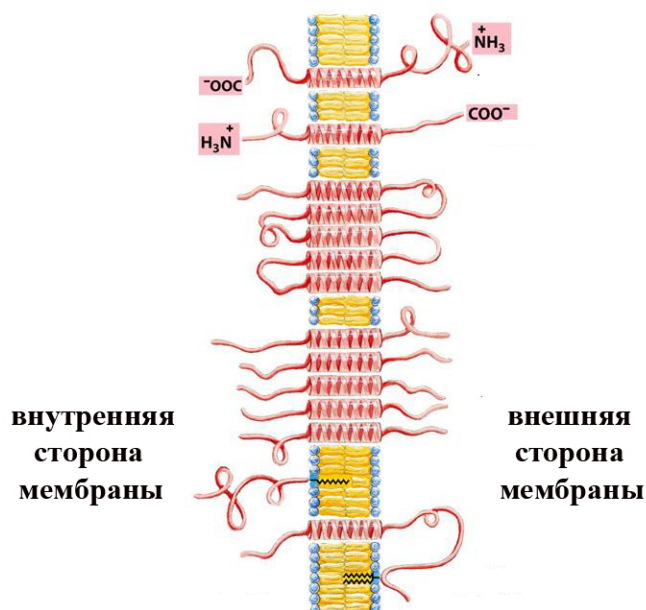


Рис. 14.11. Закрепление трансмембранных белков на мембране.

14.11. Коэффициент гидропатии

Для трансмембранных белков характерно очень специфическое распределение различных групп аминокислот. В α -спирали, находящейся внутри мембраны, будут преобладать гидрофобные остатки. На рис. 14.12 это свойство показано на основе гликофорина мембраны эритроцитов.

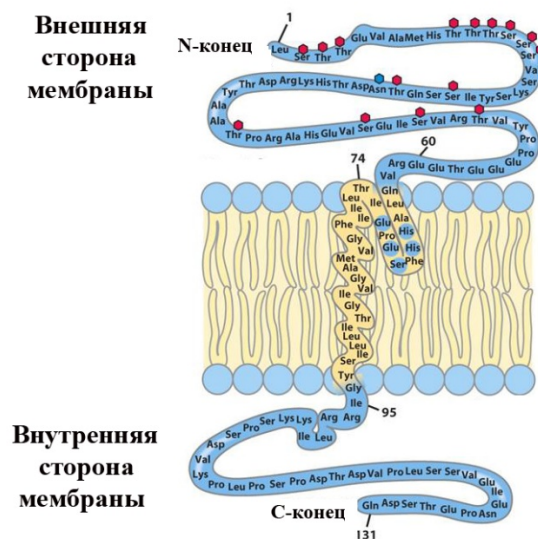


Рис. 14.12. Гликофорин мембраны лейкоцитов

На основе этого свойства часто определяют ещё на стадии расшифровки аминокислотных последовательностей, может ли белок являться трансмембранным. Вводится определённый параметр для аминокислот, называемый **коэффициент (индекс) гидропатии**. Этот параметр показывает распределение аминокислоты в равновесной системе бензол-вода. После добавления аминокислоты в водно-бензольную смесь и перемешивания измеряется количество аминокислоты, растворённой в одной из фаз.

Этот коэффициент различен для каждой аминокислоты. Последовательность аминокислот сканируют на наличие таких остатков, при чем смотрят скорее на рамку из нескольких остатков, чем на каждый отдельный остаток.

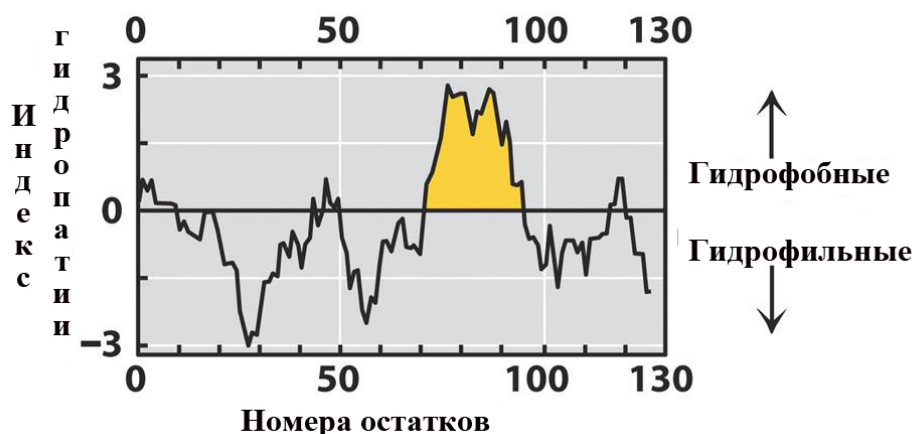


Рис. 14.3. Индекс гидропатии для гликофорина.

