

**МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**
**Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Тульский государственный университет»**

«Химические основы биологических процессов»

учебное пособие для самостоятельной работы студентов

Тула
Издательство ТулГУ
2020

УДК 577.1

«Химические основы биологических процессов». Учебное пособие для самостоятельной работы студентов направления подготовки 04.03.01 - Химия: учеб. пособие / О.Н. Понаморева, Т.А. Карасева, С.В. Алферов, Е.Е Бабкина. Тула: Издательство ТулГУ, 2020. 202 с.

Предлагаемое учебное пособие предназначено для самостоятельной работы студентов-химиков по дисциплине «Химические основы биологических процессов». Материал структурирован по темам и удобен для усвоения. В начале каждой темы перечислены изучаемые разделы. Затем приводится подробная программа, и выделены ключевые аспекты, на которые студент должен обратить особое внимание при подготовке. В третьей части помещены задания для закрепления теоретических знаний и более глубокого понимания изучаемого материала, а также тестовые задания для подготовки к промежуточной аттестации. По некоторым темам в конце приводятся варианты контрольной работы

Печатается по решению библиотечно-издательского совета
Тульского государственного университета

© О.Н. Понаморева, Т.А. Карасева,
С.В. Алферов, Е.Е. Бабкина

© Издательство ТулГУ, 2020

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение	4
ТЕМА 1 – Аминокислоты, пептиды, белки.....	5
ТЕМА 2 – Структура и свойства моносахаридов, олигосахаридов и полисахаридов	28
ТЕМА 3 – Липиды и мембраны	34
ТЕМА 4 – Ферменты. Биокатализ	45
ТЕМА 5 – Витамины.....	64
ТЕМА 6 – Биоэнергетика. ЦПЭ и общий путь катаболизма	67
ТЕМА 7 – Обмен углеводов.....	91
ТЕМА 8 – Обмен и функции липидов.....	113
ТЕМА 9 - Основные пути превращения белков и аминокислот	125
ТЕМА 10 – Структура и свойства нуклеозидов - нуклеотидов - нуклеиновых кислот.....	145
ТЕМА 11 - Особенности строения ДНК и РНК	151
ТЕМА 12 – Матричные биосинтезы.....	156
ТЕМА 13 - Регуляция экспрессии генов у про- и эукариот.....	163
ТЕМА 14 – Молекулярные мутации и их биологические последствия	171
ТЕМА 15 - Основы молекулярной биотехнологии.....	176
ТЕМА 16 – Базы данных и серверов по молекулярной биологии и биохимии	199
Библиографический список рекомендованной литературы и другие источники информации.....	207

ВВЕДЕНИЕ

Дисциплина «Химические основы биологических процессов» рекомендована ФУМО по УГСН 04.00.00 *Химия*, как обязательная дисциплина, на последнем курсе подготовки бакалавров-химиков. Это обусловлено закономерным развитием современного общества, в котором самой большой ценностью становится человек. Любые разрабатываемые технологии, новые материалы или продукция должны быть безопасны для человека и природы, способствовать сохранению здоровья и созданию комфортных условий жизни. Поэтому современного специалиста-химика невозможно представить без багажа знаний о молекулярных механизмах функционирования живой природы. Кроме того, этот предмет должен вызвать интерес студентов к самопознанию, к осмыслению взаимосвязи всего живого и своей роли в природе, к осознанному выбору правильного и здорового образа жизни. Эта дисциплина преподается на последнем курсе бакалавриата и способствует окончательному формированию химического мышления у студентов, безусловно, способствует повышению их научно-исследовательского потенциала.

Учебное пособие для самостоятельной работы студентов по дисциплине «Химические основы биологических процессов» содержит планы работ по каждому теоретическому разделу, некоторые важные для понимания предмета материалы, задания и упражнения для самостоятельной подготовки и варианты контрольных домашних заданий, а также список рекомендуемой литературы по каждому разделу курса.

ТЕМА 1 – АМИНОКИСЛОТЫ, ПЕПТИДЫ, БЕЛКИ.

1.1. Разобрать материал следующих разделов темы:

1. **Аминокислоты.** Химические и физико-химические свойства. Стереохимия. Аминокислоты как структурные элементы белков. Заменяемые и незаменимые, полужаменяемые аминокислоты. Методы разделения аминокислот.
2. **Пептидная связь и конформация полипептидной цепи.** Пептиды. Структура и свойства. Биологически активные пептиды. Химия пептидов – новое направление развития лекарственных препаратов.
3. **Белки и их основные признаки** (*Определение, качественные реакции, элементный состав*). Биологические функции белков и пептидов (*с примерами*): ферменты, белки-рецепторы, транспортные белки, антитела, белковые гормоны, сократительные белки, структурные белки, биотоксины, антибиотики, ингибиторы и активаторы ферментов. Молекулярная масса, размер и форма белковых макромолекул (*разнообразие белков с примерами*). Простые и сложные белки. Апопротеины и простетические группы (*примеры простетических групп в сложных белках*)
4. **Физико-химические свойства белков** (*свойства коллоидных растворов белков: высокая вязкость, низкое осмотическое давление, ионизация – амфотерные полиэлектролиты, pI белков, буферные свойства; гидратация, набухания, гидратная оболочка; поглощение в УФ, оптическая активность, светорассеяние*). Методы выделения, разделения и очистки белков (связанные с их физико-химическими свойствами): механические, УЗИ-методов, замораживание-размораживание и др; добавление детергентов; грубая очистка: метод высаливания; методы хроматографии; ультрацентрифугирование; электрофорез в полиакриламидном геле.
5. **Методы количественного измерения концентрации белков**

(Спектрофотометрия; колориметрические методы – биуретовый, Лоури, Бредфорд в сравнении; метод Кьельдаля и его модификация)

6. **Структурная организация белковых молекул.** Первичная структура белков и методы ее определения. Масс-спектрометрия – современный метод определения первичной структуры
7. **Семейства белков и гомология первичной структуры.** Зависимость биологических свойств белков от первичной структуры. Протеом – белковый портрет клетки.
8. **Конформация белковых молекул.** Вторичная структура белков. Основные типы вторичной структуры белков. Роль водородных связей. Сверхвторичные структуры. Домены.
9. **Третичная структура глобулярных белков.** Силы, стабилизирующие третичную структуру белков. Связь третичной и первичной структур. Денатурация и ренатурация белков. Факторы, приводящие к денатурации белков.
10. **Четвертичная структура белков.** Биологические свойства олигомерных белков. Роль четвертичной структуры в проявлении определенных биологических функций белка на примере миоглобина и гемоглобина (кинетика оксигенирования Mb и Hb, транспорт CO₂, эффект Бора, регуляцияДФГ). Биологическое значение олигомерных взаимодействий.

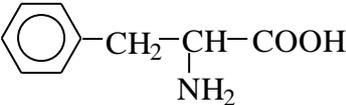
1.2. Для успешного изучения темы необходимо усвоить следующий материал:

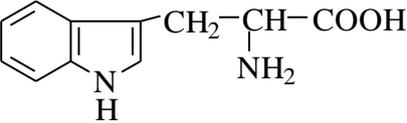
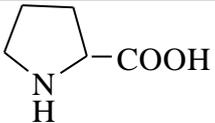
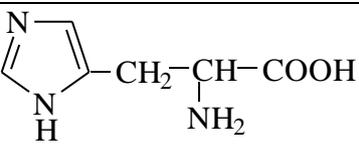
Аминокислоты

1. Выучить аминокислоты.

- Уметь писать формулы 20 аминокислот. Знать сокращенные обозначения аминокислот (табл.1).
- Знать, что в состав белков входят 20 α-аминокислот, которые различаются по строению, размерам и химическим свойствам боковых цепей (радикалов – R).
- Уметь написать формулу α-аминокислоты в общем виде, обозначить углеродный атом и радикал.
- Знать классификацию аминокислот по полярности радикалов

Таблица 1. Важнейшие α-аминокислоты RCH(NH₂)COOH

Формула	Название	Обозначение	pI
<i>Аминокислоты, содержащие неполярный радикал R</i>			
$\begin{array}{c} \text{H}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Глицин	Gly	5,97
$\begin{array}{c} \text{CH}_3-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Аланин	Ala	6,0
$\begin{array}{c} \text{CH}_3-\text{CH}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \quad \\ \text{CH}_3 \quad \text{NH}_2 \end{array}$	Валин	Val	5,96
$\begin{array}{c} \text{CH}_3-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\ \quad \quad \\ \text{CH}_3 \quad \quad \text{NH}_2 \end{array}$	Лейцин	Leu	5,98
$\begin{array}{c} \text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \quad \quad \quad \\ \quad \quad \text{CH}_3 \quad \text{NH}_2 \end{array}$	Изолейцин	Ile	6,02
	Фенилаланин	Phe	5,48

	Триптофан	Trp	5,89
	Пролин	Pro	6,30
$\text{CH}_3\text{-S-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$	Метионин	Met	5,74
<i>Аминокислоты, содержащие полярный неионогенный радикал R</i>			
$\text{HO-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$	Серин	Ser	5,68
$\text{CH}_3\text{-CH(OH)-CH(NH}_2\text{)-COOH}$	Треонин	Thr	5,60
$\text{H}_2\text{NCO-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$	Аспаргин	Asn	5,41
$\text{H}_2\text{NCO-(CH}_2\text{)}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$	Глутамин	Gln	5,65
<i>Аминокислоты, содержащие полярный положительно заряженный радикал R</i>			
$\text{H}_2\text{N-(CH}_2\text{)}_4\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$	Лизин	Lys	9,74
$\text{H}_2\text{N-C(=NH)-NH-(CH}_2\text{)}_3\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$	Аргинин	Arg	10,76
	Гистидин	His	7,59
<i>Аминокислоты, содержащие полярный отрицательно заряженный радикал R</i>			
$\text{HOOC-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$	Аспаргиновая кислота	Asp	2,77
$\text{HOOC-(CH}_2\text{)}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$	Глутаминовая кислота	Glu	3,22

$\text{HO}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$	Тирозин	Tyr	5,66
$\text{HS}-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$	Цистеин	Cys	5,07

Пептиды

2. Уметь писать структурные формулы пептидов.

- Вспомнить, что в белках α -карбоксильная группа одной аминокислоты соединяется с α -аминогруппой другой аминокислоты пептидной связи.
- Вспомнить, что аминокислотные звенья, входящие в состав пептидов, называются обычно остатками. Аминокислотный остаток, имеющий свободную α -аминогруппу, называется N-концевым, а имеющий свободную α -карбоксильную группу, C-концевым.
- Знать, что пептиды пишутся и читаются с N-конца.
- Уметь писать формулу пептида, в состав которого входит пролин, например: Вал-Глу-Про-Ала.
- Обратить внимание на образование пептидной связи с пролином, на отсутствие водорода при атоме азота пролинового остатка в пептиде.
- В написанном пептиде уметь:
 - а) выделить регулярно повторяющиеся группы, образующие пептидный остов, и переменные группы, представленные радикалами аминокислот.
 - б) обозначить N и C – конец.

Пространственные структуры и основы функционирования белков

3. Знать уровни структурной организации белков и основные связи, участвующие в их формировании (табл. 2). Обратить внимание:

- а) На разновидности вторичной структуры (α -спираль, β -структура).
- б) На группы, участвующие в образовании межрадикальных связей;
- в) На способ взаимного узнавания протомеров в олигомерном белке с учетом комплементарных поверхностей.

4. Уметь дать характеристику каждому типу структуры белка по плану:

а) Понятие;

б) Типы связей, участвующих в формировании структуры;

в) Название групп, участвующих в образовании каждого вида связи (с примерами).

5. Получить представление о формировании центров связывания белков с лигандом. Усвоить, что:

а) На белковых молекулах есть центры связывания (активные центры) с другими веществами (лигандами).

б) Центры связывания белков формируются из аминокислотных остатков, сближенных в результате формирования вторичной и третичной структуры белков.

в) Связи между белком и лигандом могут быть нековалентными и ковалентными.

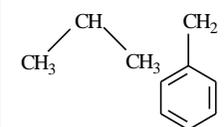
г) Белки проявляют высокую специфичность (избирательность) при присоединении лигандов к центрам связывания.

д) Высокая специфичность взаимодействия белков с лигандами обеспечивается комплементарностью (химическим и пространственным соответствием) структуры центров связывания структуре лиганда.

е) Сложные олигомерные белки могут взаимодействовать с несколькими лигандами на участках, пространственно удаленных друг от друга (аллостерические лиганды).

6. Усвоить понятие «денатурация белка». Денатурация белка – это разрушение нативной конформации белка, вызванное разрывом слабых связей, стабилизирующих его вторичную и третичную структуры, при воздействии денатурирующего агента. Денатурация сопровождается потерей биологической активности белков.

