



ФИЗИЧЕСКИЙ
ФАКУЛЬТЕТ
МГУ ИМЕНИ
М.В. ЛОМОНОСОВА

teach-in
ЛЕКЦИИ УЧЕНЫХ МГУ

ВВЕДЕНИЕ В БИООРГАНИЧЕСКУЮ ХИМИЮ

ШНОЛЬ
СИМОН ЭЛЬЕВИЧ

ФИЗФАК 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).

Оглавление

Лекция 1. Развитие теории матричного синтеза. История развития идеи матричного синтеза.....	5
1.1. Структура нуклеиновых оснований, нуклеозидов и нуклеозид фосфатов... 6	6
1.2. Оптические свойства молекул и их роль в биохимии. Фермент и ферментация.	8
1.3. Сопряжённые реакции в живых системах.	8
Лекция 2. Роль химических соединений в жизни организмов.....	10
2.1. Роль фосфора в функционировании живых систем.	10
2.2. Никотинамидадениндинуклеотид.....	10
2.3. Метаболизм АТФ. Первая модель эволюции.	11
2.4. Сахара и полисахариды.	12
2.5. Коферменты.	13
Лекция 3. Роль молочной кислоты, ядовитые вещества, гликолиз.....	16
3.1. Молочная кислота.	16
3.2. Отравляющие вещества.	17
3.3. Гликолиз.	18
Лекция 4. Анаэробные реакции.....	21
4.1. Молочная кислота в мышечном сокращении.	21
4.2. Полное окисление глюкозы.	21
4.3. Энергетические характеристики жизни.	22
4.4. Роль никотинамидадениндинуклеотида в процессе гликолиза.	22
4.5. Карнозин и креатинфосфат.	23
4.6. Киназные реакции в гликолизе.	24
Лекция 5. Макроэргические молекулы, цикл Кребса.	26
5.1. Декарбоксилирование α -кетокислот.....	26
5.2. Липоевая кислота.	26
5.3. Цикл Кребса.	29
5.4. Гем.	31
Лекция 6. Пигменты и дыхание.	33
6.1. Порфирины.	33
6.2. Цитохром.....	33

6.3. Роль пигментов в дыхании.	34
Лекция 7. Превращение полисахаридов.	36
7.1. Полисахариды в природе.	36
7.2. Метаболизм полисахаридов.	36
7.3. цАМФ.	37
7.4. Авидин-биотин.	38
Лекция 8. Схема метаболических путей.	40
8.1. Катаболизм белков.	40
8.2. Катаболизм липидов.	42
8.3. Анаболизм. Фотосинтез.	43
8.4. Регуляция.	43

Лекция 1. Развитие теории матричного синтеза. История развития идеи матричного синтеза.

За последние 70 лет сформировалось целостное понимание физических основ жизни в рамках науки биохимии. Так, в конце 19-ого века немецкий биолог Август Вейсман выдвинул гипотезу, согласно которой вся наследственная информация содержится в хромосомах. Он условно разделял все организмы на две части, одна из которых отвечала за хранение и передачу информации (бессметная зародышевая плазма), а другая – за «обслуживание» первой (бренная сома). Для того времени мысль о том, что в хромосомах находится всё, что необходимо для дальнейшего развития организма, была революционной. Александр Андреевич Колли, русский химик-органик, поставил это заявление под сомнение, аргументируя это тем, что хромосомы слишком малы, чтобы содержать информацию обо всём многообразии признаков живого организма (данное утверждение было названо парадоксом Колли).

В 1927 году русский профессор химии Николай Константинович Кольцов высказал предположение, что выполнять такие обширные и фундаментальные функции хромосомам позволяют входящие в их состав длинные полимерные молекулы, мономеры которых эквивалентны буквам в тексте. Таким образом, Кольцов ввёл понятие «наследственного текста». Кроме того, он предположил, что информация в хромосомах копируется подобно репликам на матрицах. В те времена химический состав основных компонентов клетки был определён лишь частично. Так, было известно, что белки состоят по большей части из аминокислот, что и натолкнуло Николая Константиновича на мысль об их участии в хранении и передаче информации в хромосомах. Учитель Кольцова Михаил Александрович Мензбир хоть и склонялся к информационной роли хромосом, осуждал интерес своего ученика к молекулярному составу клеток, а так же к революционной деятельности, что привело к спору между двумя учёными.

Основным популяризатором идей Кольцова в советские годы стал Николай Владимирович Тимофеев-Ресовский. Из-за его блестящих навыков ораторского мастерства, идею о белках как о переносчиках наследственной информации стали приписывать ему, а не Николаю Константиновичу Кольцову.

Примерно в то же время советский биохимик Александр Иванович Опарин написал статью, посвящённую зарождению жизни, в рамках программы популяризации наук. В этой статье он впервые вводит понятие «первичного бульона» и утверждает, что жизнь могла возникнуть исключительно под действием химических реакций. Концепция Опарина снискала популярность и получила название «теории возникновения жизни Опарина», хотя сама по себе имела множество слабых мест.

В 1953 году в СССР был организован симпозиум, на котором Стэнли Миллер, ученик первооткрывателя дейтерия Гарольда Юри, изложил результаты своего эксперимента. Он смешал в колбе минеральные вещества: растворы аммонийный солей, сульфатов и фосфатов и пропустил через полученную смесь электрический разряд. В результате образовалась густая смола, которую Миллер проанализировал с помощью хроматографии и показал, что в её составе содержатся аминокислоты и

азотистые основания (нуклеиновые основания). Таким образом, компоненты живых систем могли появляться самопроизвольно в ходе химического синтеза, однако начало биологической эволюции стало возможным только с образованием матричных молекул.

1.1. Структура нуклеиновых оснований, нуклеозидов и нуклеозид фосфатов.

Дальнейшие исследования показали, что такими матричными молекулами являются нуклеиновые кислоты, в состав которых входят нуклеиновые основания. Последние представлены двумя классами соединений: пуринами и пиримидинами (Рисунок 1.1.).

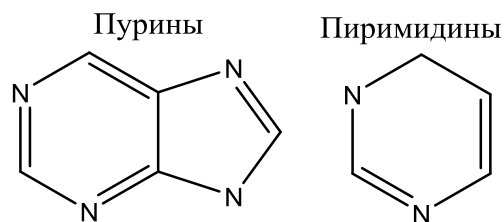


Рисунок 1.1. Структура пуринов и пиримидинов.

Пурины и пиримидины – плоские молекулы, которые способны образовывать комплементарные пары. Так, 6-аминопурин или аденин (А) образует комплементарную пару с тиминотом (Т) (Рисунок 1.2.), а гуанин (Г) с цитозином (Ц). При этом пара А=Т соединена двумя связями, а Ц≡Г – тремя.

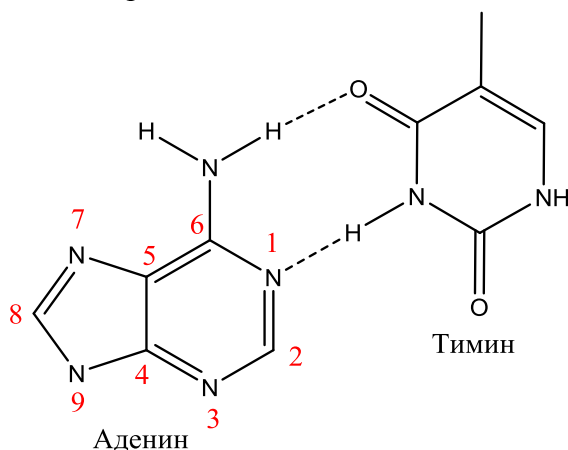


Рисунок 1.2. Структура комплементарной пары аденин-тимин.

Нуклеиновые основания могут реагировать с сахарами с образованием нуклеозидов (Рисунок 1.3.)

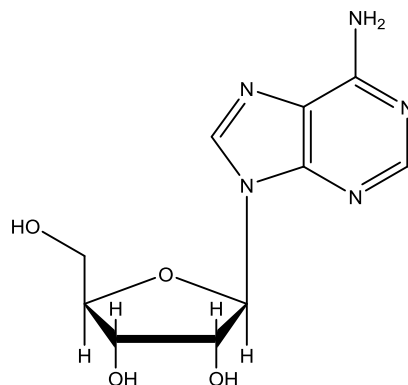


Рисунок 1.3. Аденозин.

Нуклеозиды, в свою очередь, могут включать в свой состав остаток фосфорной кислоты, и при этом полученное соединение представляет собой мономер нуклеиновой кислоты (Рисунок 1.4.).

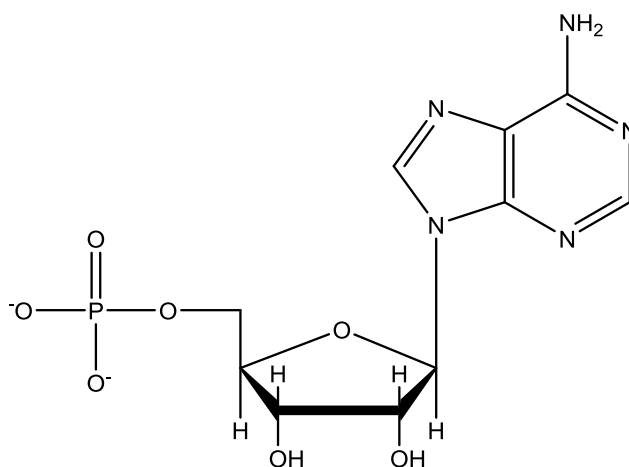


Рисунок 1.4. Аденозинмонофосфат.

Остатки фосфорной кислоты в молекулах нуклеозид фосфатов могут образовывать цепочки. Так, важной с точки зрения функционирования клетки является молекула аденозинтрифосфата или АТФ (Рисунок 1.5.).

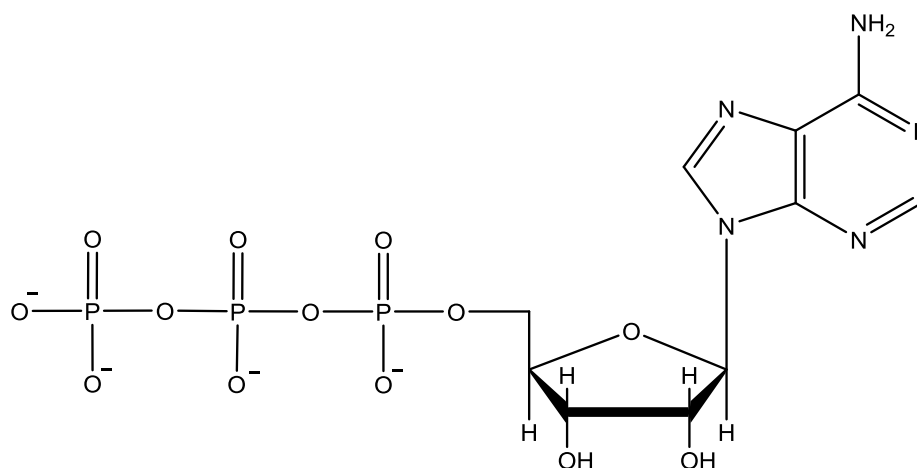


Рисунок 1.5. Аденозинтрифосфат.

1.2. Оптические свойства молекул и их роль в биохимии. Фермент и ферментация.

В конце девятнадцатого века под руководством Жана-Батиста Био, Луи Пастер смог разделить изомеры соли винной кислоты, тем самым сделав значительный шаг в понимании явления хиральности. Перекристаллизация винного камня приводила к образованию кристаллов, обладающих различной способностью вращать плоскость поляризованного света. Растворение отсортированных под лупой кристаллов приводило к получению растворов правой и левой форм винной кислоты, причём было показано, что дрожжи употребляют в пищу только одну из них.

Пастер делает вывод, что умение различать изомеры – это фундаментальное свойство живых систем. Кроме того, он показывает, что брожение – это функция живого организма, так как прогревание вина (позже названная в его честь пастеризацией) приводит к прекращению брожения и гибели дрожжей. Пастер утверждает, что ферментация (брожение), происходящая под действием фермента (в те времена под этим термином понимался живой организм), неотделима от свойства жизни.

С утверждение Пастера оказался не согласен немецкий биолог Юстус фон Либих, который считал, что ферментация происходит за счёт неких веществ, называемых энзимами, и их можно отделить от живого организма, то есть ферментация не является неразрывно связанной со свойством жизни.

Поставить точку в этом споре позволили опыты Марии Михайловны Манасеиной, которая высушила и нагрела культуру дрожжей, а затем приготовила экстракт из полученного порошка, к которому затем добавила сахар. При этом Мария Михайловна наблюдала процесс брожения, хотя живых дрожжей в растворе уже не было. Спустя почти двадцать лет немецкий химик Эдуард Бюхнер повторил опыт, приготавливая сахарные экстракты дрожжей для лечения детей. Он заметил, что в таких бездрожжевых экстрактах выделяется газ, а значит идёт процесс брожения. Именно после его статьи большинство учёных признало факт отделимости фермента (живого организма) от причины ферментации, а сам немецкий учёные получает за свое «открытие» Нобелевскую премию.

1.3. Сопряжённые реакции в живых системах.

Следующим шаг в понимании устройства жизни был сделан американским профессором Харденом и его студентом Янгом. В своём эксперименте они поместили в стакан с водой полупроницаемый мешок, мембрана которого была проницаемой для мелких молекул и непроницаемой для коллоидов. Этот процесс в современной биохимии называется диализом. Диализат, вышедший из мешка, был помещен в пробирки с сахаром, после чего учёные наблюдали в них процесс брожения. Более того, было показано, что процессу брожения способствует добавление дигидрофосфата натрия. В те времена роль соли фосфора в процессе ферментации была неочевидна, однако важно помнить, что именно вокруг этого элемента строится вся энергетическая система клетки.