На графике распределения коэффициентов гидропатии гликофорина (рис. 14.3) выделяется один гидрофобный участок. Этот участок является трансмембранным. Зависимость распределения от наличия трансмембранной группы была однозначно показана ещё на некоторых белках и была принята за достоверную.

Но такой способ идентификации не годится для белков, образующих β -баррели. В таких структурах наблюдается постоянное чередование гидрофильных и гидрофобных остатков, что не даёт получить чёткий пик.

14.12. Транспорт через мембрану

Наличие путей прохода различных веществ через мембрану крайне важно. Небольшое вещество может диффундировать в мембрану, если оно имеет гидрофобную природу, и затем с какой-то долей вероятности проходить на другую её сторону. При этом оно будет накапливаться в мембране. Особо гидрофобное вещество может пройти сквозь мембрану с помощью специальных внешних связывающих белков. Так, например, происходит со стероидами.

С гидрофильным веществом возникает проблема, поскольку оно не может внедриться в мембрану из-за гидратированности. Такая диффузия напрямую через

мембрану означает избавление от водной оболочки, что энергетически очень невыгодно (рис. 14.4 А).

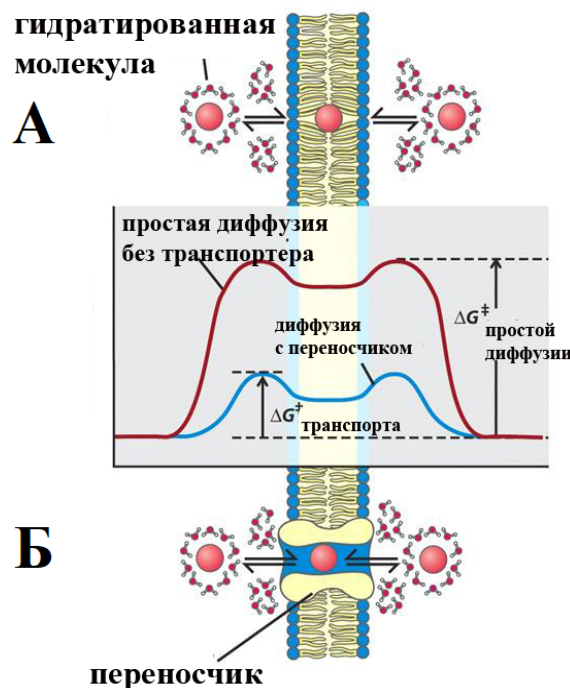


Рис. 14.4. Транспорт гидратированной молекулы через мембрану А – простой диффузией, Б – облегчённой диффузией

14.13. Облегчённая диффузия

Для понижения энергетического барьера используются специальные трансмембранные **белки-переносчики** (рис. 14.4 Б). Они способны дегидратировать молекулу за счёт взаимодействия с ней. Внутри белка-переносчика присутствуют специальные группы, которые обеспечивают последовательное взаимодействие с веществом и продвижение его по каналу переносчика в нужную сторону.

Но такой перенос будет эффективным только в случае, если он будет осуществляться по электрохимическому градиенту. Такой процесс получил название **облегчённая диффузия**. По такому принципу в клетке работают ионные каналы.

14.14. Транспорт за счёт переносчиков.

В клетках существуют и другие виды транспорта веществ. Так, например, существует **регулируемая облегчённая диффузия**. Эти каналы открыты не постоянно и могут открываться и закрываться под действием сигналов.

Возможен также транспорт веществ за счёт специальных низкомолекулярных молекул-переносчиков, которые связываются с транспортируемыми молекулами. Антибиотик валиномицин таким образом переносит ионы калия. Низкомолекулярные переносчики в общем случае имеют гидрофобную природу и связывают гидрофильные

соединения. Такой транспорт встречается в случае синтеза сложных внеклеточных веществ (клеточная стенка растений).

14.15. Активный транспорт

При активном транспорте веществ через мембрану транспорт идёт против градиента концентрации за счёт энергии, как правило, АТФ. Перенос вещества через мембрану и распад АТФ сопряжены между собой.

Такой переносчик имеет три основных конформационных состояния в зависимости от лиганда, с которым осуществляется взаимодействие: свободный фермент, фермент + АТФ и фермент + АДФ.

У белка есть внешние открытые области, куда могут присоединяться транспортируемые вещества. Также внутренняя же часть как раз и осуществляет конформационный переход между тем, в какую сторону открыт проход. АТФ необходима как раз для обеспечения однонаправленности таких переходов. Обратный процесс может теоретически возникнуть, если разница между концентрациями будет слишком высока, но это очень маловероятно.

Таким образом работает первичный активный транспорт. Создаваемый в ходе такого транспорта градиент и наличие свободной энергии может способствовать транспорту других веществ, то есть вторичному активному транспорту. Природа веществ может при этом быть различна (рис. 14.6).