Таблица 2. Уровни структурной организации белков

	Первичная структура	Конформация пептидных цепей		Четвертичная структура		
		Вторичная структура	Третичная структура			
Понятие	Порядок чередования аминокислот в полипептидной цепи	Способ укладки полипептидной цепи в форме α -спирали или β -структуры	Пространственное укладывание полипептидной цепи, обусловленное межрадикальными взаимодействиями	Объединение в определенном порядке двух или большого количества протомеров в молекуле олигомерного белка. Взаимное узнавание протомеров обусловлено особой комплементарной структурой контактных поверхностей.		
Связи, участвующие в образовании связей	Пептидные	Водородные	Межрадикальные			
			Третичная структура	Третичная и четвертичная структуры		
			Дисульфидные	Ионные	Гидрофобные	Водородные
Группы. Участвующие в образовании связей	α -амино и α -карбоксильные	α - спираль: NH- группа данного остатка аминокислот и CO - группа четвертого от него остатка в пептидном остове β - структура: NH- группа и CO - группа сближенных участков пептидного остова	Сульфидгидрильные	Ионные	Алифатические, ароматические	Группы, при сближении которых протон расположен между двумя электроотрицательными элементами
			$\begin{array}{c} \text{--- CH}_2 \text{---} \quad \downarrow \quad \text{--- CH}_2 \text{---} \\ \text{SH} \qquad \qquad \qquad \text{SH} \\ \text{--- S --- S ---} \end{array}$	$\begin{array}{cc} \text{CH}_2 & \text{CH}_2 \\ \text{NH}_3 & \text{COO}^- \end{array}$		$\begin{array}{c} \text{CH}_2 \\ \text{OH} \\ \vdots \\ \text{O}=\text{C} \text{---} \end{array}$

7. Обратить внимание на основные реагенты, денатурирующие белки, их влияние на связи в молекуле белка (табл. 3).

Таблица 3. Реагенты и условия, вызывающие денатурацию.

Денатурирующие агенты	Особенности действия реагента
Высокая температура (выше 60°)	Разрушение гидрофобных и водородных связей (слабых взаимодействий)
Кислоты и щелочи	Изменение диссоциации ионогенных групп, разрыв ионных и водородных связей
Мочевина	Разрушение внутримолекулярных водородных связей в результате образования водородных связей с мочевиной
Спирт, фенол, хлорамин	Разрушение гидрофобных и водородных связей
Соли тяжелых металлов	Образование нерастворимых солей белков и ионов тяжелых металлов

Знать, что в биохимических исследованиях, определенно в биологическом материале низкомолекулярных соединений обычно предшествует этап удаления из раствора белков. Для этой цели чаще всего используется трихлоруксусная кислота (ТХУ). После добавления ТХУ в раствор денатурированные белки выпадают в осадок.

8. Уметь дать сравнительную характеристику структуры и свойств гемоглобина и миоглобина. Для этого обратить внимание на следующее:

а) Оба белка являются гемопротейнами и способны обратимо связывать кислород:

- гемоглобин присоединяет кислород из альвеолярного воздуха и с кровотоком доставляет его в ткани;

- миоглобин присоединяет кислород, доставляемый гемоглобином, и служит промежуточным звеном транспорта внутри клетки к митохондриям, а также для запасания кислорода в тканях.

б) Гемоглобин в отличие от миоглобина является олигомерным белком, молекула которого состоит из 4-х полипептидных цепей (4-х протомеров – 2 α 2 β).

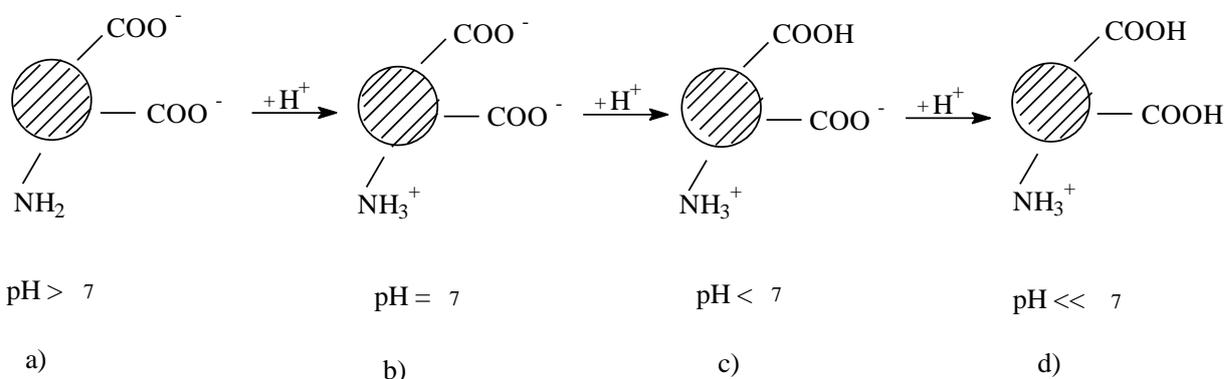
в) Присоединение кислорода вызывает изменение расположения атома Fe в геме, что в свою очередь, влияет на конформацию полипептидной цепи. Для гемоглобина изменение конформации одного протомера при присоединении к нему первой молекулы кислорода вызывает согласованное изменение конформации других протомеров (кооперативные изменения). В результате облегчается присоединение следующих молекул кислорода.

Физико-химические свойства белков

9. Уметь объяснить амфотерные свойства белков и изменение суммарного заряда белков при различных значениях pH.

10. Знать, что белки являются амфолитами, то есть содержат как положительно, так и отрицательно заряженные группы. Степень ионизации катионных и анионных групп, а, следовательно, заряда молекулы белка зависит от значения pH среды. Вспомнить аминокислоты, радикалы которых содержат в своем составе ионогенные группы.

11. Рассмотреть на схеме, как изменится заряд белка при изменении pH среды.



Определить суммарный заряд белка при каждом значении pH.

12. Усвоить понятие:

А) Изоэлектрическое состояние – состояние, когда в белковой молекуле количество положительно заряженных групп равно количеству отрицательно заряженных групп.

Б) Изоэлектрическая точка (pI) – значение pH, при котором белок находится в изоэлектрическом состоянии.

13. Определить, какому положению на схеме соответствует изоэлектрическое состояние белка и в какой области находится его pI . Будет ли белок при этом значении pH перемещаться в электрическом поле?

14. Знать факторы, от которых зависит растворимость белков. Усвоить, что растворимость белков определяется наличием на их поверхности полярных групп, способных взаимодействовать с водой. Знать, что растворимость белков зависит от:

а) свойств белковой молекулы (молекулярной массы, формы молекулы, заряда, количества гидрофильных групп).

б) факторов среды (значения pH раствора, солевого состава раствора, температуры).

15. Знать методы разделения и очистки белков и физико-химические свойства, лежащие в их основе (таблица 4):

- Систематизировать прочитанный материал с помощью таблицы 4.
- Уметь объяснить принцип каждого метода, основываясь на физико-химических свойствах белков.

Таблица 4. Методы разделения и очистки белков

№№ пп	Название метода	Принцип метода
1.	Высаливание	Метод основан на способности белков осаждаться при различной степени насыщения растворов белков сульфатом аммония, а также солями щелочных и щелочно-земельных металлов.
2.	Диализ	Метод основан на неспособности белков проходить через полупроницаемую мембрану, в то время как низкомолекулярные вещества проходят через нее. Применяется для очистки от низкомолекулярных соединений.
3.	Гель-фильтрация	Метод основан на различии в размерах молекул белков. Применяется для разделения белков по молекулярной массе, для определения молекулярной массы белков, для очистки от низкомолекулярных соединений.

4.	Ультрацентрифугирование	Метод основан на зависимости скорости седиментации молекул под действием центробежной силы от их молекулярной массы.
5.	Ионнообменная хроматография	Метод основан на взаимодействии заряженных групп белка с ионными группами полимеров - ионообменников.
6.	Электрофорез в полиакриламидном геле	Метод основан на различиях в скорости движения белков по заряду и молекулярной массе.
7.	Афинная хроматография	Метод основан на связывании белка специфическим лигандом, ковалентно присоединенным к нерастворимому полимеру.

16. Уметь дать сравнительную характеристику структуры и свойств гемоглобина и миоглобина. Для этого обратить внимание на следующее:

а) Оба белка являются гемопротеинами и способны обратимо связывать кислород:

- гемоглобин присоединяет кислород из альвеолярного воздуха и с кровотоком доставляет его в ткани;
- миоглобин присоединяет кислород, доставляемый гемоглобином, и служит промежуточным звеном транспорта внутри клетки к митохондриям, а также для запасания кислорода в тканях.

б) Гемоглобин в отличие от миоглобина является олигомерным белком, молекула которого состоит из 4-х полипептидных цепей (4-х протомеров – 2 α 2 β).

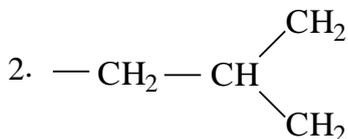
в) Присоединение кислорода вызывает изменение расположения атома Fe в геме, что в свою очередь, влияет на конформацию полипептидной цепи. Для гемоглобина изменение конформации одного протомера при присоединении к нему первой молекулы кислорода вызывает согласованное изменение конформации других протомеров (кооперативные изменения). В результате облегчается присоединение следующих молекул кислорода.

1.3. Задания по теме «Аминокислоты, пептиды, белки».

1. Указать аминокислоты, которые принадлежат изображенным ниже радикалы:



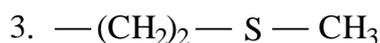
А. Пролин



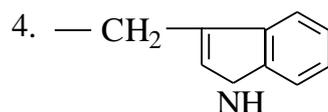
В. Глутаминовая кислота

С. Тирозин

Д. Метионин

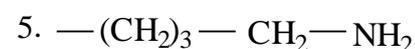


Е. Глутамин

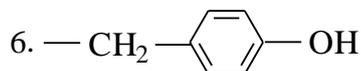


Ф. Лейцин

Г. Триптофан



Н. Лизин



2. Классифицировать аминокислоты по полярности радикалов.

1. Иле

А. Полярная с катионной группой

2. Аси

В. Полярная с анионной группой

3. Глу

С. Полярная незаряженная

4. Гис

Д. Неполярная

5. Сер

6. Про

7. Мет

8. Цис

3. Написать трипептиды

Гис-Асп-Гли, Ала-Про-Арг, Мет-Глу-Лей, Про-Цис-Лиз

4. Подобрать каждому пронумерованному названию уровня структурной организации белка соответствующее понятие, обозначенное буквой:

1. Первичная структура	А. Пространственное взаиморасположение α -спиралей, β -структур, обусловленное образование связей между радикалами аминокислот.
2. Вторичная структура	
3. Третичная структура	

4. Четвертичная структура	В. Порядок чередования аминокислот в полипептидной цепи.
	С. Объединение в определенном порядке двух или большего количества протомеров в молекулу олигомерного белка.
	Д. Способ укладки пептидной цепи в виде α -спиралей, β -структур.
	Е. Конформация полипептидной цепи, в образовании которой участвуют эфирные связи.

5. Какому уровню структурной организации белка соответствует каждый пронумерованный тип связи? Подобрать пары.

1. Связь между карбоксильными и аминогруппами радикалов аминокислот.	А. Первичная структура
2. Связь между α -амино и α -карбоксильными группами аминокислот.	В. Вторичная группа
3. Связь между радикалами цистеина.	С. Третичная группа
4. Водородные связи между атомами пептидного остова	
5. Водородные связи между радикалами аминокислот.	
6. Межрадикальные гидрофобные взаимодействия.	

6. Центр связывания белков с лигандами представляет собой:

1. Совокупность радикалов аминокислот, сближенных на уровне третичной структуры.
2. Фрагмент пептидного остова.
3. Участок поверхности белковой молекулы, комплементарный лиганду.
4. Простетическую небелковую группу белка.

Выбрать наиболее полный и правильный ответ.

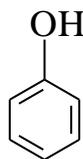
7. Подобрать к каждому белку соответствующую функцию, основываясь на классификации белков по функциям.

- | | |
|-------------------|-------------------|
| 1. Коллаген | А. Структурная |
| 2. Иммуноглобулин | В. Сократительная |
| 3. Инсулин | С. Транспортная |
| 4. Гемоглобин | Д. Каталитическая |
| 5. Актин | Е. Защитная |
| 6. Кератин | Ф. Рецепторная |
| 7. Трансферрин | Г. Регуляторная |
| 8. Мозин | |
| 9. Церулоплазмин | |
| 10. Каталаза | |
| 11. Альбумин | |

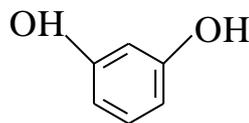
8. Белки клеток, находясь в водном растворе, приобретают такую конформацию, благодаря которой большая часть гидрофобных радикалов аминокислот ориентирована внутрь молекулы. Многие же антисептические средства содержат в своем составе гидрофобные радикалы.