Параллельно в лаборатории Вильгельма Оствальда российский химик Николай Александрович Шилов, бывший ученик Николая Дмитриевича Зелинского, изучает сопряжённые химические реакции и показывает, что некоторые реакции идут самопроизвольно в присутствии других реакций, но не протекают в их отсутствии. То есть в ходе одной реакции выделяется тепло, необходимое для протекания другой реакции. Именно это исследование позволило понять, как в живых системах могут протекать термодинамически невыгодные реакции, и почему организмы не подвержены тепловой «смерти». Постоянный приток энергии, обеспечиваемый Солнцем, даёт возможность эндотермическим реакциям, поддерживающим жизнь.

Лекция 2. Роль химических соединений в жизни организмов.

2.1. Роль фосфора в функционировании живых систем.

Харден и Янг доказали, что соли фосфорной кислоты являются важным компонентом брожения. Однако понимание роли фосфора в функционировании живых систем пришло лишь спустя несколько десятков лет. Удивительным казалось, что именно фосфор, а не его соседи по таблице Менделеева, был так важен для клеток. Размышления на эту тему привели некоторых физиков к созданию «антропного принципа», согласно которому всё во вселенной было создано для того, чтобы развилась жизнь и человек, как венец её творения.

Исследования с соединениями фосфора проводились ещё в эпоху алхимии. Так, нагревание фосфорной кислоты в реторте приводило к образованию воды и сплавившегося осадка, который получил название пирофосфата. Энергетические свойства фосфора наблюдались при добавлении к остывшему осадку пирофосфата воды, что приводила к сильному разогреванию реакционной смеси. Только спустя несколько столетий стало понятно, какие реакции чувствовали в данном превращении.

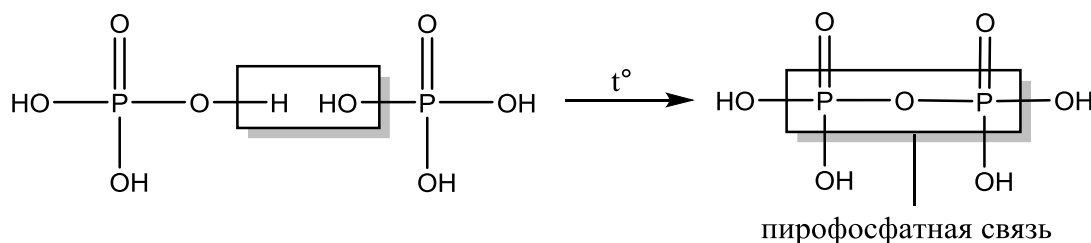


Рисунок 2.1. Образование пирофосфатной связи.

При нагревании две молекулы фосфорной кислоты взаимодействуют друг с другом с образованием пирофосфоной кислоты, при этом образуется макроэнергетическая пирофосфатная связь (Рисунок 2.1.). Именно её образование и расщепление поддерживает жизнь. Разрыв пирофосфатной связи по своей энергии сравним с энергией реакции нейтрализации, то есть реакции между щёлочью и кислотой.

В 1777 году французские ученые Антуан Лавуазье и Лаплас поставили опыт, поместив в калориметр сначала свечу, а потом мышь. При этом авторы эксперимента наблюдали примерно одинаковое выделение тепла и углекислого газа. Такое же соотношение выделяемого газа и тепла были получены при помещении в калориметр дрожжей в процессе брожения. Из чего Антуан Лавуазье делает следующий вывод: «Брожение – медленная жизнь».

2.2. Никотинамидадениндинуклеотид.

Эксперимента Хардена и Янга позволили определить не только важность фосфора для поддержания жизни. Спустя несколько лет им удалось выделить вещество, содержащее аденин, а так же следующий фрагмент:

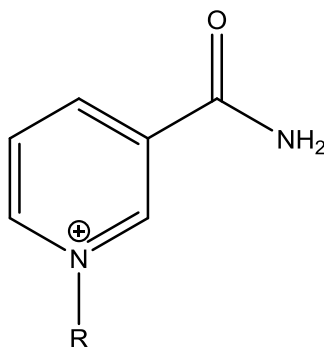
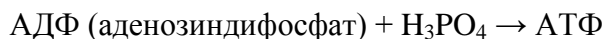


Рисунок 2.2. Фрагмент, выделенный Харденом и Янгом.

Спустя несколько лет немецкий химик Карл Нейберг сумел доказать, что выделенные Харденом и Янгом фрагменты принадлежат одной молекуле, в структуру которой помимо прочего входили фосфатные группы и углеводы. Позднее было показано, что данная молекула является никотинамидадениндинуклеотидом или НАД⁺ (NAD⁺).

2.3. Метаболизм АТФ. Первая модель эволюции.

В клетках постоянно протекают процессы распада и образования АТФ:



Расщепление АТФ в клетках происходит под действием группы ферментов, называемых АТФ-азами или аденозинтрифосфатазами.

Стоит вспомнить, что молекула АТФ состоит из трёх остатков фосфорной кислоты, сахара рибозы и аденина (Рисунок 1.5.), который, как было написано ранее, способен образовывать комплементарную пару с тиминном (Рисунок 1.2.).

Почему в природе отдается предпочтение именно аденину, как компоненту главной энергетической молекулы, до конца не ясно. Однако можно предположить, что если некоторые молекулы способны ускорять синтез других молекул (в первую очередь образование самих себя), они будут образовываться в большем количестве по сравнению с другими и тем самым с большей вероятностью войдут в состав первых клеток. Такая последовательность процесс называется первой эволюционной моделью.

Изменение в строении образующихся молекул называется изменчивостью. Появление у новых молекул свойств под действием изменчивости, которые ускоряли бы процесс их самокопирования, приводил бы к быстрому распространению этих новых молекул. Таким образом, низкокопийные матрицы уступали бы в борьбе быстрокопийным и, скорее всего, они не представлены в современных живых системах.

Биологическую эволюцию можно описать графиком, на осях которого будут отложены значения времени и некой трудноопределимой величины – «кинетического совершенства». При этом график будет иметь ступенчатую форму. «Кинетическое совершенство» увеличивается непостоянно, оно периодически выходит на плато. Большой вклад в представление эволюции как ступенчатого процесса внёс русский биолог Алексей Николаевич Северцев. Он же ввёл понятие ароморфоза, как некоего эволюционного изменения, усложняющего организацию.

Слабое место нуклеотидов – как первых участников эволюции заключаются в том, что при своей способности к самокопированию, они абсолютно не обладают каталитическими свойствами, так как представлены небольшим числом разных молекул. Вторым классом веществ, претендовавших на звание прародителей жизни, являлись аминокислоты (Рисунок 2.3.).

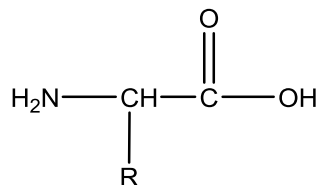


Рисунок 2.3. Структура аминокислот.

Аминокислоты – мономеры высокоспециализированных биополимеров, белков. Фундаментальной проблемой теории зарождения жизни является нерешённый вопрос о том, на каком этапе и как произошло объединение функций нуклеиновых кислот и белков. Парадоксальным образом начальный нуклеотидный период оказался сопряжён с аминокислотным периодом.

Таким образом, в биохимии выделяют три основных класса биополимеров: нуклеиновые кислоты, белки и полисахариды.

2.4. Сахара и полисахариды.

Наличие альдегидной группы придаёт сахарам гидрофильные свойства, которые позволяют им существовать в водных растворах. Наиболее знаменитым и один из первых открытых представителей этого класса веществ является глюкоза (Рисунок 2.4.).

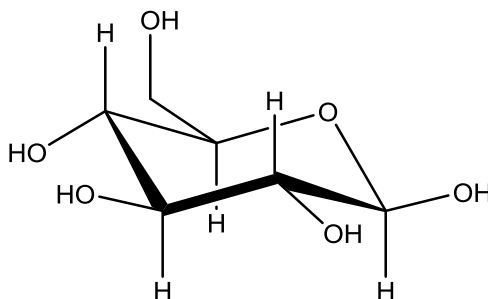


Рисунок 2.4. α -D-Глюкоза.

Глюкоза способна образовывать полимерные цепочки за счёт взаимодействия гидроксильных групп при 1-ом и 4-ом атомах углерода (Рисунок 2.5.).

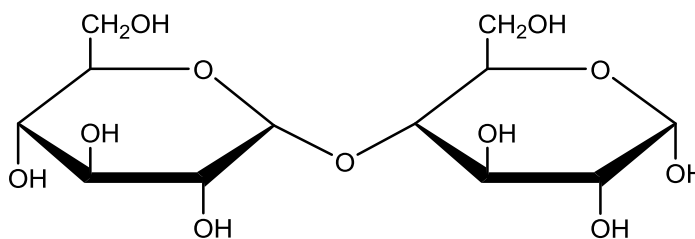


Рисунок 2.5. Мальтоза.

Длинные цепочки из глюкозы являются основой таких важных для функционирования организмов биополимеров, как крахмал и гликоген. Важность этих

полимеров обусловлена их способностью запасать и хранить излишки энергии, а так же растворимостью в воде.

Кроме того, к полимерам глюкозы относится целлюлоза, однако в ней связь образуется не между молекулами α -D-глюкозы (гидроксильная группа у первого атома углерода направлена вверх), а между молекулами β -D-глюкозы (гидроксильная группа у первого атома углерода направлена вниз). Целлюлоза нерастворима в воде, поэтому её основной функцией является структурная функция, а не запасующая. Связь, образованная молекулами β -глюкозы оказалась намного прочнее связи между молекулами α -глюкозы: расщепить её могут только некоторые виды бактерий.

2.5. Коферменты.

Возможности ферментов могут быть расширены за счёт введения в молекулы белков дополнительных небелковых групп. К таким небелковым группам относятся молекулы коферментов.

В своё время Юстус фон Либих основал аналитическую биохимию. Суть новой науки заключалась в определении точных концентраций компонентов живых систем. В те времена основным методом аналитической химии был весовой анализ, для чего готовились осадки исследуемых образцов, и с высокой точностью определялась масса. Либих сжигал компоненты живых систем до образования минеральных осадков и взвешивал их.

Именно Либиху удалось ограничить класс веществ, из которых состояли живые организмы. Этими классами оказались белки, жиры, углеводы, нуклеиновые кислоты, минеральные вещества и воды. В конце девятнадцатого века результаты эксперимента Либиха стали подвергаться сомнениям из-за проблем со здоровьем у детей: при том, что они потребляли необходимые количества всех определённых Либихом классов веществ, дети часто выглядели истощёнными и часто болели.

Найти недостающие компоненты помогли работы российского врача Николая Ивановича Лунина. Он проводил исследования на мышатах, которым предлагалась диета, составленная согласно постулатам Либиха: она состояла из сахара (источник углеводов), оливкового масла (источник жиров) и казеина (источник белков). Как ни странно, мышата не набирали в весе, хотя, казалось бы, их диета включала все основные классы биологически активных веществ. Тогда Николай Иванович решает добавить в рацион мышат немного непрогретого молока, при этом мыши начинали расти. Лунин сделал вывод, что помимо определённых Либихом классов веществ, в живых системах присутствуют ещё какие-то вещества в низких концентрациях, которые играют важную роль в работе организма.

В 1890-х годах на территории колонии Голландии, нынешней Индонезии, свою практику проходил голландский врач Христиан Эйкман. Он изучал причины заболеваемости в тюрьмах. В его распоряжении были тюрьмы двух разных классов: для состоятельных заключённых и для нищих. К удивлению Эйкмана здоровье заключённых в обеспеченных тюрьмах значительно уступало здоровью заключённых в тюрьмах для нищих. Многие состоятельные заключённые были подвержены

неизвестной болезни, которая на начальных этапах характеризовалась повышенной раздражительной и неспособностью сконцентрироваться, а заканчивалась смертью в судорогах с характерных запрокидыванием головы больного назад. Называется это заболевание бери-бери.

Эйкман проанализировал рацион питания заключённых в обоих видах тюрем. Оказалось, что состоятельным заключённым предлагался очищенный рис, в то время как нищие получали рис с шелухой. Эйкман провёл эксперимент на цыплятах, одних из которых кормил очищенным рисом, а других – рисом с шелухой. В итоге в первой группе цыплят наблюдался высокий процент смертности из-за развития болезни бери-бери, в то время как цыплята из второй группы вырастали во взрослых и здоровых куриц и петухов. Добавление отрубей к рациону цыплят, питающихся очищенным рисом, восстанавливало их здоровье, тем самым доказывая, что Либих был неправ, утверждая, что белков, жиров, углеводов, нуклеиновых кислот и минеральных веществ достаточно для поддержания здоровья организма.

Работы Эйкмана были продолжены польско-американским биохимиком Казимежем Функом. Он кипятил экстракты дрожжей, при этом над реакционной смесью устанавливалось охлаждённое часовое стекло, на котором образовывались мелкие кристаллы. Добавление таких кристаллов в рацион цыплят, позволяло предотвратить развитие болезни бери-бери. В 1915 году Функу удалось показать, что в составе вещества, образующего кристаллы, находится аминогруппа, в честь чего Казимеж называет его «витамином» или живым амином.

Витамины – это биологически активные вещества, необходимые для полноценного функционирования организма в очень небольших количествах. Так, бери-бери было вызвано недостатком в организме витамин B_1 или тиамина (Рисунок 2.6.).