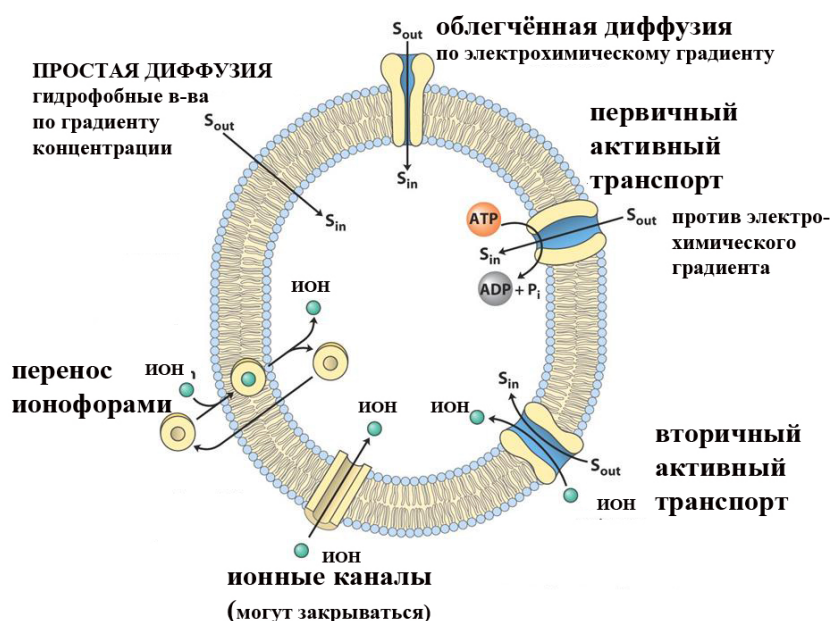


Рис. 14.5. Различные виды активного и пассивного транспорта

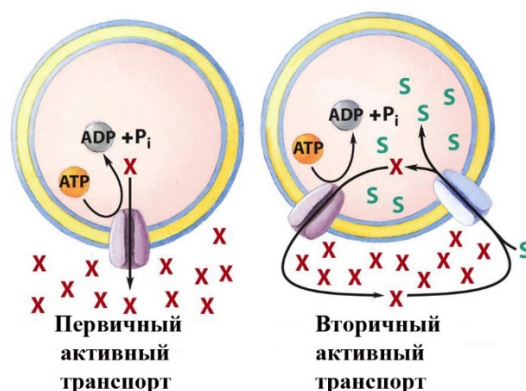


Рис. 14.6. Схема работы первичного и вторичного активного транспорта.

Возможны варианты сопряжения транспорта нескольких веществ. Когда такого сопряжения нет, происходит **унипорт**. Если сопряжение есть, наблюдается **котранспорт**. Когда транспорт одного вещества сопряжен с другим и при этом направлен в ту же сторону, это **синпорт**. Если же транспорт веществ сопряжен, но они идут в разные стороны, это антипорт (рис. 14.7).

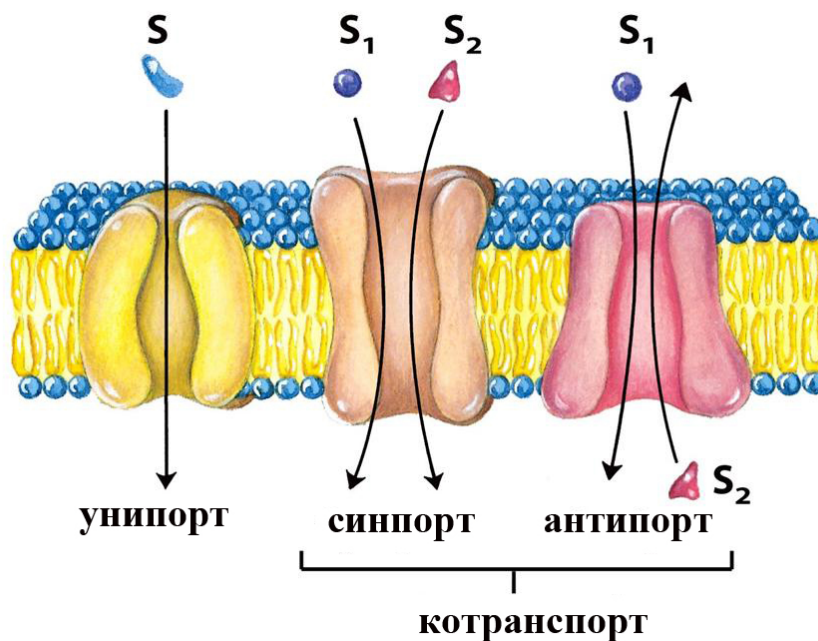
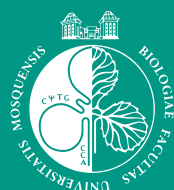


Рис. 14.7. Различные варианты сопряжения транспорта веществ



БИОЛОГИЧЕСКИЙ
ФАКУЛЬТЕТ
МГУ ИМЕНИ
М.В. ЛОМОНОСОВА



teach-in
ЛЕКЦИИ УЧЕНЫХ МГУ