А) Объясните возможный механизм их бактерицидного действия?

Б) Сравните строение двух антисептических средств:



фенол



резорцин

Какой из препаратов лучше растворим в воде? Как из них должен обладать более сильным бактерицидным действием?

9. Денатурация белка сопровождается:

1. Изменение конформации белка.
2. Уменьшением растворимости белка

3. Нарушением связывания белка со специфическими лигандами.

4. Нарушением первичной структуры белка.

10. Установлено, что сродство к кислороду при оксигенации гемоглобина изменяется следующим образом: $Hb < HbO_2 < Hb(O_2)_2 < Hb(O_2)_3$. Причиной увеличения сродства к кислороду каждого из последующих протомеров является (Выбрать один наиболее полный ответ):

1. А. Изменение третичной структуры протомеров.

2. В. Изменение связей, стабилизирующих четвертичную структуру.

3. С. Изменение взаимоположения протомеров.

4. Д. Кооперативные изменения конформации протомеров.

5. F. Изменение расположения атома железа в геме.

11. Какие особенности строения гемоглобина позволяют ему осуществлять функцию переноса кислорода тканям?

1. Олигомерное строение.

2. Способность взаимодействовать с несколькими лигандами в разных участках молекулы.

3. Согласованность (кооперативность) изменения конформации протомеров при взаимодействии с любым из лигандов.

4. Изменение валентности железа при взаимодействии с кислородом

12. Определить суммарный заряд пентапептида при $pH=7$:

глу-арг-лиз-вал-асп

Как изменится суммарный заряд этого пептида

а) при $pH \ll 7$

б) при $pH \gg 7$

13. Сравнить направление движения в электрическом поле при $pH=?$ двух пептидов:

а) вал-глу-ала и б) лей-фен-арг.

14. Сравнить растворимость двух пептидов:

А) сер-ала-глу-тир-асп

Б) тре-арг-фен-гис-три

15. С каким из двух пептидов может взаимодействовать Ca^{+2} , при каком значении рН?

16. Подобрать к каждому пронумерованному методу разделения и очистки белков соответствующие различия в свойствах белков, обозначенные буквой:

- | | |
|-------------------------------|--|
| 1. Ультрацентрифугирование | А. Различия по растворимости |
| 2. Электрофорез | В. Различия по величине заряда суммарного заряда |
| 3. Гель-фильтрация | С. Различия по молекулярной массе |
| 4. Ионообменная хроматография | |
| 5. Солевое фракционирование | |

17. Решить задачу. Дана смесь белков:

Название белка	Молекулярная масса	pI
Церулоплазмин	151000	4,4
α -глобулин	150000	6,3
β -лактоглобулин	37000	5,2

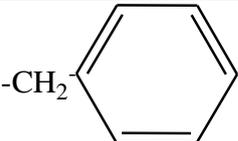
Выбрать методы, с помощью которых можно разделить смесь белков на индивидуальные белки: указать физико-химические свойства белков, лежащие в основе каждого метода.

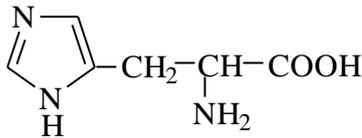
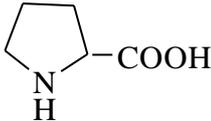
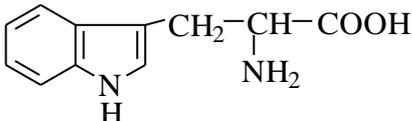
1.4. Самостоятельная контрольная работа «Аминокислоты и белки»

1. На рисунке представлен радикал аминокислоты. Определите, к какой группе аминокислот она относится:

1. гидрофобные;
2. полярные незаряженные;
3. заряженные положительно;
4. заряженные отрицательно.

Напишите формулу аминокислоту в той форме (катион, анион, биполярный ион), в которой эта аминокислота находится преимущественно в нейтральной среде.

Вариант	Боковой заместитель аминокислота	или
1	$\text{---CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH-C(=NH)-NH}_2$	
2	$\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-C(=O)-NH}_2$	
3	$\text{-CH}_2\text{-COOH}$	
4	$\text{-CH}_2\text{-SH}$	
5		
6	$\text{-CH}_2\text{-C(=O)-NH}_2$	
7	-CH(OH)-CH_3	
8	$\text{-CH(CH}_3\text{)-CH}_2\text{-CH}_3$	
9	$\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-COOH}$	
10		
11	$\text{CH}_3\text{-S-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$	
12	$\text{CH}_3\text{-CH(CH}_3\text{)-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$	
13	$\text{HO-CH}_2\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$	
14	$\text{H}_2\text{N-(CH}_2\text{)}_4\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$	
15	$\text{CH}_3\text{-CH(NH}_2\text{)-COOH}$	

16	
17	$\text{H}_2\text{NCO}-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$
18	$\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_2-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$
19	
20	$\text{CH}_3-\underset{\text{CH}_3}{\text{CH}}-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$
21	$\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_4-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$
22	

2. Напишите все возможные ионные формы указанной аминокислоты при изменении pH среды от сильнокислой к сильнощелочной. Рассчитайте изоэлектрическую точку аминокислоты. Приведите расчеты.

Вариант	Аминокислота	Вариант	Аминокислота
1	Cys	12	Phe
2	Tyr	13	Ile
3	Glu	14	Leu
4	Asp	15	Val
5	Lys	16	Ala
6	Gln	17	Pro
7	Asn	18	Arg
8	Thr	19	His

9	Ser	20	Trp
10	Gly	21	Pro-OH (4-гидроксипролин)
11	Met	22	Lys-OH (5-гидроксилизин)

3. Между боковыми радикалами указанных аминокислот при формировании третичной структуры белка возникает:

1. ионная связь;
2. водородная связь;
3. дисульфидная связь;
4. гидрофобное взаимодействие.

Нарисуйте схему взаимодействия двух аминокислот.

Вариант	Аминокислоты	Вариант	Аминокислоты
1	Изолейцин и пролин	12	Серин и аспарагин
2	Аспарагиновая кислота и треонин	13	Треонин и глутамин
3	Цистеин и цистеин	14	Фенилаланин и метионин
4	Лейцин и аланин	15	Глутамин и тирозин
5	Глутаминовая кислота и гистидин	16	Лизин и серин
6	Аргинин и серин	17	Валин и фенилаланин
7	Триптофан и валин	18	Аспарагин и треонин
8	Фенилаланин и аланин	19	Аспартат и аргинин
9	Глутаминовая кислота и аргинин	20	Гистидин и глутамат
10	Лизин и тирозин	21	Тирозин и глутамин
11	Лизин и аспарагиновая кислота	22	Цистеин и цистеин

4. Напишите структурные формулы трипептидов. Какой из этих трипептидов лучше растворим в воде и почему?

Вариант	Трипептид	Вариант	Трипептид
1	А. Glu-Asp-Pro Б. Ala-Cis-Gly	12	А. Trp-Thr-Pro Б. Asp-His-Arg
2	А. Gly-Val-Thr Б. Cys-Asp-Glu	13	А. Phe-Val-Ile Б. Ser-Cys-Asn
3	А. Phe-Phe-Leu Б. Thr-Asn-Gln	14	А. Pro-Gln-Val Б. Pro-Glu-Gln
4	А. Ile-Asp-Ile Б. Glu-Asp-Glu	15	А. Ala-Tyr-Trp Б. Ala-Thr-Lys
5	А. Pro-Arg-Arg Б. Trp-Gly-Leu	16	А. Asp-Phe-Asp Б. Asp-Ser-Asp
6	А. Lys-Arg-Ser Б. Ile-Tyr-Pro	17	А. Gln-Lys-Pro Б. Ala-Met-Gly
7	А. His-Asp-Phe Б. Pro-Phe-Ile	18	А. Asn-Val-Thr Б. Ser-Glu-Asn
8	А. Val-Leu-Met Б. His-Arg-Lys	19	А. Ile-Phe-Val Б. Tyr-Gln-His
9	А. Glu-Glu-Asp Б. Gly-Gly-Ala	20	А. Phe-Asp-Pro Б. Lys-Asp-Glu
10	А. Phe-Tyr-Ser Б. His-Asp-Arg	21	А. Pro-Lys-Ser Б. Val-Gly-Leu
11	А. Cys-Cys-Ser Б. Leu-Val-Leu	22	А. His-Asn-Arg Б. Leu-Cis-Gly

5. Электрофорез аминокислот на бумаге. Каплю раствора, содержащего смесь трех аминокислот, нанесли на полоску бумаги, предварительно смоченную

буфером с $pH=6$, и к концам полоски приложили электрическое напряжение.

Какая аминокислота будет двигаться:

а) к аноду;

б) к катоду;

в) останется на стартовой точке?

Напишите формулы аминокислот в том виде, в котором они будут присутствовать в растворе.

Вариант	аминокислоты	Вариант	аминокислоты
1	1. треонин 2. валин 3. тирозин	12	1. глутаминовая кислота 2. гистидин 3. цистеин
2	1. аргинин 2. глутамин 3. метионин	13	1. триптофан 2. валин 3. аргинин
3	1. цистеин 2. гистидин 3. пролин	14	1. глицин 2. метионин 3. глутаминовая кислота
	1. аланин 2. глутаминовая кислота 3. глицин	15	1. лизин 2. изолейцин 3. аспарагин
5	1. аспарагиновая кислота 2. аспарагин 3. триптофан	16	1. аланин 2. аспарагин 3. аргинин
6	1. лизин 2. тирозин 3. фенилаланин	17	1. гистидин 2. фенилаланин 3. глутамат
7	1. изолейцин 2. глицин 3. глутаминовая кислота	18	1. аспарат 2. аргинин 3. валин

8	1. серин 2. лизин 3. цистеин	19	1. глутамин 2. лейцин 3. лизин
9	1. лейцин 2. тирозин 3. треонин	20	1. глицин 2. изолейцин 3. серин
10	1. глицин 2. аспарагиновая кислота 3. лизин	21	1. аспарагин 2. триптофан 3. гистидин
11	1. аланин 2. пролин 3. серин	22	1. пролин 2. аргинин 3. глутамат

6. Укажите наиболее вероятное расположение боковых радикалов аминокислот в белке: а) на поверхности молекулы или б) внутри глобулы. Ответ обоснуйте.

Вариант	Аминокислоты	Вариант	Аминокислоты
1	1.Аспарагиновая кислота 2.Фенилаланин 3.Лизин 4.Аланин	12	1. Тирозин 2. Лизин 3. Аспарагин 4. Аланин
2	1.Аргинин 2.Тирозин 3.Пролин 4.Изолейцин	13	1. Глутамин 2. Серин 3. Лейцин 4. Изолейцин
3	1.Метионин 2.Треонин 3.Гистидин 4.Цистеин	14	1. Валин 2. Аргинин 3. Лизин 4. Фенилаланин
4	1.Глутамин	15	1. Тирозин

	2.Глутаминовая кислота 3.Триптофан 4.Лейцин		2. Гистидин 3. Триптофан 4. Глутаминовая кислота
5	1.Цистеин 2.Изолейцин 3.Лизин 4.Глутаминовая кислота	16	1. Аспарагиновая кислота 2. Серин 3. Аланин 4. Аргинин
6	1.Глутамин 2.Треонин 3.Тирозин 4.Гистидин	17	1. Аспарат 2. Аланин 3. Лизин 4. Валин
7	1.Метионин 2.Аспарагиновая кислота 3.Лизин 4.Лейцин	18	1. Аргинин 2. Серин 3. Гистидин 4. Изолейцин
8	1.Фенилаланин 2.Метионин 3.Аланин 4.Лизин	19	1. Метионин 2. Треонин 3. Лизин 4. Глутамин
9	1.Тирозин 2.Аспарагиновая кислота 3.Серин 4.Валин	20	1. Аспарагин 2. Глутамат 3. Триптофан 4. Валин
10	1.Лейцин 2.Триптофан 3.Глутаминовая кислота 4.Треонин	21	1. Цистеин 2. Лейцин 3. Аргинин 4. Глутамат

ТЕМА 2 – СТРУКТУРА И СВОЙСТВА МОНОСАХАРИДОВ, ОЛИГОСАХАРИДОВ И ПОЛИСАХАРИДОВ

2.1. Разобрать материал следующих разделов темы:

1. **Биологические функции углеводов с примерами.**
2. **Важнейшие семейства моносахаридов.** Альдозы, кетозы. Триозы, тетрозы, пентозы, гексозы. Дезокси и аминосахара. Стереохимия. D- и L-ряды. Диастереомеры, энантиомеры, эпимеры.
3. **Открытые и циклические (пиранозные и фуранозные) формы.** Образование циклических форм (реакция Ad_N). Гликозидный центр, гликозидный гидроксил.
4. **Нуклеофильное замещение гликозидного гидроксила.** Гликозиды. Биологически важные производные моносахаридов. **Восстанавливающие и невосстанавливающие дисахариды.** Гидролиз дисахаридов. Важнейшие дисахариды и трисахариды. Олигосахариды. Структура и свойства.
5. **Полисахариды.** Структура, классификация, свойства. Биологическое значение. Резервные, структурные и водорастворимые полисахариды

2.2. Для успешного изучения темы необходимо усвоить следующий материал:

1. Уметь писать формулы наиболее распространенных моносахаридов (глюкоза, фруктоза, манноза, галактоза, рибоза) (рис. 1 и 2) и их производных (аминосахаров, дезоксисахаров, гликоновых, гликаровых и гликуроновых кислот).
2. Уметь объяснить цикло-оксо-таутомерию моносахаридов (на конкретном примере).