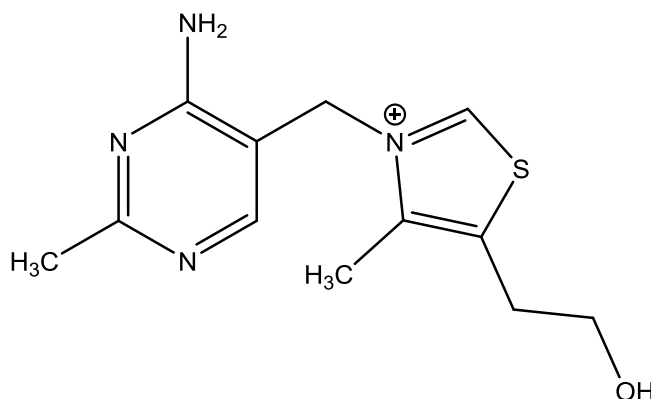


Рисунок 2.6. Витамин B_1 или тиамин.

Понимание состава и даже функций клеток, к сожалению, не позволяет найти ответы на все вопросы человечества. Так, загадка сознания не решена до сих пор, хотя строение мозга и клеток, его образующих, хорошо известно.

Такой же загадкой является образование жизни, так как до сих пор не ясно, как нуклеиновые кислоты и белки смогли объединиться для совместного самокопирования. Одно из возможных решений данного вопроса предложил немецкий химик Манфред

Эйган, разработавший теорию гиперциклов или способов объединения самовоспроизводящихся макромолекул в замкнутые автокаталитические химические циклы.

Лекция 3. Роль молочной кислоты, ядовитые вещества, гликолиз.

В конце девятнадцатого века Кольцов выдвигает гипотезу, пытаясь объяснить «парадокс Колли», согласно которой сохранить обилие информации в небольших молекулярных структурах можно за счёт матричного принципа воспроизведения наследственной информации. Последовательность мономеров в длинных полимерных цепях имеет смысл наследственного текста и воспроизводится по принципу «кристаллизации». Ответ Кольцова, однако, не отвечает на вопрос, какими свойствами должна обладать молекула, чтобы участвовать в процессе эволюции.

Как обсуждалось ранее, матрицы, основанные на последовательности нуклеиновых кислот, не подходят на роль первых молекул жизни, так как они не способны выполнять каталитические свойства. Хотя на данный момент это единственные биополимеры, способные хранить и воспроизводить информацию, в отличие от белков.

3.1. Молочная кислота.

На заре развития биохимии эксперименты строились вокруг изучения процесса брожения. Помимо этанола, учёным тех лет удалось выделить из суслу молочную кислоту. Так как эту молекулу выделяли на этапах, когда в составе суслу ещё не было этанола, было выдвинуто предположение, что молочная кислота является предшественником спирта в реакции брожения. Процесс образования молочной кислоты из сахара назывался «квашение».

Структура молочной кислоты была определена шведским химиком Карлом Вильгельмом Шееле. Оказалось, что она представляет собой α -оксипропионовую кислоту (Рисунок 3.1.). Кроме того, в начале двадцатого века Шееле разработал методику определения молочной кислоты, которая позволяла обнаруживать данное соединение в мышцах. Впоследствии за исследование метаболизма молочной кислоты в мышцах немецкий биохимик Отто Фриц Мейергоф и английский физиолог Арчибалд Вивиен Хилл были удостоены Нобелевской премии по медицине. Они показали, что чем больше физической работы выполнила мышца, тем больше в ней накопится молочной кислоты.

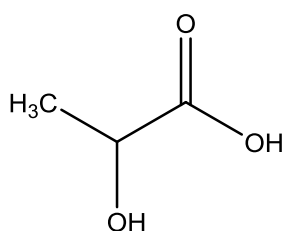


Рисунок 3.1. Молочная кислота (α -оксипропионовая кислота).

Свои опыты Мейергоф и Хилл проводили на портняжных мышцах лягушек, которые крепились к рычагу. При сокращении мышцы рычаг прогибался и выписывал линии на расположенной рядом ленте. При этом мышца была помещена в раствор, что позволяло собирать выделяющиеся из нее при сокращении вещества. В итоге учёные сделали вывод, что мышца сокращается за счёт образования молочной кислоты, а не

наоборот. Кроме того, Арчибалд Хилл проводил термодинамические опыты, пытаясь описать энергетическую составляющую мышечного сокращения.

3.2. Отравляющие вещества.

Во времена Первой мировой войны многие немецкие химики почувствовали в создании новых отравляющих веществ. Появляется класс кожно-нарывных ядов, представляющих собой суспензию, которая при попадании в организм вызывала сильнейшее отравление, наносившее наибольший ущерб лёгким. Нередки стали случаи применения против вражеских солдат хлора, иприта и других боевых отравляющих веществ.

В ответ на совершенствование химического оружия Николай Дмитриевич Зелинский создает первый противогаз. В качестве наполнителя фильтра был предложен активированный уголь. Первые противогазы были крайне неудобны, и солдаты отказывались ими пользоваться, однако доработанные модели Николая Александровича Шилова снискали большую славу. Шилов лично обучал солдат тому, как правильно пользоваться противогазами.

Однако вернёмся к кожно-нарывным ядам, вызывающим ожоги кожи и слизистых оболочек. К кожно-нарывным ядам относится класс алкилирующих веществ, к которым, в свою очередь, относятся галогенуксусные кислоты. Данный класс кислот способен вступать в необратимую реакцию с сульфидной группой остатка цистеина в белках, после чего та теряет свою функциональную активность (Рисунок 3.2.).

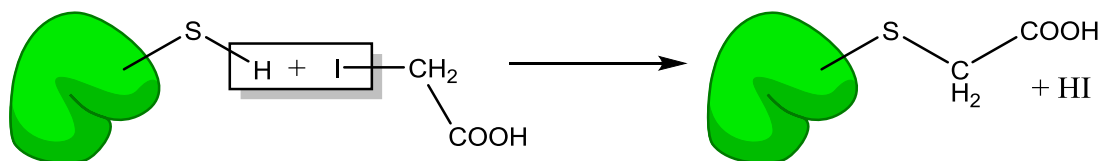


Рисунок 3.2. Реакция сульфидной группы белка с монойодуксусной кислотой.

Токсичность монойодуксусной кислоты была доказана при действии её на бесклеточный дрожжевой экстракт. Оказалось, что это вещество выступает в роли ингибитора и добавление его к системе, представленной в опытах Хардена и Янга, приводило к прекращению реакции брожения.

Детали действия ядов изучались и в лаборатории Отто Мейергофа. Его студент из Норвегии по фамилии Лундсгаард определял, какие компоненты выделяются в раствор из сокращающейся мышцы. Помимо молочной кислоты Лундсгаард выделил и определил концентрацию фосфатов. Для этого он получал нерастворимые комплексы молибденовой кислоты с фосфатами, масса которых позволяла определить концентрацию фосфора в исходном растворе.

Методика определения фосфатов в те времена была неточной: она позволяла определять фосфаты массой до одного миллиграмма. Её удалось значительно улучшить двум американским учёным, в честь которых она получила название метод Фиска-Саббароу. Метод основан на измерении интенсивности окраски молибденового синего, которая была пропорциональна концентрации фосфата в растворе. Фиске и Суббароу удалось показать, что при сокращении мышц ортофосфат не просто исчезает из

раствора. Он превращается в пирофосфат, который не даёт синюю окраску (Рисунок 2.1.).

Лундсгаард добавил в раствор, в котором находилась мышца, монойодуксунную кислоту, показав, что молочная кислота хоть и исчезает из раствора, это не препятствует сокращению мышцы. Однако появление в реакции свободных фосфатов приводит к постепенному затуханию сокращений. Таким образом, Лундсгаард сделал вывод, что сокращение мышцы происходило до тех пор, пока в растворе присутствуют соединения, содержащие пирофосфатную связь.

3.3. Гликолиз.

Образование молочной кислоты в ходе брожения лишь в ходе одной из нескольких стадий, приводящих в итоге к образованию этанола. На первой стадии гликолиза происходит фосфорилирование глюкозы под действием гексокиназы:

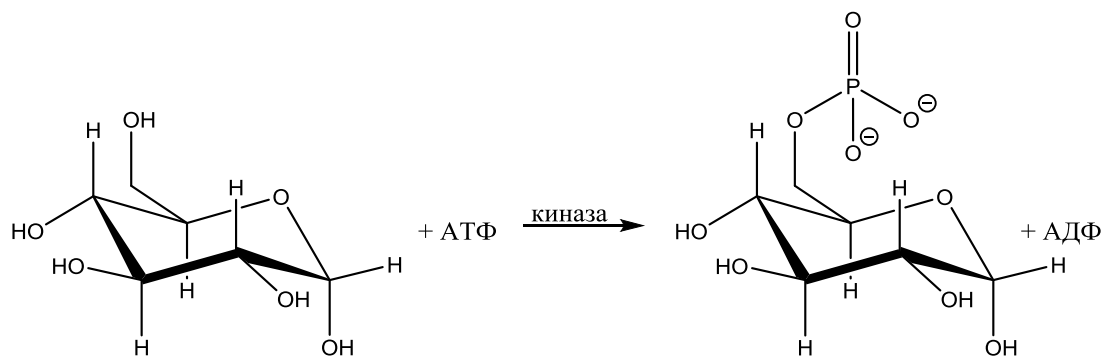


Рисунок 3.3. Первая стадия гликолиза. Фосфорилирование глюкозы.

При этом образуется глюкозо-6-фосфат, который на второй стадии гликолиза превращается во фруктозо-6-фосфат:

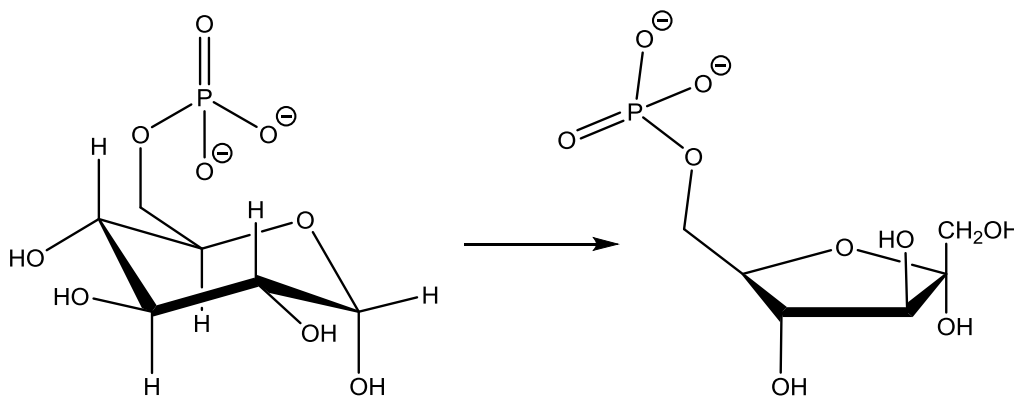


Рисунок 3.4. Вторая стадия гликолиза. Образование фруктозо-6-фосфата.

На третьей стадии гликолиза под действием фруктозо-6-фосфаткиназы к молекуле фруктозо-6-фосфата присоединяется ещё одна фосфатная группа, при этом образуется нестабильное соединение фруктозо-1,6-бифосфат:

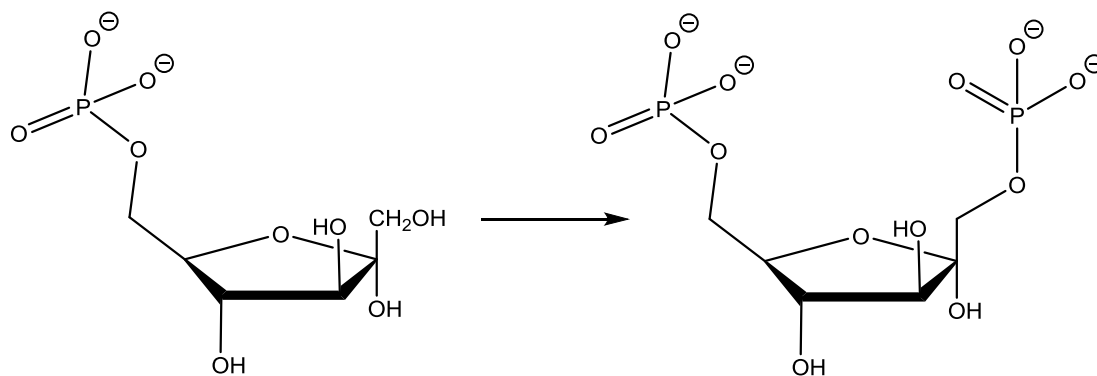


Рисунок 3.5. Третья стадия гликолиза. Образование фруктозо-1,6-бифосфата.

Переизбыток отрицательного заряда приводит к расщеплению цикла фруктозо-1,6-бифосфата. Образующаяся гексоза разрывается под действием фермента альдозазы на две триозы - фосфодиоксиацетон и 3-фосфоглицериновый альдегид:

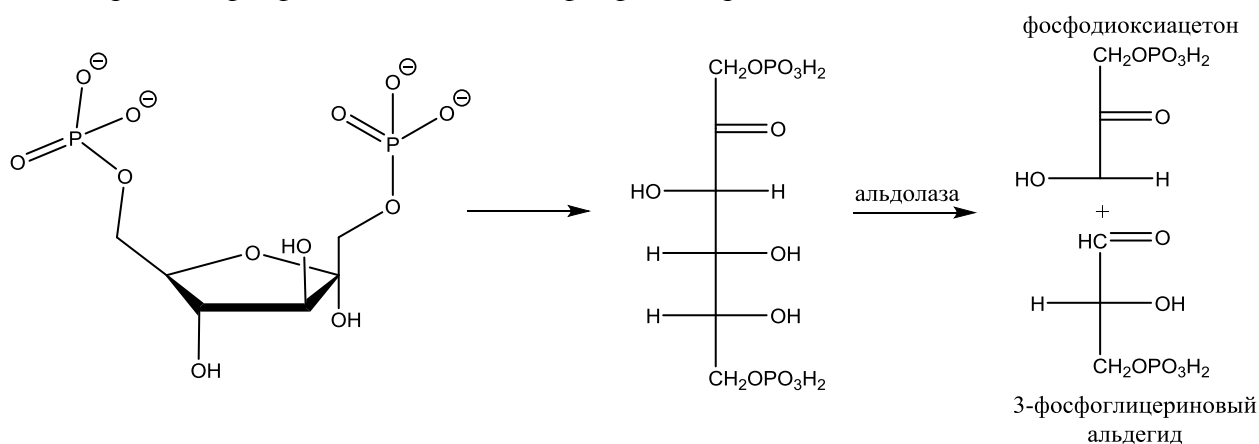


Рисунок 3.6. Четвёртая и пятая стадии гликолиза. Разрыв гексозы под действием альдозазы на две фосфодиоксиацетон и 3-фосфоглицериновый альдегид.

Далее 3-фосфоглицериновый альдегид окисляется до 3-фосфоглицериновой кислоты под действием глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы. При этом на данной стадии синтезируется одна молекула АТФ:

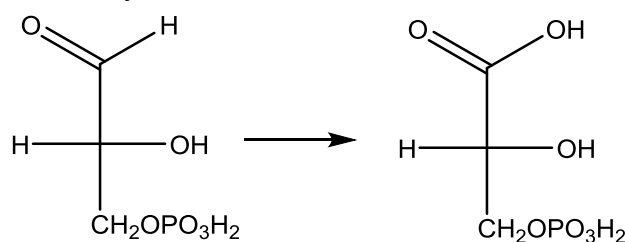


Рисунок 3.7. Шестая стадия гликолиза. Окисление 3-фосфоглицеринового альдегида до 3-фосфоглицериновой кислоты.

Немалую роль в исследовании гликолиза сыграл немецкий биохимик Отто Варбург, который за свои работы впоследствии был награждён Нобелевской премией.

На следующем этапе гликолиза остаток фосфорной кислоты переносится с третьего положения 3-фосфоглицериновой кислоты на второе:

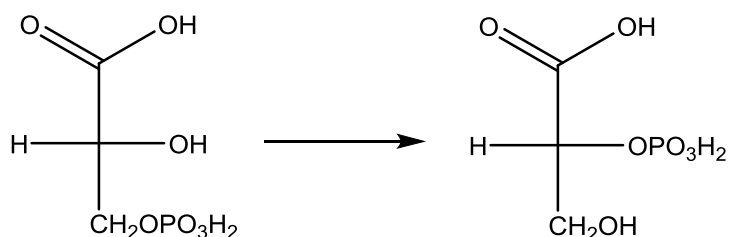


Рисунок 3.8. Седьмая стадия гликолиза. Образование 2-фосфоглицериновой кислоты.

2-фосфоглицериновой кислота подвергается гидролизу с образованием фосфоенолпирувата под действием енолазы:

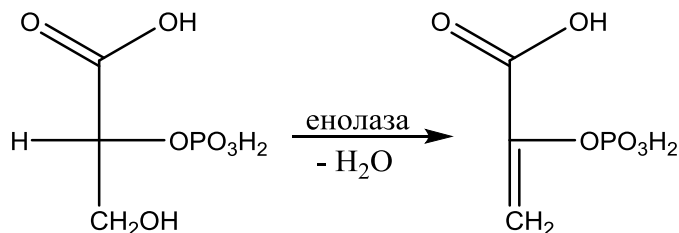


Рисунок 3.9. Восьмая стадия гликолиза. Образование фосфоенолпирувата.

Фосфоенолпируват – неустойчивая молекула, от которой легко отщепляется фосфат. При этом в ходе реакции синтезируется одна молекула АТФ, за счёт присоединения выделившегося фосфата аденозилдифосфатом:

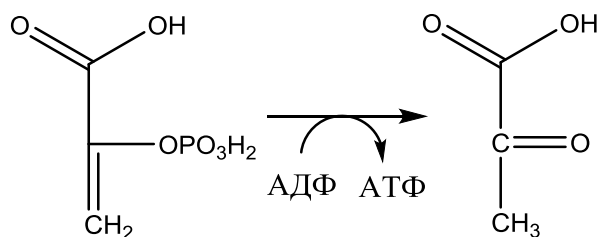


Рисунок 3.10. Девятая стадия гликолиза. Образование пирувата.

Дальнейшее превращение пирувата в ходе брожения происходит по двум основным путям: он превращается либо в молочную кислоту, либо в этанол:

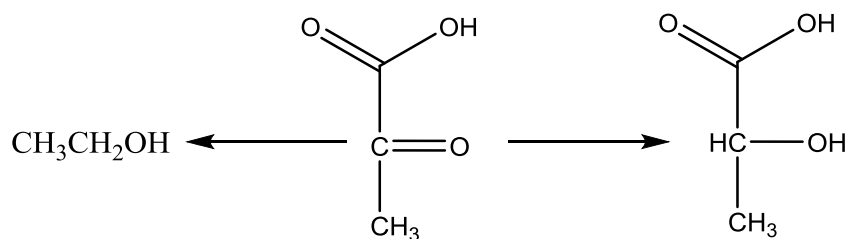


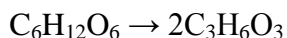
Рисунок 3.11. Дальнейшая судьба пирувата.

Отщепление карбоксильной группы от молекулы пирувата происходит под действием фермента декарбоксилазы, коферментом которого является тиамин.

Лекция 4. Анаэробные реакции.

4.1. Молочная кислота в мышечном сокращении.

Как было сказано ранее, сокращение мышцы сопровождается синтезом молочной кислоты. Это происходит по реакции:



Реакция же брожения протекает по следующей схеме:



Обоим этим процессам предшествует гликолиз, представляющий собой ряд последовательных стадий. Последовательность в данном случае формулируется как невозможность протекания одной реакции без протекания предыдущей реакции в цепи.

Молочная кислота не является конечным метаболитом, так как она представляет собой сильную кислоту (то есть в среде присутствует преимущественно её депротонированная форма). Сильные кислоты – опасный для живых систем класс соединений, поэтому молочная кислота подвергается дальнейшим превращениям в клетках.

4.2. Полное окисление глюкозы.

Во времена зарождения жизни и возникновения первых клеток в атмосфере не было кислорода, однако процесс развития микроорганизмов стал способствовать его накоплению в воздухе. Так как первые бактерии были облигатными анаэробами – кислород для них был ядом – изменение состава атмосферы негативно сказывалось на них, что вынуждало микроорганизмы либо искать природные ниши, позволяющие сосуществовать в бескислородной среде, либо менять свой метаболизм и использовать кислород.

Последние научились подвергать глюкозу полному окислению, то есть не останавливаться на молочной кислоте как на продукте гликолиза. Как мы помним, в ходе гликолиза образуется две молекулы АТФ (Рисунок 4.1.).

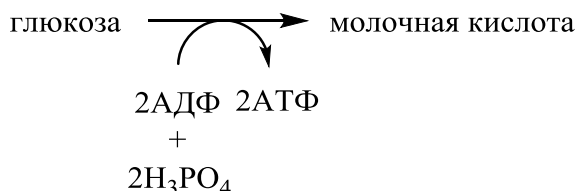


Рисунок 4.1. Образование молекул АТФ в процессе гликолиза.

Расширение окислительного цикла за счёт участия кислорода приводит к образованию дополнительно 36 молекулы АТФ:



Во время гликолиза происходит окисление альдегидной группы (в молекуле глюкозы) до карбоксильной (в молекуле пирувата). Важно отметить, для альдегидов в водной среде реализуется следующее равновесие:

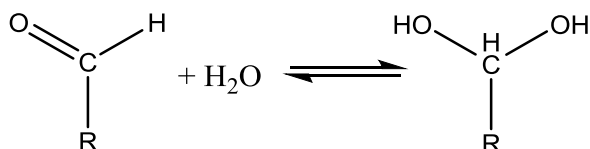


Рисунок 4.2. Равновесие в водных растворах альдегидов.

4.3. Энергетические характеристики жизни.

На заре развития биохимии предполагалось, что жизнь характеризуется суммарной энергией, однако введение Геймгольцем и Гиббсом понятия свободной энергии позволила точнее характеризовать живые системы. Ведь только та часть суммарной энергии, которую организм превращает в свободную энергию, усваивается и участвует в химических процессах внутри клеток.

4.4. Роль никотинамидадениндинуклеотида в процессе гликолиза.

Ещё одним важным участником процесса гликолиза является никотинамидадениндинуклеотид или НАД⁺, имеющий следующее строение:

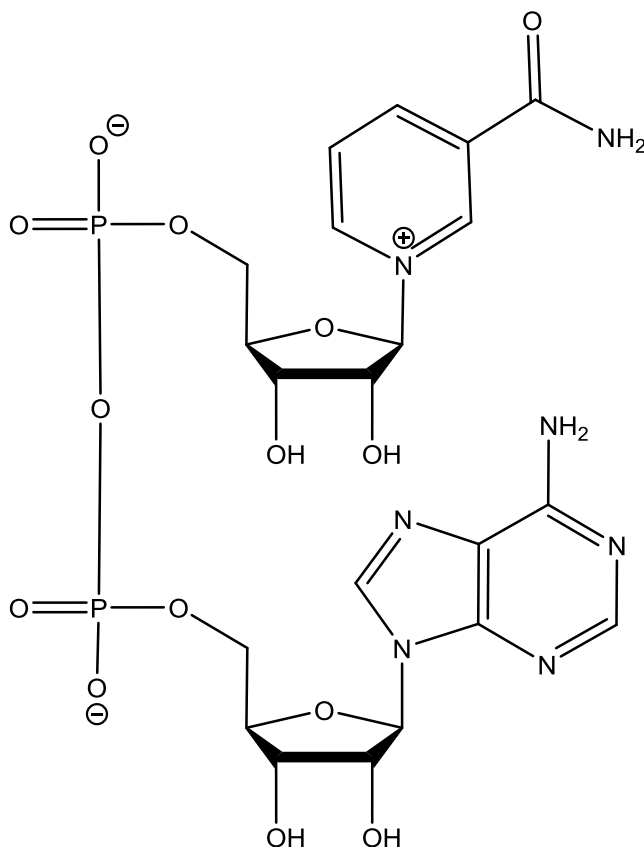


Рисунок 4.3. Никотинамидадениндинуклеотид (НАД⁺).

НАД⁺ - это молекула способная принимать или отдавать электроны, тем самым являясь частым участником окислительно-восстановительных процессов в клетках.

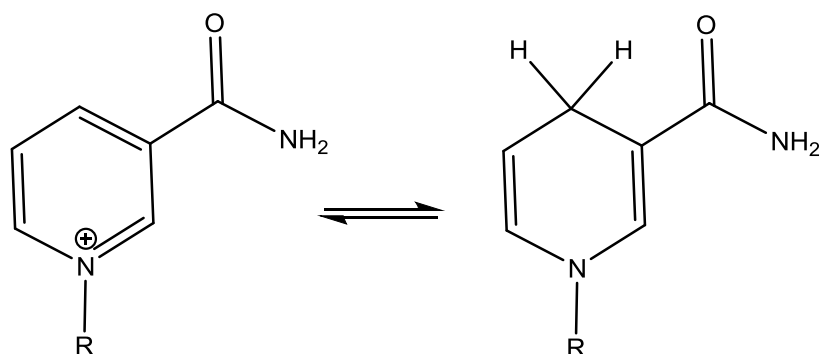
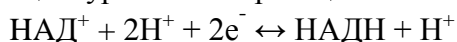


Рисунок 4.4. Окисление и восстановление НАД⁺.

Реакция окисления и восстановления при участии НАД⁺ описывается следующим уравнением реакции:



Стоит так же отметить, что НАДН обладает высокой интенсивностью флуоресценции в отличие от НАД⁺, что позволяет изучать роль молекулы во внутриклеточных процессах с помощью спектроскопических методов. Впервые детальное изменение НАД⁺ и НАДН наблюдали в кардиомиоцитах, клетках сердечной мышцы. При этом для того, чтобы точно наблюдать за изменениями в одной клетке, использовался флуоресцентный микроскоп, созданный советским учёными Евгением Михайловичем Брумбергом. Лавры же первенства в изучении динамики изменения концентраций НАД⁺ и НАДН в кардиомиоцитах принадлежат американскому биохимику Бриттону Чансу.

НАДН играет важную роль в синтезе молочной кислоты: она образуется именно при его взаимодействии с пируватом (Рисунок 4.5.).

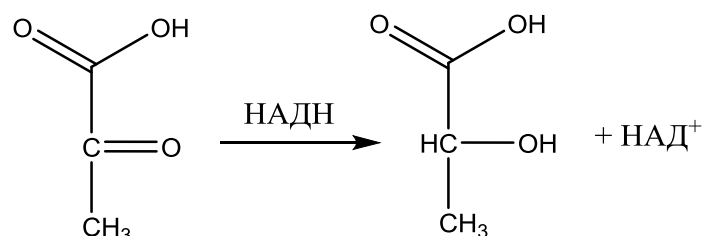


Рисунок 4.5. Роль НАД⁺ в процессе образования молочной кислоты.

Кроме того одна из стадий гликолиза – окисление глицириновго альдегида – протекает при участии молекулы НАД⁺ (Рисунок 3.7.)

Образование спирта в ходе брожения обусловлено необходимостью микроорганизмов выводить из организма продукты жизнедеятельности. Так как этанол летуч, он быстро исчезает из среды, чем активно пользуются дрожжи. Для получения же спирта необходимо отщепить карбоксильную группу, что осуществляется под действием декарбоксилаз, коферментом которых является тиамин.

4.5. Карнозин и креатинфосфат.

Лунсгаарду удалось показать, что мышечные сокращения происходят не под действием молочной кислоты. В то же время Фиске и Суббароу доказали, что фосфаты

в тканях образуются не только при расщеплении АТФ. Встал вопрос, какие ещё источники ортофосфатов присутствуют в клетках.