3. Знать, как соответствуют формулы Фишера формулам Хеуорса для циклических моносахаридов. Уметь называть циклические формы моносахаридов с учетом конфигурации всех атомов в молекуле.

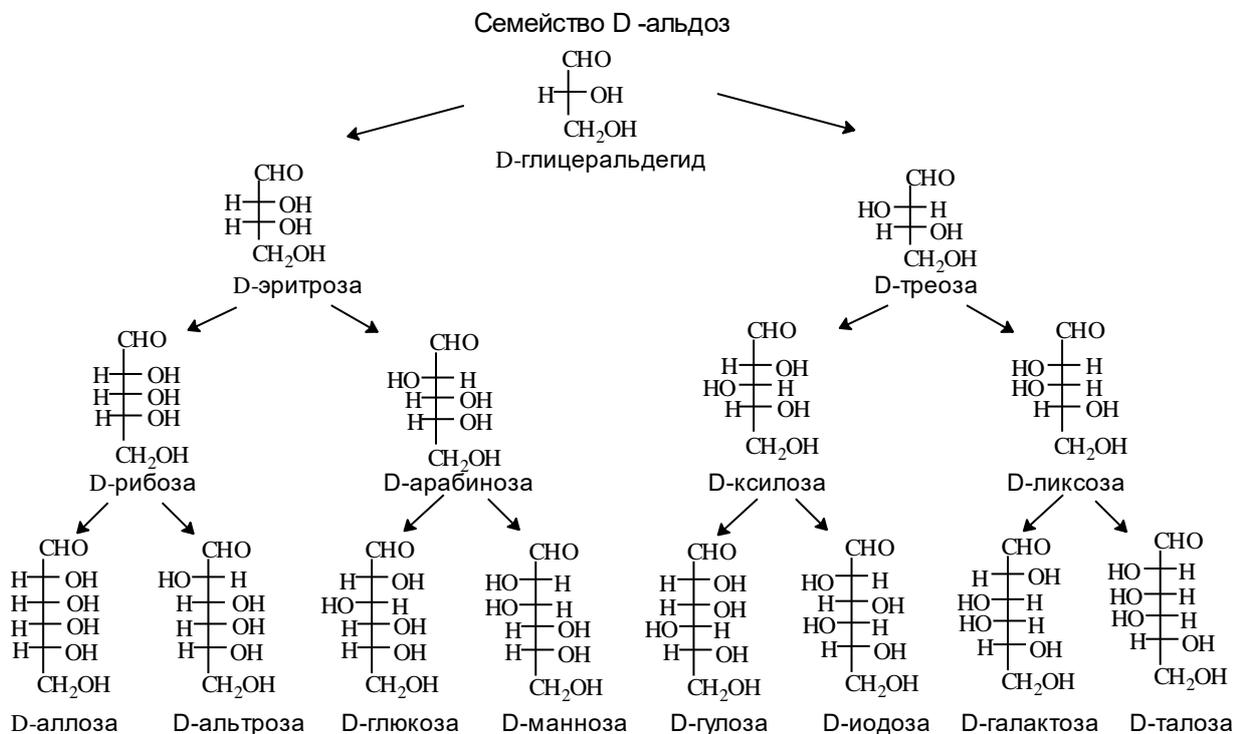


Рис. 1. Семейство D-альдоз

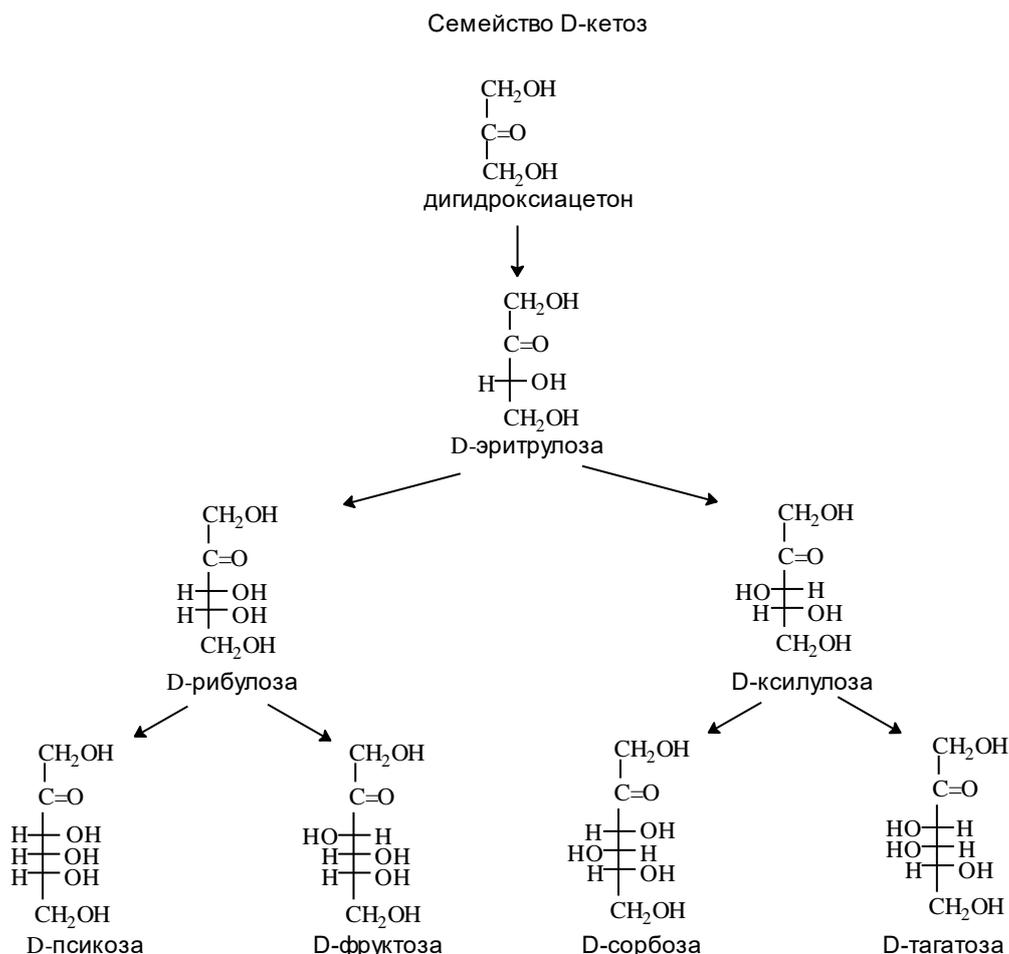


Рис. 2. Семейство D-кетоз

4. Вспомнить основные понятия стехиометрии моносахаридов (эпимеры, энантиомеры, аномеры). Привести примеры всех стереоизомеров для конкретного моносахарида.

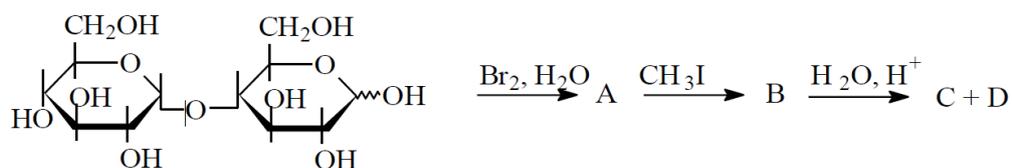
5. Уметь объяснить образование гликозидной связи разной конфигурации.

6. Уметь записывать формулы дисахаридов, исходя из формул моносахаридов.

Знать формулы наиболее распространенных дисахаридов – сахарозы, мальтозы, изомальтозы, лактозы, целлобиозы.

7. Знать химические реакции по функциональным группам моносахаридов.

Например, закончите схему превращений:



1) $\text{Br}_2, \text{H}_2\text{O}$ - мягкий окислитель (окисляет только альдегидные группы)

2) CH_3I - метилирующий агент по гидроксильным группам

3) H_2O , H^+ - кислотный гидролиз.

Какую информацию о строении исходного дисахарида может дать такая последовательность превращений? Назовите дисахарид.

8. Знать структуру, источник и функции важнейших представителей полисахаридов (таблица 5):

Таблица 5. Важнейшие представители полисахаридов.

Поли-сахарид	Моно-сахарид ¹	Моно-сахарид ²	Тип связи	Тип связи в точках ветвления	Источник	Функция
Бактерии						
Муреин	D-GlcNAc	D-MurNAc	$\beta(1\rightarrow4)$	-	Клеточные стенки	сп
Декстран	D-Glc	-	$\alpha(1\rightarrow6)$	$\alpha(1\rightarrow3)$	Слизи	вр
Растения						
Агароза	D-Gal	L-aGal	$\beta(1\rightarrow4)$	$\beta(1\rightarrow3)$	Красные водоросли (агар)	вр
Каррагенан	D-Gal	-	$\beta(1\rightarrow3)$	$\alpha(1\rightarrow4)$	Красные водоросли	вр
Целлюлоза	D-Glc	-	$\beta(1\rightarrow4)$	-	Клеточные стенки	сп
Ксилоглюкан	D-Glc	D-Xyl (D-Gal, D-Fuc)	$\beta(1\rightarrow4)$	$\beta(1\rightarrow6)$ $\beta(1\rightarrow2)$	Клеточные стенки Красные водоросли (гемицеллюлоза)	сп
Арабинан	L-Ara	-	$\alpha(1\rightarrow5)$	$\alpha(1\rightarrow3)$	Клеточные стенки (пектин)	сп
Амилоза	D-Glc	-	$\alpha(1\rightarrow4)$	-	Амилопласты	рп
Амилопектин	D-Glc	-	$\alpha(1\rightarrow4)$	$\alpha(1\rightarrow6)$	Амилопласты	рп
Инулин	D-Fru	-	$\beta(2\rightarrow1)$	-	Запасающ	рп

					ие клетки	
Животные						
Хитин	D-GlcNAc	-	$\beta(1\rightarrow4)$	-	Насекомы е ракообраз ные	сп
Гликоген	D-Glc	-	$\alpha(1\rightarrow4)$	$\alpha(1\rightarrow6)$	Печень, мышцы	рп
Гиалуроновая кислота	D-GlcUA	D-GlcNAc	$\beta(1\rightarrow4)$ $\beta(1\rightarrow3)$	-	Соедините льные ткани	сп, вр

сп – структурные полисахариды

вр – водорастворимые полисахариды

рп – резервные полисахариды

L-aGal – 3,6-Ангидрогалактоза

D-MurNAc – N-Ацетилмураминовая кислота

D-GlcUA – D-глюкуроновая кислота

2.3. Самостоятельная контрольная работа «Углеводы»

Вариант Задание

1. Напишите все возможные стереоизомеры для молекулы D-эритрозы. Напишите формулы всех дисахаридов, которые могут быть образованы из пиранозных форм D-гулозы и её эпимера по второму атому углерода
2. Напишите и назовите все линейные стереоизомеры для D-рибозы. Напишите равновесие между линейными и циклическими формами, устанавливающееся при растворении кристаллической D-галактозы
3. Напишите и назовите все линейные стереоизомеры для D-ксилозы
4. Напишите и назовите все линейные стереоизомеры для D-ликсозы. Напишите и назовите все эпимеры для D-маннозы и D-иодозы.
5. Укажите, по положению хирального атома углерода, по которому отличаются молекулы.
6. Напишите и назовите все эпимеры для D-альтросы и D-галактозы.

Укажите, по положению хирального атома углерода, по которому отличаются молекулы.