Российский биохимик Владимир Сергеевич Гулевич сумел выделить из мочи и мышц несколько азотсодержащих соединений. Одни из них – дипептид карнозин. Однако наибольший интерес Владимира Сергеевича привлекли производное гуанидина - креатин:

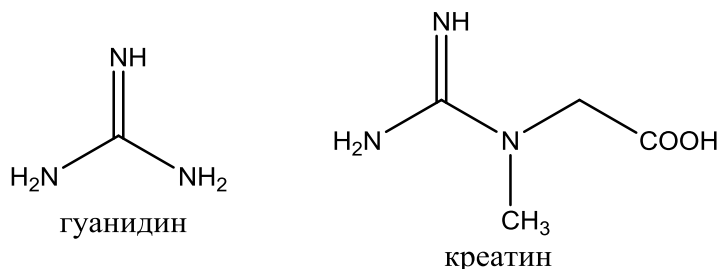


Рисунок 4.6. Гуанидин. Креатин.

Вскоре стало понятно, что дополнительным источником ортофосфорной кислоты является креатинфосфорная кислота:

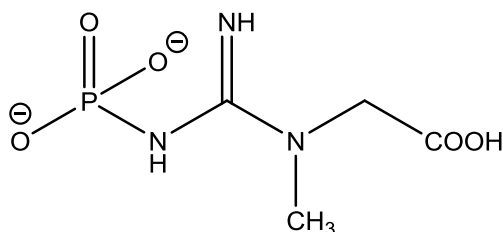
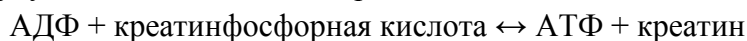


Рисунок 4.7. Креатинфосфорная кислота.

Креатинфосфорную кислоту активно изучал сотрудник лаборатории Отто Мейергофа Карл Ломан. Ломан, опираясь на работы Фиске и Суббароу, предположил, что сокращение мышц возможно за счёт реакции образования АТФ из АДФ АТФазой. В то же время советский биохимик Владимир Александрович Энгельгардт вместе со своей женой Милицией Николаевной Любимовой-Энгельгардт решает выделить АТФазу из мышц, чтобы доказать, что именно этот фермент обеспечивает мышечные сокращения. Выделить АТФазу, однако, не получилось, после чего Владимир Александрович заявил, что сократительный белок и АТФаза – это один и тот же фермент и их разделение невозможно.

Ломан же публикует статью посвящённую открытию креатинкиназной реакции или обратимой реакции передачи фосфата с молекулы креатинфосфорной кислоты на молекулу АДФ под действием креатинкиназы:



Таким образом, креатинфосфорная кислота выступает в роли энергетического буфера.

4.6. Киназные реакции в гликолизе.

Стоит сказать, что киназы играют важную роль во многих процессе передачи фосфат-ионов. Так, одна из стадий гликолиза (Рисунок 3.10.) протекает под действием пируваткиназы.

В изучении роли киназ в процессе гликолиза огромную роль сыграл немецкий биохимик Отто Варбург. Он показал, что монойодуксусная кислота является ингибитором гликолиза, так как она способна связывать сульфидную группу фермента глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы, основного участника стадии окисления 3-фосфоглицеринового альдегида до 3-фосфоглицериновой кислоты (Рисунок 3.7.). Кроме того, Варбург выделил сайты связывания НАД⁺ и 3-фосфоглицеринового альдегида в глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназе и описал механизм окисления, происходящий в активном центре фермента.

Лекция 5. Макроэргические молекулы, цикл Кребса.

5.1. Декарбокислирование α -кетокислот.

α -кетокислоты содержат кетогруппу у следующего после карбоксильного атома углерода. Декарбокислирование α -кетокислот происходит под действием карбоксилаз, при этом в среду выделяется углекислый газ:



Рисунок 5.1. Декарбокислирование α -кетокислот.

Необходимым компонентом, обеспечивающим работу декарбоксилаз, является тиамин или витамин В₁ (Рисунок 2.6.). В его строении необходимо отметить второй атом углерода триазолового кольца: именно он участвует в реакции катализа.

Помимо кислот, некоторые из которых могут представлять опасность для организма, не менее токсичными соединениями оказываются альдегиды, которые способны блокировать аминогруппу в активных центрах ферментов. Организм борется с альдегидами по средствам их окисления до карбоновых кислот, которые, в свою очередь, декарбокислируются.

5.2. Липоевая кислота.

Шестидесятые годы ознаменовались появлением нового метода создания мутантных бактерий – облучение штаммов микроорганизмов радиоактивным излучением. С его помощью был получен штамм молочнокислых бактерий, которые были нежизнеспособны в отсутствие экстракта печени животных. Джон Рид и Бэтти ДеБаск решили выяснить, какое именно вещество имело такую критическую важность для полученного штамма бактерий.

Свой эксперимент они построили следующим образом: на питательной среде культивировались нежизнеспособные бактерии; параллельно бутановый экстракт печени разделяли на компоненты с помощью бумажной хроматографии. Полученную хроматограмму накладывали поверх питательной среды, и место, в котором рост бактерий восстанавливался, соответствовал положению искомого вещества. Химический анализ данного соединения показал, что в его составе присутствуют сульфидные группы (он вступал в реакцию с солями свинца). Вещество было названо липоевой кислотой (Рисунок 5.2.).

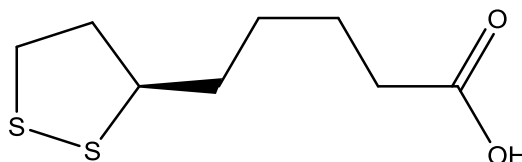


Рисунок 5.2. Липоевая кислота.

При окислении в липоевой кислоте размыкается пятичленный цикл и сульфидные группы становятся доступными для новой атаки. Именно это и происходит при окислении окисление 3-фосфоглицеринового альдегида до 3-

фосфоглицериновой кислоты (Рисунок 3.7.), при чём липоевая кислота оказывается связана с альдегидом:

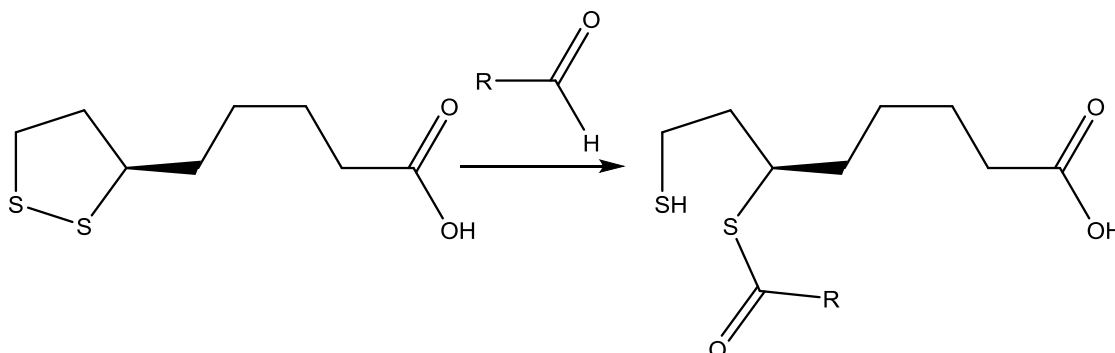


Рисунок 5.3. Реакция липоевой кислоты с альдегидом.

Таким образом, первые две стадии окисления 3-фосфоглицеринового альдегида были известны: на первой стадии альдегид реагировал с тиаминпирофосфатом, на второй – происходил перенос альдегида на липоевую кислоту. Однако процесс окисления на этом не заканчивался. Необходимо было найти следующего участника декарбоксилирования, который, скорее всего, тоже имел в своём составе сульфидную группу.

Этот участник был открыт Фрицем Липманом и оказался коферментом А или коэнзимом ацетилирования (Рисунок 5.4.).

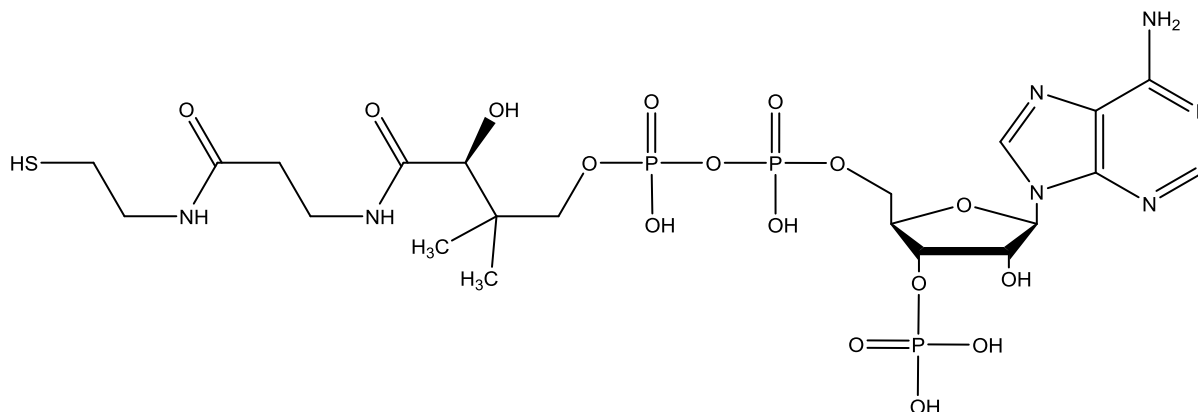


Рисунок 5.5. Кофермент А.

Помимо гликолиза Липман изучал состав мочи больных воспалением лёгких. В те времена их стали лечить препаратом на основе красного красителя под названием «Стрептоцид». Липман показал, что при выведении из организма на молекулу «Стрептоцида» навешивается остаток уксусной кислоты. Пытаясь детальнее описать механизм этого превращения, он приготовил экстракт печени и выделил «Стрептоцид» вместе с коферментом А. Таким образом, было показано, что кофермент А не только участник гликолиза, но и многих других процессов, включающих процесс переноса остатка уксусной кислоты.

Вернёмся к липоевой кислоте. После передачи остатка 3-фосфоглицеринового альдегида на молекулу кофермента А, встаёт необходимость замыкания пятичленного цикла. В контексте данного вопроса интересно открытие витамина В₂ или рибофлавина

(Рисунок 5.6.). Его обнаружили в молоке, а его критическая важность для здоровья организма была показано в экспериментах на крысах, которым вместо молока скармливали очищенный белок. При этом крысята были вялыми, почти не набирали массу и часто умирали.

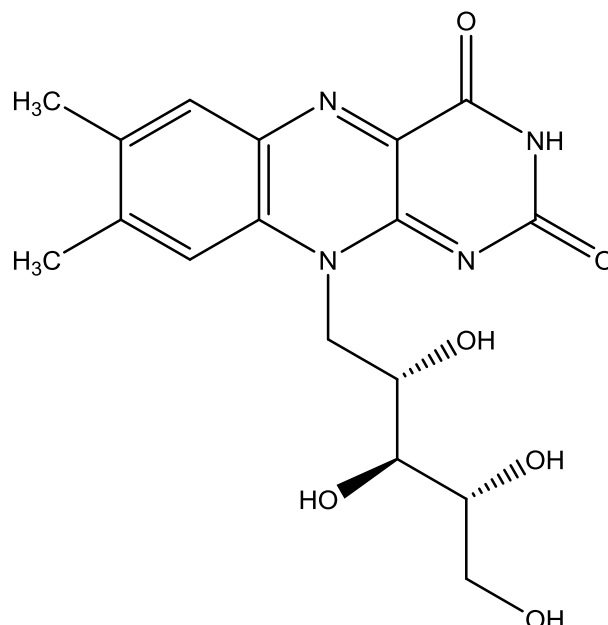


Рисунок 5.6. Рибофлавин или витамин B₂.

Рибофлавин имеет желтоватый цвет, который придаёт желтизну молоку. Родственное рибофлавиному соединение играет огромную роль во многих процессах. Оно называется флавинадениндинуклеотид или ФАД (Рисунок 5.7.).

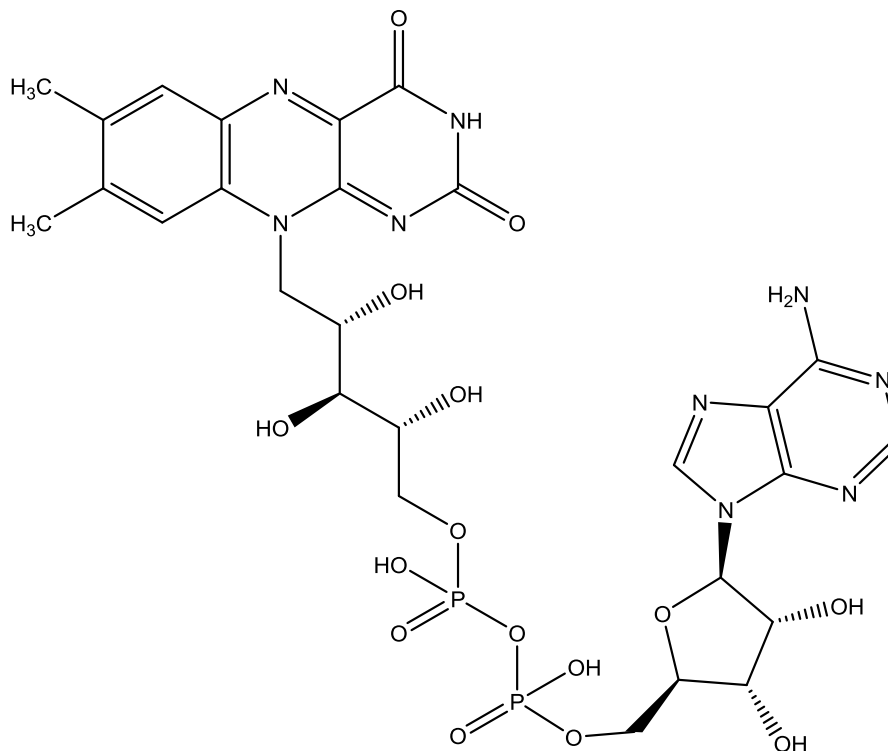


Рисунок 5.7. Флавинадениндинуклеотид (ФАД).

ФАД образуется из рибофлавина и участвует в окислительно-восстановительных процессах в клетках, так как он способен обратимо присоединять до двух атомов водорода. Причём ФАД настолько сильный восстановитель, что он способен отрывать протоны от углеводов. По своим свойствам он сравним с НАД⁺, однако ФАД намного более сильный восстановитель. Именно ФАД ответственен за восстановление липоевой кислоты в присутствии дегидрогеназы.

5.3. Цикл Кребса.

В начале двадцатого века в Швейцарии Лина Соломоновна Штерн и Федерико Баттелли изучали процесс обесцвечивания «синьки» (метиленовый синий). Они показали, что живые клетки, подвергнутые действию красителя, быстро нейтрализуют его окраску, в то время как мёртвые клетки остаются синими.

В это же время шведский биохимик Т. Тунберг исследует способы обесцвечивания различных красок. Пробирка Тунберга (пробирка с полый изогнутой пробкой) устанавливалась в спектрофотометр, что позволяло измерять скорость обесцвечивания. При этом Тунберг добавлял красители к экстракту печени и наблюдал обесцвечивание только в случае неденатурированных белков (так как прогревание приводило к прекращению обесцвечивания, был сделан вывод, что именно эти биополимеры ответственны за исчезновение окраски). Для «синьки» был выделен предположительный набор веществ, которые были ответственны за её обесцвечивание. Среди них было множество органических кислот: щавелевая, лимонная, янтарная, молочная и т.д.

Над преобразованием списка Тунберга в осмысленный механизм работали химики Ханс Адольф Кребс и Альберт Сент-Дьёрдьи. Ими была составлена схема реакций, на первой стадии которой оксалоацетат превращался в лимонную кислоту:

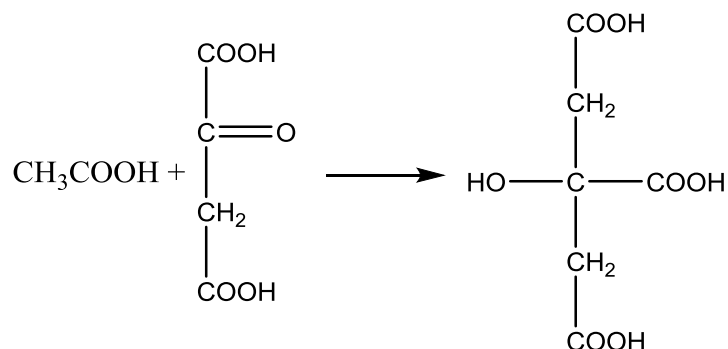


Рисунок 5.8. Первая стадия цикла Кребса. Образование лимонной кислоты.

Далее гидроксильная группа мигрирует на соседний атом и происходит гидролиз и декарбоксилирование с образованием α-кетокислоты:

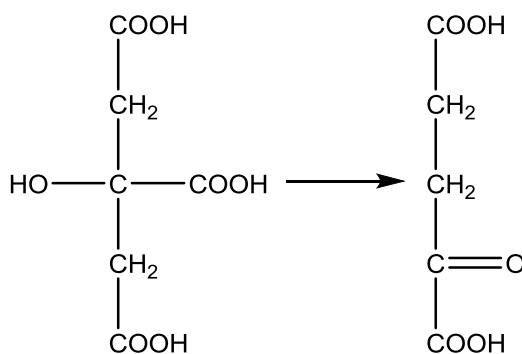


Рисунок 5.9. Вторая стадия цикла Кребса. Образование α -кетоглутаровой кислоты.

Декарбоксилирование и последующее окисление α -кетоглутаровой кислоты приводит к образованию янтарной кислоты:

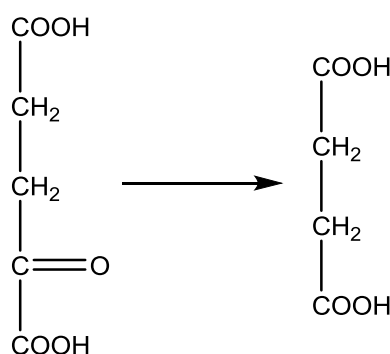


Рисунок 5.10. Третья стадия цикла Кребса. Образование янтарной кислоты.

Наконец, янтарная кислота превращается в фумаровую при участии ФАД:

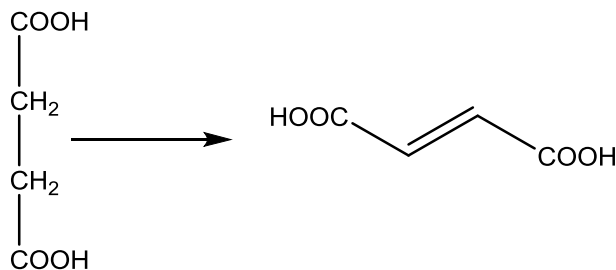


Рисунок 5.11. Четвёртая стадия цикла Кребса. Образование фумаровой кислоты.

Присоединение молекулы воды и окисление под действием НАД⁺ замыкает цикл Кребса:

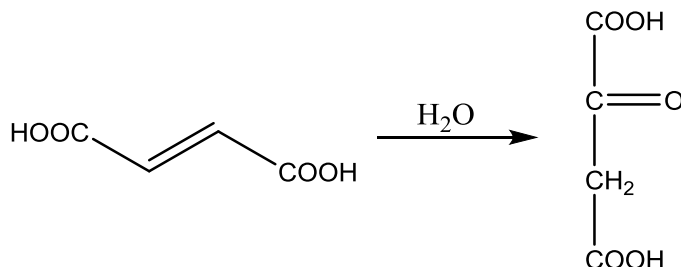


Рисунок 5.12. Пятая стадия цикла Кребса. Образование щавелево-уксусной кислоты.

Кребс добавлял к измельченной печени и почкам основных участников предложенного им цикла, и все они с одинаковой скоростью способствовали восстановлению «синьки». Из этого учёный сделал вывод, что все они являются компонентами одной цепи.

В итоге цикл Кребса имеет следующий вид:

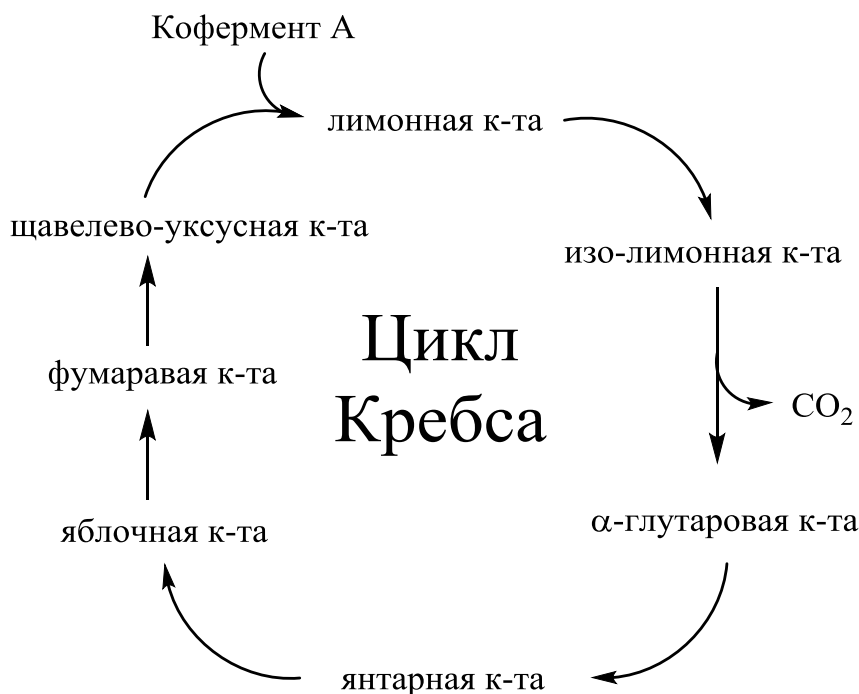


Рисунок 5.13. Цикл Кребса.

При этом выделяющийся водород окисляется кислородом до воды. Эта реакция сопряжена с процессом синтеза АТФ.

Цикл Кребса представляют собой кислородную биохимию, которая, скорее всего, возникла во времена, когда первые микроорганизмы научились продуцировать кислород, который накапливался в атмосфере.

5.4. Гем.

Развитие жизни требовало более эффективных механизмов доставки кислорода к тканям, где происходил цикл Кребса. Только в девятнадцатом веке учеными была выделена молекула гемоглобина, участвующая в этом процессе. Кроме того, в это время зарождались спектроскопические методы, позволяющие анализировать химические вещества по их спектрам. Эти методы позволили детально изучить спектроскопические особенности гемоглобина и показать, что при связывании кислорода меняется спектр этого соединения. Поиски гемоглобиноподобных соединений привели врача Чарльза Александра Макманна к открытию гистогематинов или веществ, которые имеют спектр, похожий на спектр гемоглобина, и находящихся при этом не в крови (например, в дрожжах или крыле бабочки).

Макманну не удалось при жизни доказать, что наблюдаемые им спектры не являются результатом загрязнения препаратов кровью. И только спустя много лет учёным удалось показать, что спектр гемоглобина формируется за счёт гема, комплекса

железа с протопорфирином (Рисунок 5.14.), которые входят в состав многих белков, не всегда являющихся белками крови.

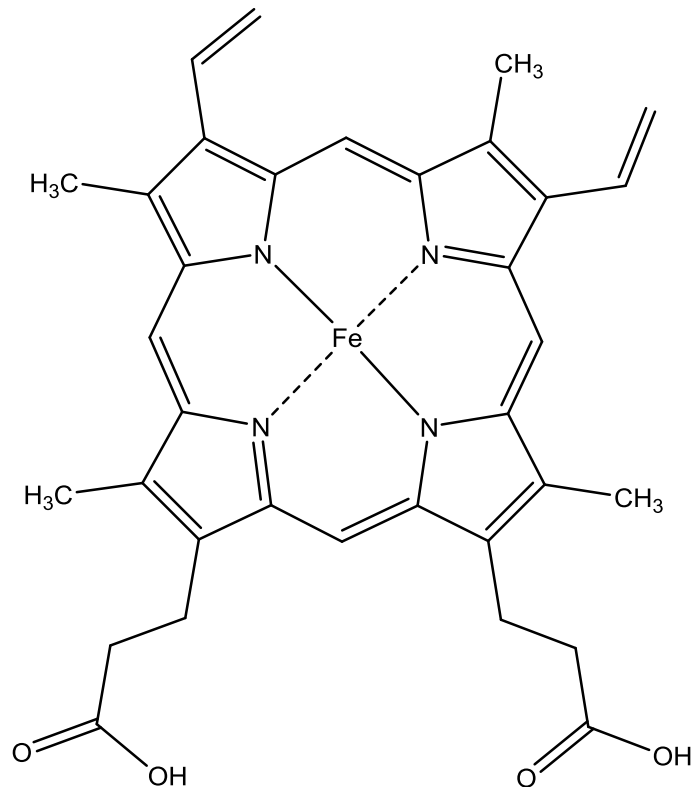


Рисунок 5.14. Структура гема.

Лекция 6. Пигменты и дыхание.

6.1. Порфирины.

Гем (Рисунок 5.14.) подставляет собой сопряжённую систему, которая придаёт ему красную окраску. Введение в структуру порфиринов различных заместителей позволяет варьировать их цвет от фиолетового до бурого. Название «порфирин» было взято из древнегреческого языка, где порфирой называли одеяние императоров, окрашенное в алый цвет краской, добываемой из моллюсков. Помимо гема крови порфирины встречаются и в составе хлорофилла, красящегося вещества растений, открытого Рихардом Мартином Вильштеттером, однако в данном случае в центре порфирина находится не железо, а атом магния.

Чарльз Александр Макманн показал, что гемоглобиноподобный спектр дрожжей менялся в зависимости от свежести дрожжей и среды. Причем изменения были эквивалентны изменениям гемоглобина при связывании кислорода и при его отщеплении от атома железа. Аналогично Макманном было обнаружено вещество со спектром, похожим на спектр гемоглобина, в крыльях восковой моли.

6.2. Цитохром.

Спустя несколько десятилетий британский биохимик русского происхождения Дэвид Кейлин изучал оводов. Оводы откладывают яйца в шерсти на ногах лошадей. Когда лошади чистят языком свои ноги, они заглядывают яйца, из которых вылупляются личинки и начинают грызть слизистые лошадей до тех пор, пока не окажутся в желудке. Из желудка личинки попадают в кишечник и с фекалиями выводятся из организма своего хозяина. Оказавшись вне лошади, личинки оводов зарываются в землю, окукливаются и превращаются во взрослых оводов. К удивлению Кейлин личинки оводов были окрашены в ярко-красный цвет, напоминающий цвет крови. Изучив оптические свойства компонентов личинки, он увидел спектр, похожий на спектр гемоглобина.

Кейли выделил краситель из личинки овода, а так же похожие соединения из крыльев бабочки. Класс красителей был назван цитохромами. Узнав, что такие же исследования проводил Макманн, Кейли хотел отказаться от данного им названия в пользу гистогематинов, однако научное сообщество отдала предпочтение цитохромам.

Цитохромы – участники кислородного дыхания. Это было показано при исследовании дыхания морских ежей, проводимых Отто Варбургом. Он показал, то поглощение кислорода – процесс, чувствительный к цианиду, что могло быть связано со способностью цианида необратимо связывать железо (на самом деле, медь).