9. Напишите и назовите энантиомеры четырех различных альдопентоз.
10. Напишите равновесие между линейными и циклическими формами, устанавливающееся при растворении кристаллической D-маннозы.
11. Напишите и назовите все линейные стереоизомеры для D-арабинозы
12. Напишите формулы всех дисахаридов, которые могут быть образованы из пиранозных форм D-альтрозы и D-маннозы.
Напишите и назовите все эпимеры для D-фруктозы и L-сорбозы.
13. Укажите, положение хирального атома углерода, по которому отличаются молекулы.
14. Напишите все возможные стереоизомеры для молекулы D-треозы.
15. Напишите и назовите все возможные стереоизомеры D-сорбозы.
16. Напишите формулы всех дисахаридов, которые могут быть образованы из пиранозных форм D-галактозы и D-идозы

ТЕМА 3 – ЛИПИДЫ И МЕМБРАНЫ

3.1. Разобрать материал следующих разделов темы:

1. Классификация липидов.
2. **Жирные кислоты** - основные компоненты липидов. Строение, физико-химические свойства. Природные высшие жирные кислоты: пальмитиновая, стеариновая, олеиновая
3. **Незаменимые жирные кислоты Эйкозаноиды** как производные незаменимых жирных кислот. Биологические функции производных незаменимых жирных кислот.
4. Простые липиды. Воска. **Триацилглицеролы**. Строение. Реакции омыления, гидрогенизация жиров. Йодное число жиров, методы определения. Методы определения содержания жиров в пищевых продуктах.
5. **Мембранные липиды**. Фосфолипиды: фосфоглицеролипиды, фосфосфингозины. Гликолипиды.
6. **Неомыляемые липиды**. Холестерин. Стероидные гормоны, желчные кислоты. Терпены.
7. **Строение, свойства, функции клеточных мембран**. Образование липидного бислоя. Роль холестерина в поддержании структуры мембран. Текучесть, асимметричность, непроницаемость мембран. Мембранные белки, гликолипиды и гликопротеины. Жидко-мозаичное строение мембран.
8. **Клеточные стенки бактерий**. Грамположительные и грамотрицательные бактерии. Пенициллин и родственные антибиотики.
9. **Системы унипорта, симпорта и антипорта. Пассивная диффузия, облегченная диффузия. Активный транспорт. Системы активного переноса против градиента концентрации. Роль ионов натрия и калия. АТФ-азная система. Натриевый насос.**

10 Эндоцитоз и экзоцитоз.

3.2. Для успешного изучения темы необходимо усвоить следующий материал:

1. Повторить строение, классификацию, основные физико-химические и биологические свойства липидов.

2. Вспомнить формулы основных жирных кислот, расположение в них двойных связей; знать общие формулы триацилглицеринов, фосфоацилглицеринов.

3. Усвоить основные биологические функции липидов:

- энергетическая (жиры и жирные кислоты);
- структурная (фосфолипидная, холестерин, гликолипиды);
- регуляторная (предшественники многих биологически активных соединений - желчных кислот, стероидных гормонов, витамина Д₃, простанландинов).

4. Вспомнить, что важным свойством фосфолипидов является амфифильность, т.е. способность взаимодействовать как с гидрофобными, так и с гидрофильными, что и обуславливает их способность к организации биологических мембран. Свойства мембран в значительной мере определяются структурной фосфолипидов, входящих в их состав.

Изучить таблицу 6, в которой приведено содержание в сыворотке крови тех компонентов, которые определяют при исследовании обмена липидов у человека.

Таблица 6. Содержание некоторых липидов в сыворотке крови человека в норме

Классы липидов	Содержание в сыворотке: мг на 1 дл единицы СИ	
Общие липиды*	500-1000	5,0-10,0 г/л
Триацилглицерины*	80-120	0,9-1,36 мМоль/л
Свободные жирные кислоты*	14-16	0,50-0,57 мг-экв/л

Холестирин*	200-250	5,2-6,5 мМоль/л
Желчные кислоты	0,2-1,0	5,1-25 мМоль/л
Лipoproteины: (α -лиipoproteины) ЛВП	50-350	1-3,5 л
(β -лиipoproteины) ЛНП	130-730	2-7,0 г/л
Кетонoвые тела*	1-3	10-30 мг/л

5. Выучите формулы представителей глицерофосфолипидов, сфингофосфолипидов, гликолипидов. Обратите внимание на различия в строении липидов.

6. Ознакомьтесь с таблицей 7 и, пользуясь ею, ответьте на следующие вопросы:

- а) Какие свойства фосфолипидов обуславливают образование двойного липидного слоя мембран?
- б) Как разделяются белки по локализации в мембране?
- в) Какие функции выполняют белки мембран?
- г) Как происходит формирование мембран? Укажите роль компонентов мембраны и роль водной среды в этом процессе.

Таблица 7. Состав, свойства и функции компонентов мембран

Показатели	Липиды (25-50%)	Белки (50-70%)
Особенности строения и расположения компонентов в мембране	1. Молекулы фосфо- и гликолипидов амфифильны; гидрофильные части контактируют с водой,	1. Поверхностные белки отличаются по аминокислотному составу от белков цитозоля.

	2. Углеводные компоненты гликолипидов находятся на наружной стороне плазматической мембраны.	2. В интегральных белках часть полипептидной цепи, погруженная в липидный слой, содержит много гидрофобных аминокислот. Простетические группы гликопротеинов находятся на наружной стороне плазматической мембраны.
	3. Наружный и внутренний слой одной и той же мембраны различаются по составу липидов, белков и углеводов (поперечная асимметрия).	
Функции компонентов мембран	1. Образуют двойной липидный слой – основу биологической мембраны.	1. Осуществляют каталитическую функцию.
	2. Создают барьер проницаемости для ионов и полярных соединений.	2. Служат рецепторами гормонов.
		3. Участвуют в иммунологических реакциях.
		4. Обеспечивают избирательный транспорт
Образование мембран: Мембраны образуются путем самосборки в результате гидрофобных взаимодействий молекул липидов между собой и с белками, а также гидрофильных взаимодействий этих компонентов с водной средой.		

7. Познакомьтесь с таблицей 8, обратив внимание на многообразие мембранных структур клетки и различия выполняемых ими функций.

8. Сделайте выводы о роли мембран в организации метаболизма, основными из которых являются следующие: роль мембран обусловлена тем, что они:

1. Делят клетку на отсеки (компарменты);

2. Определяют состав компартментов;
3. Участвуют в регуляции метаболизма.

Таблица 8. Функции некоторых мембран клетки

Плазматическая мембрана	Мембрана лизосом	Мембрана митохондрий	Ядерная мембрана	Мембраны эндоплазматического ретикулула	Мембрана аппарата Гольджи
<p>1. Ограничивает клетку от окружающей среды.</p> <p>2. Регулирует поток веществ с клетку и из клетки.</p> <p>3. Посредством белков-рецепторов обеспечивает взаимодействие клетки с гормонами и другими регуляторными веществами.</p> <p>4. Участвует в соединении клеток</p>	<p>1. Ограничивает ферменты-гидролазы от цитозоля, препятствует аутолизу.</p> <p>2. Обеспечивает поддержание кислой среды (pH5), необходимой для действия гидролаз внутри лизосомы.</p>	<p>1. Обеспечивает терминальное окисление субстратов.</p> <p>2. Содержит ферменты для синтеза.</p> <p>3. Регулирует поток метаболитов.</p>	<p>1. Ограничивает ядро от цитозоля.</p> <p>2. Регулирует поток метаболитов между цитозолем и ядром.</p>	<p>1. Служат местом прикрепления рибосом.</p> <p>2. Участвуют в образовании новых мембран, а также в синтезе ряда веществ (белков, полисахаридов, стероидов и др.).</p> <p>3. Содержат: ферменты «микросомального» окисления.</p>	<p>1. Участвует в образовании плазматической мембраны, секторных гранул, а также в синтезе ряда веществ (белков, полисахаридов, стероидов и др.).</p>

между собой.					
--------------	--	--	--	--	--

9. Знать основные способы транспорта веществ через мембраны.

Познакомьтесь с таблицей 9.

Таблица 9. Способы переноса веществ через мембраны.

Простая диффузия	Облегченная диффузия	Активный транспорт
Диффузия веществ через мембрану по градиенту концентрации и без участия специальных механизмов.	Перенос веществ через мембрану с участием специальных белков (транслоказ)	
	По градиенту концентрации (т.е. без затрат энергии)	Против градиента концентрации (т.е. с затратой энергии)

3.3. Задания по теме «Липиды и мембраны»

1. Подобрать к названиям жирных кислот соответствующие пары:

- | | | |
|------------------|---------|-------------|
| 1. Пальмитиновая | А. 20:4 | (5,8,11,14) |
| 2. Олеиновая | В. 18:2 | (9,12) |
| 3. Линолевая | С. 18:1 | (9) |
| 4. Линоленовая | Д. 18:3 | (9,12,15) |
| 5. Арахидоновая | Е. 18:0 | |
| 6. Стеариновая | Ф. 16:0 | |

2. Написать формулу пальмитоил-олеоил-стеароил-глицерина.

Обратить внимание на то, что ненасыщенные кислоты обычно располагаются в β -положении.

3. Какие функции выполняют перечисленные ниже липиды (подобрать пары):

- | | |
|---------------------|-------------------|
| 1. Холестирин | А. Энергетическая |
| 2. Триацилглицерины | В. Структурная |
| 3. Фосфолипиды | С. Регуляторная |
| 4. Простагландины | |

4. Используя таблицы 7 и 8, ответьте на следующие вопросы:

А) в каких мембранах органеллах клетки происходят преимущественно анаболические реакции?

Б) в каких органеллах происходит преимущественно распад структурнофункциональных компонентов клетки?

В) с какими клеточными органеллами связаны дыхание и синтез АТФ?

Запомните основные выводы, сформулированные в таблице.

3.4. Самостоятельная контрольная работа «Липиды»

В результате гидролиза молекулы липида образовались вещества, указанные ниже. Написать структурную формулу липида и определить, к какому классу липидов он относится.

Вариант	Вещества
1.	Глицерин; лауриновая, пальмитиновая и арахидоновая кислоты.
2.	Глицерин, фосфорная кислота; миристиновая и олеиновая кислоты, серин
3.	Глицерин; линолевая, стеариновая, олеиновая кислоты.
4.	Глицерин, фосфорная кислота, 2 молекулы арахидоновой кислоты, этаноламин.
5.	Сфингозин, фосфорная кислота, пальмитиновая кислота, холин
6.	Глицерин, фосфорная кислота, 2 молекулы линоленовой кислоты, серин.
7.	Сфингозин, арахидоновая кислота, D-рибоза.
8.	Глицерин, фосфорная кислота; арахидоновая и арахидоновая кислоты, холин.
9.	Глицерин; стеариновая, линоленовая, каприновая кислоты..
10.	Сфингозин, фосфорная кислота; линолевая кислота, этаноламин.
11.	Глицерин, фосфорная кислота, 2 молекулы стеариновой кислоты, холин.
12.	Сфингозин, фосфорная кислота; стеариновая кислота, этаноламин.
13.	Сфингозин, фосфорная кислота; арахидоновая кислота, холин.

14. Лауриновая кислота, сфингозин, D-глюкоза.
15. Сфингозин, пальмитиновая кислота, D-галактоза.
16. Глицерин, фосфорная кислота; олеиновая и капроновая кислоты, этаноламин.

3.5. Задания по теме «Перенос веществ через мембрану».

1. Активный транспорт и облегченная диффузия через биологические мембраны характеризуются следующими особенностями: (подберите соответствующий буквенный ответ: ответ может использоваться один раз, несколько раз).

1. Перенос веществ происходит по градиенту концентрации вещества.	А. Характерно для активного транспорта.
2. Перенос веществ осуществляется с помощью белков-переносчиков.	Б. Характерно для облегченной диффузии.
3. Зависимость скорости переноса от концентрации переносимого вещества носит линейный характер.	С. Характерно для обоих процессов.
4. Перенос веществ происходит против градиента концентрации.	
5. Зависимость скорости переноса вещества от его концентрации характеризуется кинетикой насыщения.	

2. Научитесь отличать путем сравнения характерных особенностей активный трансмембранный перенос от других видов транспорта, выполнив предложенные ниже упражнения и задачи:

3. Для каждого типа транспорта нарисуйте в тетради соответствующий график зависимости скорости трансмембранного переноса от концентрации переносимого вещества.

1. Простая диффузия.
2. Облегченный транспорт.
3. Активный транспорт

4. Из мембран эритроцитов человека был выделен переносчик глюкозы и включен в искусственные липосомы. При этом с большой скоростью переносится D-глюкоза из окружающего раствора внутрь липосомы, но не переносится L-глюкоза и др. вещества. Как можно объяснить это явление?

5. Оцените правильность приведенных ниже положений. Механизм действия Na, K – АТФазы, как и других ионных насосов включает:

1. Фосфорилирование и дефосфорилирование трансглюкозы.
2. Конформационные изменения белка-переносчика в процессе его функционирования.
3. Изменение сродства АТФазы к переносимым ионам вследствие конформационных изменений.
4. Появление трансмембранного градиента концентрации ионов и электрического потенциала.

6. Концентрация Ca^{2+} в цитозоле клеток покоящейся мышцы 10^{-7} моль/л. После поступления нервного импульса ионы Ca^{2+} выбрасываются из цистерн эндоплазматического ретикулума и концентрация Ca^{2+} увеличивается до 10^{-5} моль/л – мышца сокращается. Если поступление нервных импульсов прекращается, концентрация Ca^{2+} понижается до первоначальной величины, наступает расслабление мышцы. Куда уходит Ca^{2+} ? Каким образом ?

ТЕМА 4 – ФЕРМЕНТЫ. БИОКАТАЛИЗ

4.1. *Разобрать материал следующих разделов темы:*

1. **Биологическое значение ферментов.** Особенности ферментов как биологических катализаторов (*с примерами*)
2. **Классификация и номенклатура ферментов** (*с примерами*)
3. **Активный центр.** Холофермент и апофермент. Строение активного центра ферментов. Механизм действия ферментов.
4. **Субстратная специфичность ферментов.**
5. **Уравнение Михаэлиса.** Линеризация уравнения. pH-зависимости ферментативных реакций. Зависимость скорости реакций от температуры. Конкурентные и неконкурентные ингибиторы
6. **Методы определения активности и количества ферментов.**
7. **Регуляция метаболических процессов.** Способы регуляции работы ферментов (*с примерами*): ферментов и каталитической активности ферментов. Превращение проферментов в активные формы. Регуляторные (аллостерические ферменты), особенности их строения. Аллостерические эффекторы. Кинетика функционирования олигомерных ферментов. Ковалентная модификация ферментов (фосфорилирование и дефосфорилирование). Каскадный механизм (аденилатциклаза)
8. **Изоферменты.**

4.2. *Для успешного изучения темы необходимо усвоить следующий материал:*

1. Уметь объяснять свойства ферментов их белковой природой.
2. Вспомнить особенности катализируемых реакций; обратить внимание на то, что катализаторы:
 - а) увеличивают скорость химических реакций;
 - б) в процессе реакции не расходуются;

в) в равной степени катализируют как прямую, так и обратную реакции.

3. Усвоить, что белковая природа ферментов обуславливает специфичность их действия. Именно это свойство играет большую роль в определении направления метаболических реакций.

4. Усвоить, что образованию продукта ферментативной реакции предшествует образование фермент-субстратного комплекса. Уметь записать в общем виде реакцию с участием фермента, используя символы: S - субстрат, E - фермент, ES - промежуточный комплекс, P - продукт.

5. Уметь объяснять причины изменения скорости ферментативной реакции при изменении концентрации субстрата (S), фермента (E), температуры и pH среды.

6. Знать характер зависимости начальной скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата, знать определение $V_{\text{макс}}$ и K_x , уметь оценить значение $V_{\text{макс}}$ и K_m по результатам зависимости V от [S].

7. Вспомнить, что ферменты, как и другие белки, имеют изоформы. Изоферменты - это множественные формы фермента, катализирующие одну и ту же реакцию, но отличающиеся по ряду физико-химических свойств.

8. Вспомнить, что специфичность ферментов обусловлена комплементарностью структуры активного центра белка – фермента структуре субстрата. Знать, что ферменты могут различаться по субстратной специфичности (абсолютная, групповая и стереохимическая).

9. Знать способы определения скорости ферментативных реакций.

10. Уметь записать в общем виде схему ферментативной реакции.

11. Знать определения единицы активности фермента и удельной активности фермента.

12. Знать, что активность фермента определяют в условиях, при которых скорость реакции лимитируется только концентрацией фермента. Условия определения активности фермента: насыщающая концентрация субстрата,

оптимальное значение рН раствора, оптимальной температура, в случае хлорофермента присутствует кофермент.

13. Уметь дать характеристику основным типам ингибиторов.

14. Усвоить, что действие ферментов можно полностью или частично подавать (ингибиторовать) определенными химическими веществами (ингибиторами).

15. Обратить внимание на то, что по характеру своего действия ингибиторы подразделяются на обратимые и необратимые. В основе такого деления лежит прочность соединения ингибитора с ферментом.

16. Знать, что обратимое ингибирование может быть конкурентным, если ингибитор является аналогом субстрата и обратимо связывается в активном центре фермента. Отличительная особенность конкурентного ингибирования состоит в том, что его можно ослабить или полностью устранить, повысив концентрацию субстрата.

17. Познакомиться с некоторыми примерами необратимых ингибиторов, которые могут специфически связывать определенные функционально важные группы молекул ферментов: диизопротилфторфосфат (присоединяется к ОН-группе серина в активном центре сериновых ферментов), иодацетат (присоединяется в SH-группе цистеина в активном центре тиоловых ферментов).

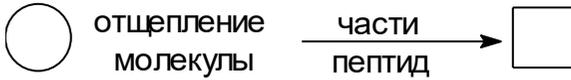
18. Усвоить основные способы регуляции каталитической активности ферментов.

19. Познакомиться с таблицей 10 «Регуляция активности ферментов», обратив внимание на:

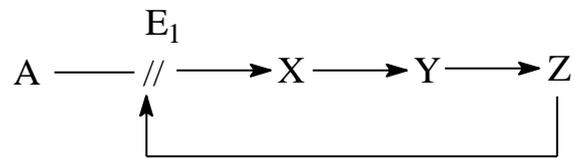
а) Основные виды регуляции каталитической активности ферментов в клетке.

б) Структурные изменения фермента в ходе его активации.

Таблица 10. Регуляция активности ферментов

Вид регуляции	Структура фермента	Неактивная форма фермента Активная форма фермента	Примеры
1. Частичный протеолиз	Обычно одна полипептидная цепь		<p>трипсиноген \longrightarrow трипсин</p> <p>химотрипсиноген \longrightarrow химотрипсин</p>
2. Присоединение или отщепление белков ингибиторов	Олигомер из 2-х типов субъединиц E-каталитическая R-регуляторная	$E - R + \text{ЦАМФ} \xrightarrow{\hspace{2cm}} E$ $R - \text{ЦАМФ}$	Протеинкиназы
3. Фосфорилирование и дефосфорилирование	Олигомер	$E - \text{OH} \xrightarrow{\hspace{2cm}} E - \text{O} - \text{PO}_3\text{H}_2$ $E - \text{O} - \text{PO}_3\text{H}_2 \xrightleftharpoons[\text{H}_2\text{O}]{\text{АТФ} \quad \text{АДФ}} E - \text{OH}$ $\hspace{10em} \text{H}_3\text{PO}_4$	Фосфоорилаза гликогена, липаза тканевая, гликогенсинтетаза
4. Аллостерическая регуляция	Чаще олигомер (2 или несколько субъединиц)	<p>В основе механизма аллостерической регуляции лежит взаимодействие пространственно разделенных центров в молекуле фермента (каталитического и аллостерического). Регулятор связывается с аллостерическим центром регулярной субъединицы, вызывая изменение ее конформации. Это вызывает изменение пространственной структуры каталитической субъединицы и конформации активного центра.</p>	

20. Обратите внимание на то, что аллостерические ферменты могут участвовать в регуляции по принципу обратной связи, которая контролирует поток веществ через метаболический путь. Например, первый фермент (E_1) последовательного пути превращения вещества A в вещество Z



обычно ингибируется конечным продуктом этого метаболического пути. С другой стороны, активация аллостерического фермента E_1 осуществляется в результате конформационных изменений, происходящих при недостатке вещества Z .

21. Какой характер имеет кривая зависимости скорости реакции, катализируемой аллостерическим ферментом от концентрации субстрата? Изобразить эту зависимость графически.

22. Получить представление о значении ферментов в регуляции обмена веществ.

1. Иметь в виду, что ферменты, регулирующие скорость метаболических путей:

а) Обычно действуют на ранних стадиях метаболических путей, в местах ключевых разветвлений метаболических путей.

б) Катализируют в условиях клетки либо практически необратимые реакции, либо реакции, протекающие наиболее медленно.

2. Знать, что скорость ферментативной реакции в клетке зависит от количества и от активности фермента, а также от концентрации субстрата (пример с глюкокиназой).

3. Знать, что количество фермента в клетке определяется соотношением скоростей его синтеза и распада. Регуляция скорости ферментативной реакции путем изменения фермента является более медленным процессом, чем

регуляция изменением активности фермента, что проявляется практически мгновенно.

4. Вспомнить, что формирование активного центра, а, следовательно, специфичность и каталитическая активность фермента зависят от его пространственной структуры. Усвоить, что регуляция активности ферментов обусловлена их конформационной лабильностью.

5. Знать, что активность фермента в клетке, в основном зависит от концентрации кофермента и эффекторов-регуляторов.

6. Знать, что, меняя относительную активность ферментов, обмен веществ можно направлять по разным возможным путям.

4.3. Задания по теме «Ферменты. Биокатализ».

1. Влияние высокой температуры на активность фермента. Оптимальные условия для действия глутаматдекарбоксилазы: температура t 37°, рН 4,5. При повышении температуры инкубационной пробы до 75° количество субстрата, превращаемого ферментов (концентрация фермента и время инкубации те же, что и при t 37°) уменьшилось вдвое. Почему произошло снижение скорости реакции? Можно ли при ответе на вопрос использовать следующую последовательность рассуждений?

1. Повышение температуры приводит к разрыву слабых связей.
2. Изменяется конформация фермента, а, следовательно, и активного центра.
3. Количество активных молекул уменьшается.

2. Влияние изменения рН на активность фермента. Объяснить причины инактивации глутаматдекарбоксилазы, если рН инкубационной смеси увеличить до 10,0. Для этого ответить на следующие вопросы:

- 1) Как повлияет изменение рН на степень ионизации функциональных групп фермента и субстрата - глутаминовой кислоты?
- 2) Как эти изменения отразятся на структуре фермента?
- 3) Произойдут ли изменения в активном центра фермента?

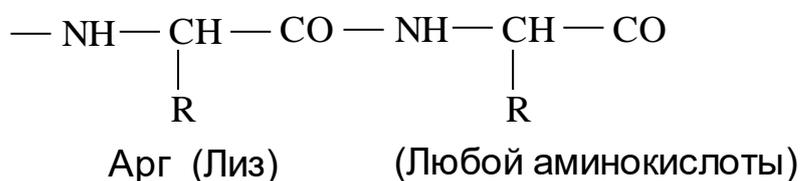
4) Как эти изменения отразятся на ферментативной активности?

3. Оптимальные условия действия глутаматдекарбоксилазы t 37° и pH 4,5. Активность фермента изменяется при повышении t до 75° и pH до 10,0, так как происходит (найти соответствие цифр буквам):

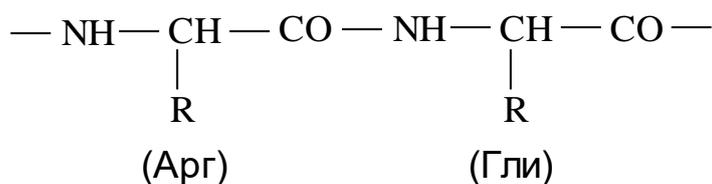
1. Изменение конформации молекулы фермента	А. Только при pH 10,0
2. Утрата комплементарности активного центра и субстрата	В. Только при 75°
3. Гидролиз пептидных связей фермента	С. При изменении обоих условий
4. Изменение ионизации функциональных групп субстрата	Д. Не происходит при изменении ни одного из условий
5. Изменение ионизации функциональных групп фермента	

4. Специфичность протеолитических ферментов. Протеолитические ферменты, катализирующие гидролиз пептидных связей, например, трипсин и субтилизин, различаются по субстратной специфичности. Обратив внимание на аминокислоты, участвующие в образовании пептидных связей, гидролизуемых указанными ферментами, ответить на вопрос. Какой из этих ферментов демонстрирующих групповую специфичность, обладает узкой, а какой наиболее широко субстратной специфичностью?

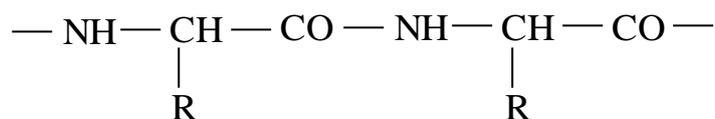
Трипсин (фермент пищеварительного тракта):



Тромбин (фермент системы свертывания крови):



Субтилизин (бактериальный фермент)



(Любой аминокислоты) (Любой аминокислоты)

5. Подобрать соответствующие пары вопрос-ответ:

1. Увеличивают скорость химической реакции	А. Небиологические катализаторы
2. Термолабильны	В. Ферменты
3. В процессе реакции не расходуются	С. Обе группы катализаторов
4. Обладают высокой специфичностью	Д. Ни одна из групп катализаторов
5. Чувствительны к небольшим изменениям рН	

6. Пример расчета удельной активности фермента. Рассчитать удельную активность уреазы, если 75 мг этого фермента за 5 мин при 25°C расщепляют 3 г мочевины (мол. Масса мочевины – 60).