Важно отметить, что в процессе кислородного дыхания образуется вода. Это происходит при связывании протонов с кислородом. Известно, однако, что похожая реакция в неживой природе, происходящая между кислородом и водородом (гремучая смесь) приводит к взрыву и выделению больших количеств энергии. То есть живая природа в процессе эволюции выработала систему позволяющую проводить реакцию образованию воды ступенчато, чтобы постепенно получать энергию и преобразовывать её в АТФ.

6.3. Роль пигментов в дыхании.

Проводить исследования дыхания позволял аппарат Варбурга, в котором с помощью манометра можно было следить за изменением газового состава над культурами микроорганизмов. Используя этот прибор, Энгельгард показал, как голубиная кровь поглощает кислород и выделяет углекислый газ. Проанализировав состав крови, он увидел, что уменьшение концентрации кислорода в воздухе приводила к повышению концентрации пиродифосфатов в крови. Таким образом, Энгельгард открывает сопряжённое фосфорилирование (окислительное фосфорилирование, сопряжённое с транспортом электронов). В основе этого процесса лежит изменение степени окисления железа в составе гема.

Кейли же создают первую схему дыхания. Согласно ней, НАД⁺ отщепляет протоны от некоего носителя протонов. Далее протоны передаются с НАДН на ФАД. От ФАДН₂ протоны передаются на следующий переносчик, с которого электроны последовательно поступают на цитохромы В, С, А. Таким образом, происходит накопление протонов и передача электронов, сопряжённая с изменением степеней окисления атомов железа в цитохромах. Параллельно Энгельгард показывает, что процесс передачи электронов сопряжён с синтезом АТФ.

Советский биохимик Владимир Александрович Белицер исследует соотношение количеств поглощённого кислорода и синтезированного АТФ в аппарате Варбурга. Он показывает, что, так как соотношение не эквивалентно, процесс дыхания ступенчатый.

Фриц Липман показал, что существуют вещества, в которых сопряжение между синтезом АТФ и транспортом электронов нарушается. Он и его дипломник добавили к митохондриям динитрофенол, при этом резко увеличилось поглощение кислорода и уменьшилось производство АТФ. То есть сопряжение было нарушено. 2,4-динитрофенол был выбран неслучайно. Так, были известны прецеденты, когда его употребление как средства для похудения, вызывало летальный исход.

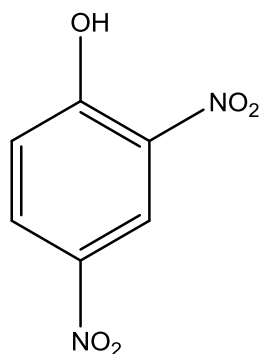


Рисунок 6.1. 2,4-динитрофенол.

Добавление ещё одной нитро группы к 2,4-динитрофенолу приводит к образованию пикриновой кислоты, основе бездымного пороха.

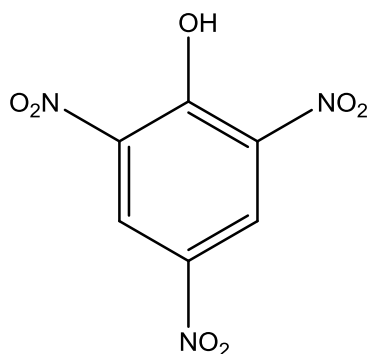


Рисунок 6.2. Пикриновая кислоты.

После 2,4-динитрофенола был открыт целый класс веществ, нарушающих сопряжение синтеза АТФ и транспорта электронов. К сожалению, учёные заметили, что соединения этого класса имеют между собой мало общего, и выделить структурные особенности, склонные вызывать нарушения, было невозможно.

В 1961 году микробиолог Питер Митчелл в журнале Nature опубликовал заметку. В ней он сообщает, что, скорее всего, никаких переходных соединений в процессе дыхания нет, а основную роль в усвоении кислорода играет градиент концентраций. Согласно Митчеллу, так как изменение концентраций приводит к изменению свободной энергии ($\Delta F = -RT \ln \frac{C_1}{C_2}$), перенос веществ через мембрану, по разные стороны которой будут разные концентрации этого вещества, приведёт к возникновению потенциала, достаточного для синтеза АТФ. То есть, ток электронов по дыхательной цепи, приводящий к градиенту концентраций протонов, достаточен для синтеза АТФ, и никакие промежуточные соединения не нужны. Вещества же, которые нарушают сопряжение, всего лишь выравнивают концентрации протонов по разные стороны мембраны.

Работами Митчелла увлеклись Ефим Арсентьевич Либерман и Владимир Петрович Скулачёв, которые доказали, что характерной особенностью всех веществ, нарушающих сопряжение транспорта электронов и синтеза АТФ, является наличие гидрофобной и гидрофильной частей. За счёт этого такие вещества проникают в мембрану и нарушают её целостность.

Позже стало ясно, что в мембране митохондрий есть специализированная машинерия, которая за счёт тока протонов синтезирует молекулы АТФ. По этому же принципу работают жгутики бактерий.

Лекция 7. Превращение полисахаридов.

7.1. Полисахариды в природе.

Самым часто встречающимся мономером в большинстве полисахаридов является глюкоза (Рисунок 2.4.). У первого атома углерода в глюкозе атомы заместителя могут быть расположены как сверху, так и снизу, при этом говорят об α - или β -форме.

Склонность глюкозы к образованию полимеров можно объяснить стремлением понизить осмотическое давление раствора, которое не выдержала бы клетка. При образовании полимеров, например, крахмала, связь образуется между первым и четвертым атомами углерода. Возможно образование связей и между первым и шестым атомами, тогда образуется биополимер гликоген, имеющий ветвящуюся структуру. 1,6-связи разрываются гораздо сложнее, чем 1,4-связи: только некоторые виды бактерий способны перерабатывать гликоген.

Помимо 1,6-связей необычными, но встречающимися, считаются 1,4-связи образованные между молекулами β -глюкозы. Полимер, содержащий такие связи, - это целлюлоза. Этот полимер плохо усваивается и прямым поставщиком глюкозы для гликолиза не являются. Перерабатывать целлюлозы научились травоядные животные за счёт наличие у них в кишечники определённых бактерий, способных расщеплять β -1,4-целлюлозу. Интересно, что на такой симбиоз способны и некоторые амёбы, представители простейших. Кроме того, некоторые моллюски – корабельные черви – способны синтезировать фермент целлюлазу, позволяющую им переваривать древесину. Микробные культуру, способные расщеплять целлюлозу, выделяя целлюлазу, переваривают этот полисахарид очень медленно, поэтому большинство травоядных животных очень много времени тратят на переваривание пищи.

Наконец, замена гидроксильной группы на аминогруппу во втором положении целлюлозы приводит к образованию биополимера хитина, который является основой твёрдого покрова насекомых. Переваривать хитин могут бактерии, живущие в кишечнике китов, которые питаются крилем.

7.2. Метаболизм полисахаридов.

Гидролиз 1,4-связи осуществляется ферментами амилазами. Амилазы вырабатывают поджелудочной железой и учувствуют в процессе переваривания полисахаридов в пищеварительном тракте. Однако такой метод усвоения крахмала не является наиболее энергетически выгодным, так как на него необходимо затрачивать молекулы воды.

Гораздо более удобным для организма является расщепление 1,4-связи посредством фосфоролиза, осуществляемого ферментом фосфорилазой (Рисунок 7.1.). Продуктом фосфоролиза является глюкоза-1-фосфат. Напомним, что на первой стадии гликолиза образуется глюкоза-6-фосфат. То есть необходимо каким-то образом перенести фосфат с первого атома углерода на шестой атом углерода.

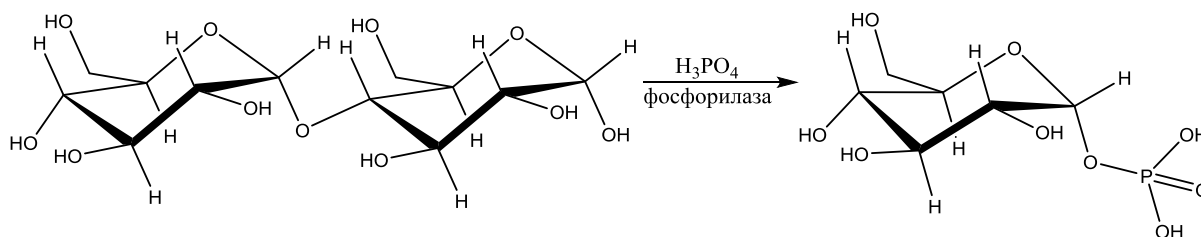


Рисунок 7.1. Фосфоролит 1,4-связи между двумя молекулами α -D-глюкозы.

Роль такого переносчика исполняет фосфоглюкомутаза, после чего молекула глюкозо-6-фосфата вступает в реакцию гликолиза (Рисунок 7.2.).

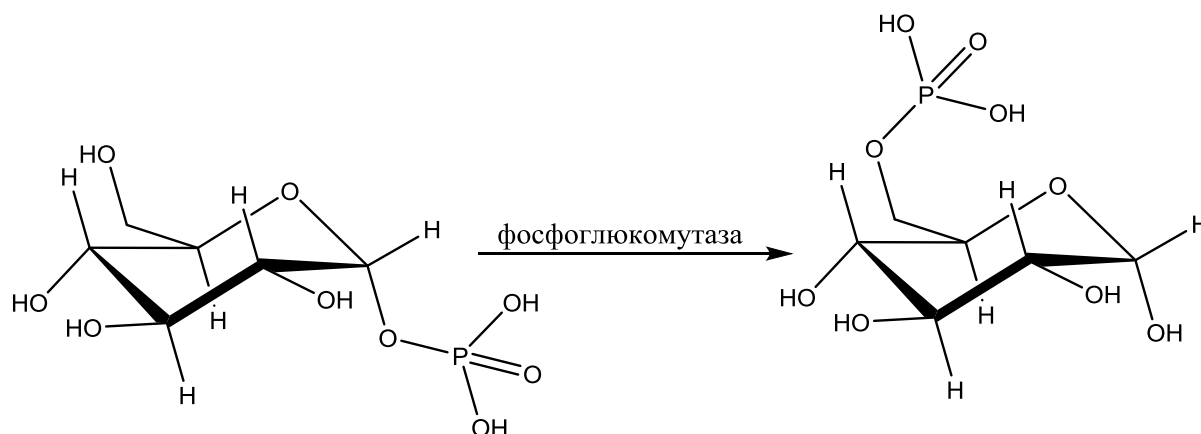


Рисунок 7.2. Перенос остатка фосфорной кислоты под действием фосфоглюкомутазы.

7.3. цАМФ.

Все процессы в организмы должны строго регулироваться. Сбои в процессе регулировки могут приводить к катастрофическим для организма последствиям. Регуляция возможно на различных промежутках времени: от секунд до лет.

Огромную роль в изучении регуляции сыграл польский биохимик Яков Оскарович Парнас. Он вместе с американскими биохимиками Герти и Карлом Кори вводил крысам адреналин и наблюдал за изменением гликогена. При этом повышение адреналина в организме приводило к фосфоролиту. Кроме того, учёным удалось первыми выделить белок фосфорилазу.

Встал вопрос, каким образом удастся сохранять фосфорилазу в неактивном состоянии в отсутствие завышенного фона адреналина в организмах. Герти и Карл показали, что фосфорилаза может существовать в двух формах (А и Б), которые были активны и неактивны соответственно. Было показано, что форма А является гомотетрамером, а Б – димером. Для перехода из формы А в форму Б необходимо гидролизовать пирососфатные связи, удерживающие вместе два димера. Этот процесс осуществляет фермент фосфатаза, которая отщепляет остатки ортофосфорной кислоты.

Необходимо было найти белок, который бы сшивал два димера с образованием активной тетрамерной формы А. Этим стал заниматься Эрл Уилбур Сазерленд-младший. Однажды он добавил к фосфорилазе в форме Б препарат, оставшийся после выделения АТФ. При этом фосфорилаза перешла из неактивной формы в активную.

Сазерленд показывает, что активатором в данном случае оказалось производное АТФ, циклический АМФ (3'5'-цАМФ) (Рисунок 7.3.).

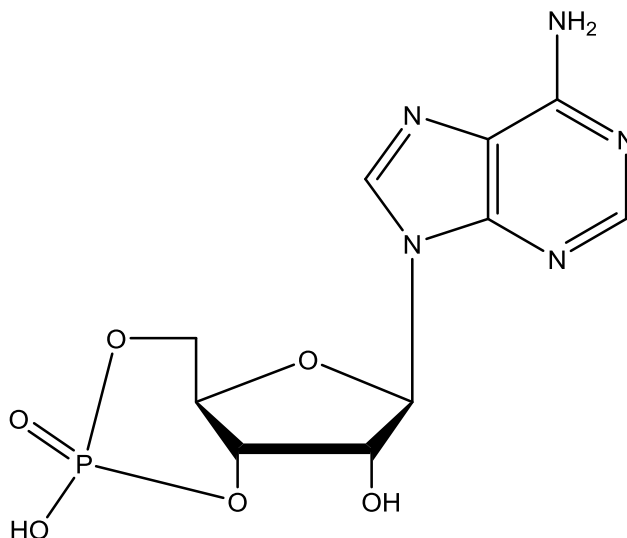


Рисунок 7.3. Циклический АМФ (цАМФ).

В итоге механизм активации выглядит следующим образом: на поверхности клеток есть рецепторы, специфично связывающие молекулы адреналина. рецептор адреналина – это интегральный мембранный белок, то есть он пронизывает мембрану насквозь, а его связывание с адреналином вызывает каскад реакций внутри клетки. Первыми на возбуждение рецептора реагируют G-белки, которые, в свою очередь, активируют циклазу, фермент, синтезирующий цАМФ. цАМФ не взаимодействует напрямую с фосфорилазой, она активирует перенос фосфата с АТФ на фосфорилазу под действием еще одного фермента. Фосфорилирование приводит к активной форме фосфорилазы. Когда реакция закончена необходимо активировать фосфатазу, чтобы она перевела активную форму фосфорилазу в неактивную.