1. Выразить количество субстрата в мкмоль по формуле: $\text{мкмоль} : \frac{г \cdot 10^6}{\text{мол.масса}}$

2. Рассчитать общее количество единиц ферментативной активности:

$$\frac{\text{мкмоль}S(P)}{\text{мин}}$$

3. Рассчитать удельную активность по формуле:

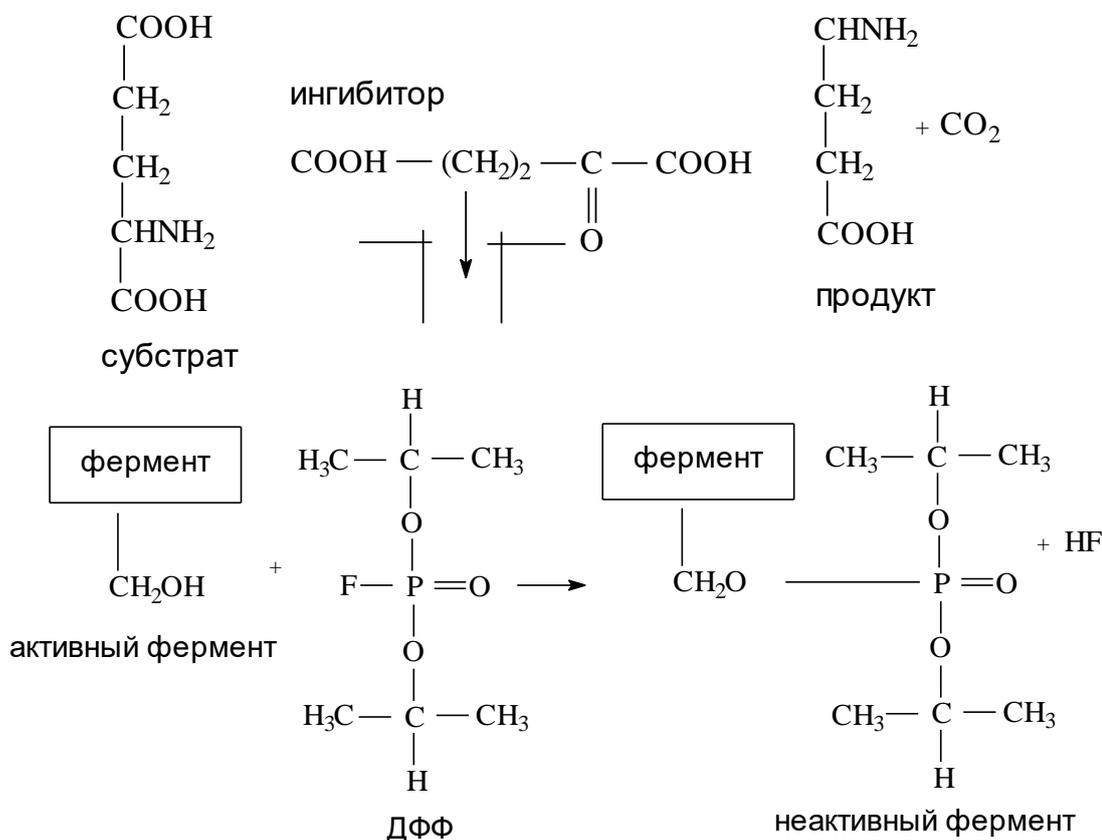
$$\text{уд.активность} : \frac{\text{общеекол-воединицаактивности}}{\text{мгбелка}} = \frac{\text{мкмоль}S(P)}{\text{мин} \cdot \text{мг}}$$

7. Обратимо ли действие ингибиторов в следующих реакциях? Какие данные по инактивации ферментов, приведенные в этих уравнениях, доказывают Ваши рассуждения:

А)



Б)



8. Действие фторфосфатов на ацетилхолинэстеразу. Фермент ацетилхолинэстераза катализирует гидролиз ацетилхолина, функционирующего в качестве нейромедиатора. Продукты его распада — ацетат и олин — не способны действовать как нейромедиаторы. Данный фермент необратимо инактивируется органическими фторфосфатами, например ДФФ, по следующей схеме:

Аналогично ДФФ с ацетилхолинэстеразой взаимодействует одно из самых сильных отравляющих веществ — зарин, имеющее следующую структуру:

12. Проанализировать приведенные ниже данные зависимости степени ингибирования фермента глутаматдегидрогеназы салицилатом и аспаратом. Учитывая, что в обоих случаях активность фермента можно восстановить, удалив ингибитор:

а) Какое и веществ является конкурентным ингибитором, какие результаты это доказывают?

б) Предложить метод, который можно использовать для удаления ингибитора.

Ингибирование аспаратом (концентрация аспарата постоянна)

Концентрация субстрата, мМ	2,0	3,0	4,0	10,0	15,0
Степень ингибирования, %	37	33	31	28	26

Ингибирование салицилатом (концентрация салицилата постоянна)

Концентрация субстрата, мМ	1,5	2,0	3,0	4,0	8,0
Степень ингибирования, %	62	60	50	62	63

13. Регуляция активности фермента может происходить путем изменения конформации молекулы фермента, что может быть вызвано:

1. Частичным протеолизом молекулы фермента.
2. Взаимодействием с эффектором.
3. присоединением или отщеплением белка-регулятора.
4. Фосфорилированием или дефосфорилированием.

14. Аллостерические ферменты:

1. Имеют четвертичную структуру.
2. Имеют регуляторный центр.
3. Имеют каталитический центр.
4. Обладают кооперативными конформационными изменениями

15. Сравнить взаимодействие субстрата и аллостерического эффекта с ферментом.

1. Связывается с регуляторным центром	А. Субстрат
2. Связывается с каталитическим центром	В. Аллостерический эффектор
3. Связывание вызывает конформационные изменения фермента	С. Оба
4. Лиганд претерпевает структурные изменения в ходе катализа	Д. Ни один

4.4. Контрольная самостоятельная работа по теме «Ферменты»

1. Укажите класс фермента катализирующего следующую реакцию.
Назовите фермент.

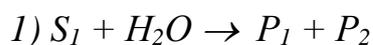
Вариант	Катализируемая реакция
1	$\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_2-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH} + \text{NH}_3 \xrightarrow[\text{АДФ+Ф}_\text{H}]{\text{АТФ}} \text{NH}_2-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-(\text{CH}_2)_2-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH} + \text{H}_2\text{O}$ <p style="text-align: center;">L-глутамат L-глутамин</p>
2	$\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_2-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH} \longrightarrow \text{HOOC}-(\text{CH}_2)_2-\text{CH}-\text{NH}_2 + \text{CO}_2$ <p style="text-align: center;">глутамат аминокислота</p>
3	$\text{HOOC}-\text{CH}_2-\underset{\text{H}}{\overset{\text{OH}}{\text{C}}}-\text{COOH} \xrightarrow[\text{НАДН}^*\text{H}^+]{\text{НАД}^+} \text{HOOC}-\text{CH}_2-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{COOH}$ <p style="text-align: center;">малат оксалоацетат</p>
4	$\text{CH}_3-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_2-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{SKoA} + \text{CH}_3-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{SKoA} \rightleftharpoons \text{HOOC}-\text{CH}_2-\underset{\text{OH}}{\overset{\text{CH}_3}{\text{C}}}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{SKoA} + \text{HSKoA}$ <p style="text-align: center;">ацетоацетил-КоА ацетил-КоА beta-гидрокси-beta-метилглутарил-КоА</p>
5	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{C} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2\text{O} \rightsquigarrow \text{PO}_3\text{H}_2 \end{array} \rightleftharpoons \begin{array}{c} \text{CH}_2\text{OH} \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2\text{O} \rightsquigarrow \text{PO}_3\text{H}_2 \end{array}$ <p style="text-align: center;">рибозо-5-фосфат рибулозо-5-фосфат</p>
6	$\text{CH}_3-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{COOH} \longrightarrow \text{CH}_3-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{H} + \text{CO}_2$ <p style="text-align: center;">пируват ацетальдегид</p>

7	$ \begin{array}{ccc} \begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{OH}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2\text{O} \rightsquigarrow \text{PO}_3\text{H}_2 \end{array} & \xrightarrow{\text{НАДФ}^+ \rightarrow \text{НАДФН}^+\text{H}^+} & \begin{array}{c} \text{CH}_2\text{OH} \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2\text{O} \rightsquigarrow \text{PO}_3\text{H}_2 \end{array} + \text{CO}_2 \\ \text{6-фосфоглюконат} & & \text{рибулозо-5-фосфат} \end{array} $
8	$ \begin{array}{ccc} \begin{array}{c} \text{CH}_2\text{-OH} \\ \\ \text{CH-OH} \\ \\ \text{CH}_2\text{-OH} \end{array} & \xrightarrow{\text{АТФ} \rightarrow \text{АДФ}} & \begin{array}{c} \text{CH}_2\text{-OH} \\ \\ \text{CH-OH} \\ \\ \text{CH}_2\text{-O} \rightsquigarrow \text{PO}_3\text{H}_2 \end{array} \\ \text{глицерол} & & \text{глицерол-3-фосфат} \end{array} $
9	$ \begin{array}{ccc} \begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{R}-\text{C} \rightsquigarrow \text{S-KoA} \end{array} + \begin{array}{c} \text{OH} \\ \\ (\text{CH}_3)_3\text{N}^+-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{COOH} \\ \text{карнитин} \end{array} & \longrightarrow & \begin{array}{c} \text{OH} \\ \\ (\text{CH}_3)_3\text{N}^+-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{COOH} \\ \\ \text{O}-\text{C}-\text{R} \\ \\ \text{O} \end{array} + \text{HSKoA} \\ \text{ацил-КоА} & & \text{ацилкарнитин} \quad \text{кофермент А} \end{array} $
10	$ \begin{array}{ccc} \begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{C}=\text{NH} \\ \\ \text{NH} \\ \\ (\text{CH}_2)_3 \\ \\ \text{CH-NH}_2 \\ \\ \text{COOH} \end{array} + \text{H}_2\text{O} & \longrightarrow & \begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ (\text{CH}_2)_3 \\ \\ \text{CHNH}_2 \\ \\ \text{COOH} \end{array} + \begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array} \\ \text{аргинин} & & \text{орнитин} \quad \text{мочевина} \end{array} $
11	$ \begin{array}{ccc} \begin{array}{c} \text{NH} \quad \text{COOH} \\ \quad \\ \text{C}-\text{NH}-\text{CH} \\ \quad \\ \text{NH} \quad \text{CH}_2 \\ \quad \\ (\text{CH}_2)_3 \quad \text{COOH} \\ \\ \text{CH-NH}_2 \\ \\ \text{COOH} \end{array} & \longrightarrow & \begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{C}=\text{NH} \\ \\ \text{NH} \\ \\ (\text{CH}_2)_3 \\ \\ \text{CH-NH}_2 \\ \\ \text{COOH} \end{array} + \begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{CH} \\ \\ \text{HC} \\ \\ \text{COOH} \end{array} \\ \text{аргининосукцинат} & & \text{аргинин} \quad \text{фумарат} \end{array} $
12	$ \begin{array}{ccc} \begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{NH} \\ \\ (\text{CH}_2)_3 \\ \\ \text{CH-NH}_2 \\ \\ \text{COOH} \end{array} + \begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{CH-NH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{COOH} \end{array} & \xrightarrow{\text{АТФ} \rightarrow \text{АМФ}+2\text{Ф}_\text{H}} & \begin{array}{c} \text{NH} \quad \text{COOH} \\ \quad \\ \text{C}-\text{NH}-\text{CH} \\ \quad \\ \text{NH} \quad \text{CH}_2 \\ \quad \\ (\text{CH}_2)_3 \quad \text{COOH} \\ \\ \text{CH-NH}_2 \\ \\ \text{COOH} \end{array} + \text{H}_2\text{O} \\ \text{цитруллин} & & \text{аргининосукцинат} \end{array} $