цАМФ участвует в ряде других процессов в клетках, например, активирует ток ионов через ионные насосы. Причём в разных клетках реализованы разные системы регуляции с участием цАМФ. Расщепление же цикла в молекуле приводит к её деактивации. Это происходит под действием фермента по принципу обратной отрицательной связи или, как его назвал советский биолог Михаил Михайлович Завадовский – «плюс-минус» взаимодействие, то есть увеличение концентрации цАМФ приводит к активации фермента её расщепляющего, что, в свою очередь, ведёт к понижению концентрации цАМФ. Называется же этот фермент фосфодиэстераза (расщепляет двойную эфирную связь).

Конкурентным ингибитором фосфодиэстеразы является кофеин, которого много в кофе и чае. Кофеин временно повышает концентрацию цАМФ, однако это далеко не его единственная функция.

7.4. Авидин-биотин.

Полученный в ходе гликолиза пируват превращается в щавелево-уксусную, а затем - в лимонную кислоту под действием кофермента А. Встаёт вопрос, как пируват превращается в щавелево-уксусную кислоту.

В прошлом считалось, что крайне полезным являлось употребление сырых яиц. Однако эксперимент на крысятах показал, что диета ограниченная сырыми яйцами приводит к истощению животных и их гибели. Добавление же дрожжей в рацион восстанавливало здоровье крысят. Стали выяснять, недостаток или наличие какого вещества ответственно за проблемы со здоровьем у крысят. Оказалось, что яйца способны сохраняться в очень нестерильных условиях за счёт наличия в их составе антимикробного вещества авидина. Блокатором же авидина является биотин или «вещество жизни» (Рисунок 7.4.).

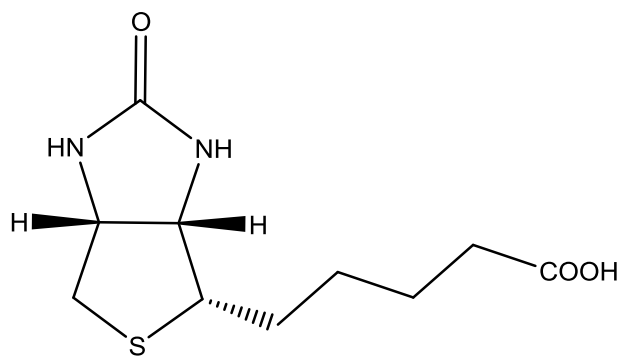


Рисунок 7.4. Биотин.

Связь авидина с биотином одна из самых прочных среди всех связей, образующихся в живых системах. Употребление авидина ведёт к связыванию биотина и питательной недостаточности. Как позже показал немецкий биохимик Феодор Феликс Конрад Линен, биотин реагирует с пируватом в присутствии АТФ и молекулы карбоната с образованием щавелево-уксусной кислоты и происходит инициация цикла Кребса.

Авидин - важное для птиц вещество, так как оно гарантирует сохранность яиц, однако стоит помнить, что так как птицы высидывают свои яйца, для некоторых из них актуальна проблема денатурации авидина при нагревании яиц. Так, например, петухи бентамки имеют в своём клюве специализированный орган, позволяющий им оценивать температуру яиц. Если их температура недостаточно высока для благополучного развития цыплят, петух засыпает кладку прелым навозом, если же температура слишком высока, что может привести к денатурации авидина, петух раскапывает яйца и даёт им остыть.

Лекция 8. Схема метаболических путей.

Метаболизм состоит из двух диаметрально противоположных классов процессов – катаболизма (разрушение веществ) и анаболизма (синтез веществ). Человечество начало изучать метаболизм с процессов катаболизма, так как они напрямую связаны с процессом пищеварения.

Изучение пищеварения началось ещё в конце восемнадцатого века с экспериментов итальянского натуралиста Ладзаро Спалланцани. Он скармливал уткам пищу, завернутую в проницаемую ткань, а после того как птицы проглатывали пищу вытаскивал их за привязанную к мешкам веревку. При этом буквально сразу после проглатывания пища начинала разлагаться.

8.1. Катаболизм белков.

Рассмотрим катаболизм основных компонентов пищи. Пища состоит из белков, жиров, углеводов и минеральных веществ. При этом белки состоят из аминокислот (Рисунок 2.3.), соединённых между собой пептидной связью.

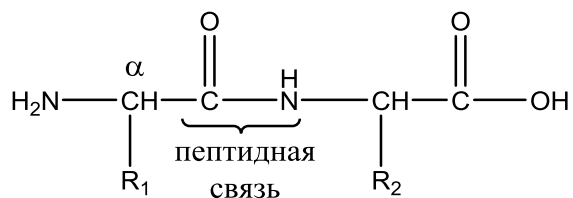


Рисунок 8.1. Структура пептидной связи.

Белки способны образовывать сложные пространственные структуры, в которой разные цепи или фрагменты цепей могут взаимодействовать друг с другом за счёт нековалентных или ковалентных (сульфидные мостики) взаимодействия. В желудке белки подвергаются гидролизу под действием протеолитических белков или пептаз, например, пепсина. Протеазы разрезают не все связи подряд, они склонны разрезать связи после определённых аминокислот.

Встаёт вопрос, как в организме могут существовать ферменты, расщепляющие белки, ведь сам организм состоит из белков. Оказалось, то процессы пищеварения строго регулируются, более того при клеточном пищеварении, клетка может избирательно помещать белки, которые необходимо расщепить. Для этих целей используется молекула убиквитина, небольшого белка, который при присоединении к другому белку сигнализирует о необходимости его деградации. Таким образом, деградация белков в организме идёт до аминокислот.

Часть аминокислот клетка использует в строительных целях, а часть для получения энергии. Однако аминокислоты не так легко использовать в качестве источника энергии, из-за окисления аминогруппы. Тем не менее, организмы научились утилизировать азот. Избыточный азот опасен для организма и разные организмы научились по-разному выводить его из организма. Для морских микроорганизмов наиболее удобным является способ простого выведения аммиака в окружающую среду, так как он быстро растворяется в большом количестве воды. Однако для крупных животных такой вариант неудобен. Одни животные научились синтезировать из

аммиака мочевины (Рисунок 8.2.), которая хорошо растворяется в воде, не накапливается и не токсична (в концентрациях до 1М).

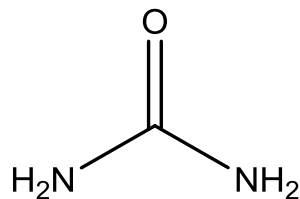


Рисунок 8.2. Мочевина.

Таким образом, катаболизм белков выглядит следующим образом: белок → протеолиз → аминокислоты → мочевины.

Чтобы отщепить аминогруппы в молекуле аминокислоты, необходим фермент дезаминаза. Так, например, дезаминирование аланина приводит к образованию пировиноградной кислоты, которые после превращения в щавелево-уксусную кислоту, вступает в цикл Кребса.



Рисунок 8.3. Дезаминирование аланина.

Однако не все организмы могут синтезировать мочевины, так как такой синтез требует много воды. Например, рептилии и птицы, которые приспособились жить на суше, неспособны синтезировать мочевины. Такие организмы накапливают азот в виде пуринов (Рисунок 1.1.). Такие соединения плохо растворимы в воде, поэтому выводятся в виде бесцветных кристаллов мочевой кислоты.

Цикл образования мочевины или цикл мочевины был разработан Кребсом. Он начинается с молекулы аминокислоты аргинина и заканчивается мочевиной. Синтез же пуринов или мочевой кислоты начинается с переноса аминогруппы с аминокислоты на кетокислоту. Такой перенос или трансаминирование был открыт советским биохимиком Александром Евсеевичем Браунштейном.

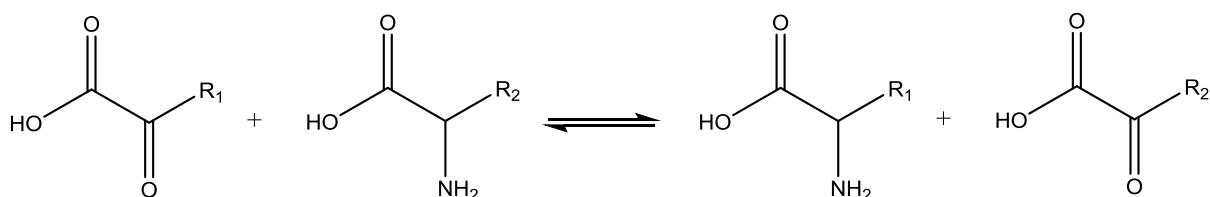


Рисунок 8.4. Трансаминирование.

Трансаминирование протекает без каких-либо промежуточных продуктов под действием трансаминаз. Они имеют кофермент, именуемый фосфопирадоксальем или витамином В₆, необходимый для правильной работы фермента (Рисунок 8.5.).

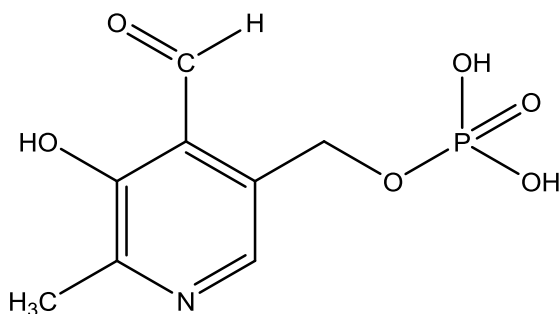


Рисунок 8.5. Фосфопирадоксаль или витамин В₆.

8.2. Катаболизм липидов.

Основой жира составляют триглицериды или сложные эфиры глицерина и кислот с длинными алкильными хвостами (16-20 атомов углерода), получившими название жирных кислот (Рисунок 8.6.).

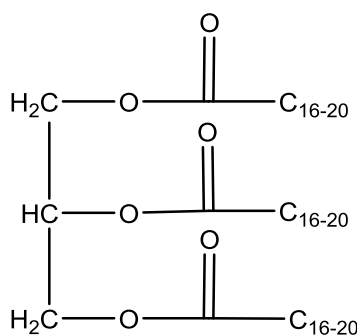


Рисунок 8.6. Триглицериды.

В зависимости от природы жирных кислот образуются различные виды липидов. Например, ненасыщенные нейтральные жиры подставляют собой масла.

На первом этапе катаболизма происходит гидролиз сложных эфиров под действием липаз. Возникает вопрос, что происходит с жирными кислотами. Так как они имеют большой гидрофобный участок, они способны образовывать плёнки или мицеллы в воде. Для переваривания липидов необходимо эмульгировать слипшиеся жирные кислоты, которое происходит под действием желчных кислот. Например, такие кислоты позволяют эмульгировать масло до молока.

В конце девятнадцатого века немецкий биохимик Франц Кнооп химически пришивал к гидрофобному хвосту жирных кислот фенильную группу. Такими производными жирных кислот он кормил собак, после чего изучал состав их мочи, исследуя, в каких соединениях содержится фенильная группа. Кнооп показал, что из кислот с четным числом атомов образуется уксусная кислота, а для кислот с нечетным числом – уксусная и пропионовая кислоты. То есть расщепление жирных кислот происходит по типу β-окисления.

Если усвоить уксусную кислоту организму не составляет труда, а для усвоения пропионовой кислоты в необходим особый механизм, в котором участвует витамин В₁₂, содержащий атом кобальта. Витамин В₁₂ могут синтезировать только некоторые штаммы бактерий, обитающих в сточных водах.

Таким образом, катаболизм биополимеров приводит к образованию не только мономеров, но и более простых соединений, которые могут принимать участие в таких важных энергетических процессах, как цикл Кребса.

8.3. Анаболизм. Фотосинтез.

Процесс фотосинтеза начинается с молекул углекислого газа и воды, из которых в дальнейшем будут построены более сложные молекулы. Процесс фотосинтеза требует затрат энергии, которая хранится в пирофосфатных связях АТФ. При этом процессы анаболизма сопряжены с процессами катаболизма, что позволяет организму накапливать энергию, а не рассеивать её в виде тепла. Однако теплокровность подразумевает рассеивание тепла. То в данном случае происходит некое разобщение сопряжение, которое позволяет нагревать окружающую среду.

Помимо фотосинтеза русским микробиологом Сергеем Николаевичем Виноградским был открыт процесс хемосинтеза, который позволяет некоторым микроорганизмам получать энергию из неорганических соединений.

8.4. Регуляция.

Важным аспектом биохимии является изучение регуляции процесса метаболизма. Одним из таких регуляторов является йод, открытый лишь в двадцатые годы девятнадцатого века. Во многих высокогорных районах йода мало, поэтому люди проживающие в таких условиях страдали вялостью и низкой интеллектуальной активностью. Французские врачи, пытаясь понять, что мешает развитию такие людей, обратили внимание на высокую распространённость зоба или разрастания щитовидной железы среди таких людей. Кроме того, дети, росшие в таких условиях, часто отставали в развитии и страдали кретинизмом.

Оказалось, что добавление в рацион таких людей йодированной соли позволяет полностью избежать сопутствующих проблем со здоровьем. Избыток же функции щитовидной железы приводило к базедовой болезни, характеризующейся высоким обменом веществ и пучеглазостью.

Исследование влияния йода на развитие организма удобно проводить головастиках, так как их созревания включает в себя сложные процессы образования лёгких, лап, длинного языка и т.д. Отсутствие йода не позволяет головастикам превращаться в лягушек, в то время как его переизбыток ускоряет процесс созревания.



ФИЗИЧЕСКИЙ
ФАКУЛЬТЕТ
МГУ ИМЕНИ
М.В. ЛОМОНОСОВА

teach-in
ЛЕКЦИИ УЧЕНЫХ МГУ