13	$ \begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{NH}_2 \\ \\ \text{COOH} \end{array} + \text{АТФ} \longrightarrow \begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{C}-\text{OPO}_3\text{H}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{NH}_2 \\ \\ \text{COH} \end{array} + \text{АДФ} $ <p>аспаратат <i>beta</i>-аспартилфосфат</p>
14	$ \begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{COOH} \end{array} \longleftrightarrow \begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{COOH} \end{array} $ <p>треонин <i>alpha</i>-кетобутират</p>
15	$ \begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{C} \\ / \quad \backslash \\ \text{OH} \quad \text{OH} \\ \\ \text{OH}-\text{CH} \\ \\ \text{CH}_2\text{PO}_3\text{H}_2 \end{array} \longleftrightarrow \begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{C} \\ / \quad \backslash \\ \text{OH} \quad \text{OH} \\ \\ \text{H}_2\text{O}_3\text{P}-\text{O}-\text{CH} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array} $ <p>3-фосфоглицерат 2-фосфоглицерат</p>
16	$ \begin{array}{c} \text{HS}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array} \xrightarrow{\text{alpha-кетокислота}} \begin{array}{c} \text{HS}-\text{CH}_2-\text{C}-\text{COO}^- \\ \\ \text{O} \end{array} \xleftarrow{\text{alpha-аминокислота}} $ <p>цистеин 3-меркаптопироват</p>
17	$ \begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{CH}-\text{CH}_3 \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \vdots \\ \text{S} \text{CoA} \end{array} \rightleftharpoons \begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \vdots \\ \text{S} \text{CoA} \end{array} $ <p>метилмалонил-КоА сукцинил-КоА</p>
18	$ \begin{array}{c} \text{SH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}-\text{NH}_2 \\ \\ \text{COOH} \end{array} + \text{O}_2 \longrightarrow \begin{array}{c} \text{SO}_2\text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}-\text{NH}_2 \\ \\ \text{COOH} \end{array} $ <p>L-цистеин L-цистеинсульфинат</p>
19	$ \begin{array}{c} \text{C}_6\text{H}_5 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}-\text{NH}_2 \\ \\ \text{COOH} \end{array} + \begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{COOH} \end{array} \rightleftharpoons \begin{array}{c} \text{C}_6\text{H}_5 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{COOH} \end{array} + \begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}-\text{NH}_2 \\ \\ \text{COOH} \end{array} $ <p>фенилаланин 2-оксоглутарат фенилпироват глутаминовая кислота</p>
20	$ \begin{array}{c} \text{CH}_2-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3 \end{array} + \text{АТФ} \longrightarrow \begin{array}{c} \text{CH}_2-\text{OPO}_3\text{H}_2 \\ \\ \text{CH}_2-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3 \end{array} + \text{АДФ} $ <p>холин фосфохолин</p>

21	$ \begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}-\text{NH}_2 \\ \\ \text{COOH} \end{array} \xrightarrow[\text{NADH H}^+]{\text{NAD}^+} \begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}=\text{NH} \\ \\ \text{COOH} \end{array} $
	глутаминовая кислота иминоглутаровая кислота
22	$ \begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{CH}-\text{OPO}_3\text{H}_2 \\ \\ \text{CH}_2-\text{OH} \end{array} \rightleftharpoons \begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{C}-\text{OPO}_3\text{H}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \end{array} + \text{H}_2\text{O} $
	2-фосфоглицерат фосфоенолпируват

2. Фермент может катализировать следующие реакции:



Для субстрата S_1 величина константы Михаэлиса составляет K_{M1} , для субстрата S_2 – K_{M2} . В каком случае при одинаковой концентрации субстратов скорость реакции будет больше? Ответ обосновать.

Вариант	Константа Михаэлиса, моль/л	Вариант	Константа Михаэлиса, моль/л
1	$K_{M1} = 0,09$ $K_{M2} = 0,9$	12	$K_{M1} = 0,12$ $K_{M2} = 0,68$
2	$K_{M1} = 6,0$ $K_{M2} = 4,0$	13	$K_{M1} = 4,1$ $K_{M2} = 3,7$
3	$K_{M1} = 2,5$ $K_{M2} = 0,7$	14	$K_{M1} = 0,80$ $K_{M2} = 0,02$
4	$K_{M1} = 0,85$ $K_{M2} = 0,61$	15	$K_{M1} = 0,53$ $K_{M2} = 0,95$
5	$K_{M1} = 0,03$ $K_{M2} = 0,04$	16	$K_{M1} = 3,3$ $K_{M2} = 7,4$
6	$K_{M1} = 1,2$ $K_{M2} = 2,7$	17	$K_{M1} = 0,25$ $K_{M2} = 10$
7	$K_{M1} = 5,8$	18	$K_{M1} = 15$

	$K_{M2} = 3,4$		$K_{M2} = 1,2$
8	$K_{M1} = 1,5$ $K_{M2} = 1,1$	19	$K_{M1} = 0,02$ $K_{M2} = 4,7$
9	$K_{M1} = 0,15$ $K_{M2} = 1,50$	20	$K_{M1} = 3,82$ $K_{M2} = 0,02$
10	$K_{M1} = 0,4$ $K_{M2} = 6,0$	21	$K_{M1} = 17$ $K_{M2} = 10$
11	$K_{M1} = 5,3$ $K_{M2} = 3,5$	22	$K_{M1} = 0,01$ $K_{M2} = 0,001$

3. Определите тип ингибирования (конкурентное или неконкурентное) ферментативной реакции по следующим данным:

- Концентрация субстрата, $mM - I$;
- Скорость реакции в отсутствии ингибитора, $mM/c - II$;
- Скорость реакции в присутствии ингибитора, $mM/c - III$.

вариант	данные					
	I	2	5	11	17	-
1	I	2	5	11	17	-
	II	10,5	15	18	18,9	-
	III	5,0	9,7	15	17,2	-
2	I	2	5	10	15	20
	II	6,6	11,5	16	19,4	21,8
	III	3,2	7	10,1	12	13
3	I	1	3	8	16	-
	II	7	12,4	17	18,8	-
	III	2,5	6,7	12,9	16,9	-
4	I	1,5	4	9	20	-
	II	9,5	14	17,5	19,0	-
	III	3,5	8,3	13,7	17,8	-
5	I	1	4	11	18	25

	II	3,2	10,1	16,9	20,9	23,3
	III	1,8	6	10,7	12,9	13,8
6	I	2,5	6	13	20	-
	II	7,8	12,6	18,2	21,8	-
	III	4	7,9	11,4	13	-
7	I	2	4	10	18	-
	II	10,5	14	17,8	18,9	-
	III	5,0	8,3	14,3	17,4	-
8	I	1	2,5	6	13	25
	II	7	11,5	15,9	18,5	19,2
	III	2,5	5,7	11	16	18,3
9	I	3	6	10	15	20
	II	4,7	7,9	10,1	12,0	13
	III	1,9	3	4	4,8	5,0
10	I	2	5	11	17	-
	II	10,5	15	18	18,9	-
	III	2,8	6,7	11	13,1	-
11	I	3	9	18	30	-
	II	8,5	15,4	20,9	24,3	-
	III	4,8	9,8	12,9	14	-
12	I	1,5	3	9	18	-
	II	9,5	12,4	17,5	18,9	-
	III	2	4	9,8	13,5	-
13	I	1	4	8	16	-
	II	7	14	17	18,8	-
	III	1,3	5,4	9,1	13	-
14	I	2	4	8	15	30
	II	6,6	10,1	14,5	19,4	24,3
	III	3,2	6	9,1	12,0	14,0
15	I	2	5	10	15	20

	II	6,6	11,5	16	19,4	21,8
	III	1,3	2,7	4	4,8	5,0
16	I	1,0	2,5	5,0	10	20
	II	7	11,5	15	17,8	19,0
	III	1,3	3,5	6,7	10,4	14
17	I	1,0	2,5	5,5	8,5	-
	II	10,5	15	18	18,9	-
	III	5,0	9,7	15	17,2	-
18	I	4	10	20	30	40
	II	6,6	11,5	16	19,4	21,8
	III	3,2	7	10,1	12	13
19	I	4	12	32	64	-
	II	7	12,4	17	18,8	-
	III	2,5	6,7	12,9	16,9	-
20	I	2	8	18	40	-
	II	9,5	14	17,5	19,0	-
	III	3,5	8,3	13,7	17,8	-
21	I	0,5	2,0	5,5	9,0	12,5
	II	3,2	10,1	16,9	20,9	23,3
	III	1,8	6,0	10,7	12,9	13,8
22	I	0,5	6,0	13,0	20,0	-
	II	7,8	12,6	18,2	21,8	-
	III	4	7,9	11,4	13	-

4. Охарактеризовать фермент по базе данных BRENDA (<http://https://www.brenda-enzymes.org/>):

- а) Класс фермента;
- б) Тип катализируемой реакции (например, гидролиз, декарбоксилирование, перенос метильной группы и т.п.);
- в) Рекомендуемое название;
- г) Систематическое название;

- д) Катализируемая реакция;
- е) Субстраты, субстратная специфичность;
- ж) Молекулярная масса;
- з) Константа Михаэлиса.

Вариант	Номер КФ (EC Number)	Вариант	Номер КФ (EC Number)
1	1.1.3.13	12	2.3.1.6
2	1.1.3.4	13	5.3.1.1
3	1.1.1.47	14	4.2.1.2
4	1.1.1.1	15	6.4.1.2
5	1.1.99.17	16	2.7.1.1
6	1.1.99.8	17	1.1.2.7
7	1.11.1.6	18	1.1.2.8
8	1.11.1.1	19	3.1.1.1
9	3.5.1.5	20	4.1.1.1
10	5.2.1.3	21	5.1.1.1
11	6.3.1.2	22	7.2.1.1

ТЕМА 5 – ВИТАМИНЫ

5.1. Разобрать материал следующих разделов темы:

- 1 **Витамины.** Номенклатура и классификация.
- 2 **Водорастворимые витамины как компоненты коферментов.**
Тиамин. Рибофлавин. Никотинамид. Пантотеновая кислота. Пиридоксин и пиридоксальфосфат. Антагонисты пиридоксальфосфатзависимых ферментов как яды и лекарства. Биотин. Фолиевая кислота. Липокислота. Кобаламин. Аскорбиновая кислота. Биологическая роль витаминов. Авитаминозы (цинга, пеллагра, анемии, берибери).
- 3 **Жирорастворимые витамины.** Витамины А, Д, Е и К как производные изопрена. Биологические функции жирорастворимых витаминов.

5.2. Для успешного изучения темы необходимо усвоить следующий материал:

1. Получить представление о строении коферментов:
 1. Усвоить, что для проявления активности многих ферментов необходим небелковый компонент – кофактор. Роль кофакторов могут выполнять ионы металлов или сложные органические соединения – коферменты. Многие коферменты являются производными витаминов (биотин, ТПФ, ТГФК, НАД, ФАД, КоА). Кофакторы могут быть связаны с белком (апоферментом) непрочно или прочно. В последнем случае небелковая часть фермента называется простетической группой. Уметь писать формулы витаминов РР, В₆, и биотина.
 2. Знать, в состав каких коферментов входят витамины РР, В₁, В₂, В₄ и биотин.
2. Знать основные функции коферментов и простетических групп в ферментативных реакциях.

3. Обратить внимание на то, что коферменты выполняют роль промежуточных переносчиков различных групп в ферментативных реакциях. В качестве примера познакомиться:

- а) с реакциями, в которых принимают участие коферменты НАД и ФАЛ (ФМН). Усвоить, что способность этих коферментов выступать в качестве промежуточных переносчиков водорода связана с наличием в их структуре витаминов РР и В₂ соответственно);
- б) с механизмом переноса аминокрупп при участии пиридоксальфосфата.

5.3. Задания по теме «Витамины».

1. Заполнить таблицу «функции важнейших коферментов». Использовать структурные формулы витаминов и коферментов. Обозначить активные группы коферментов, участвующих в катализе.

ВИТАМИНЫ	КОФЕРМЕНТ	ФУНКЦИЯ КОФЕРМЕНТА
В ₁		
В ₂		
РР		
В ₆		
Биотин		

2. Написать формулы витаминов РР, В₆ и биотина.

3. Производными каких витаминов являются перечисленные ниже коферменты:

- | | |
|---|-------------------|
| 1. ФАД, ФММ | А. РР |
| 2. Пиридоксальфосфат | В. Биотин |
| 3. Биотин | С. В ₂ |
| 4. Тиаминпирофосфат | Д. В ₁ |
| 5. НАД ⁺ , НАДФ ⁺ | Е. В ₆ |

4. В каких реакциях участвуют следующие коферменты:

- | | |
|---|---|
| 1. Биотин | А. Окислительно-восстановит. реакции |
| 2. ФАД, ФММ | В. Реакции связывания CO ₂ |
| 3. Пиридоксальфосфат | С. Реакции переаминирования аминокислот |
| 4. НАД ⁺ , НАДФ ⁺ | |

5.4. Самостоятельная контрольная работа по теме «Витамины»

Напишите формулы соединений. Выделите рабочую часть структуры (приведите фрагмент рабочей части в двух состояниях кофермента. В каких реакциях участвует этот кофермент? Укажите, какой витамин является предшественником кофермента.

- | | |
|----------------------|--------------------------|
| 1. ФАД | 12. Тетрагидрофолат |
| 2. НАД ⁺ | 13. Биотин |
| 3. НАДФ ⁺ | 14. ФАДН ₂ |
| 4. ФМН | 15. НАДН |
| 5. Кофермент А | 16. НАДФН |
| 6. Липоамид | 17. Липоевая кислота |
| 7. Пиридоксальфосфат | 18. ФМНН ₂ |
| 8. Тиаминпирофосфат | 19. Аскорбиновая кислота |
| 9. Липоамид | 20. Рутин |
| 10. Убихинон | 21. Кобаламин |
| 11. Гем а | 22. Цианкобаламин |

ТЕМА 6 – БИОЭНЕРГЕТИКА. ЦПЭ И ОБЩИЙ ПУТЬ КАТАБОЛИЗМА

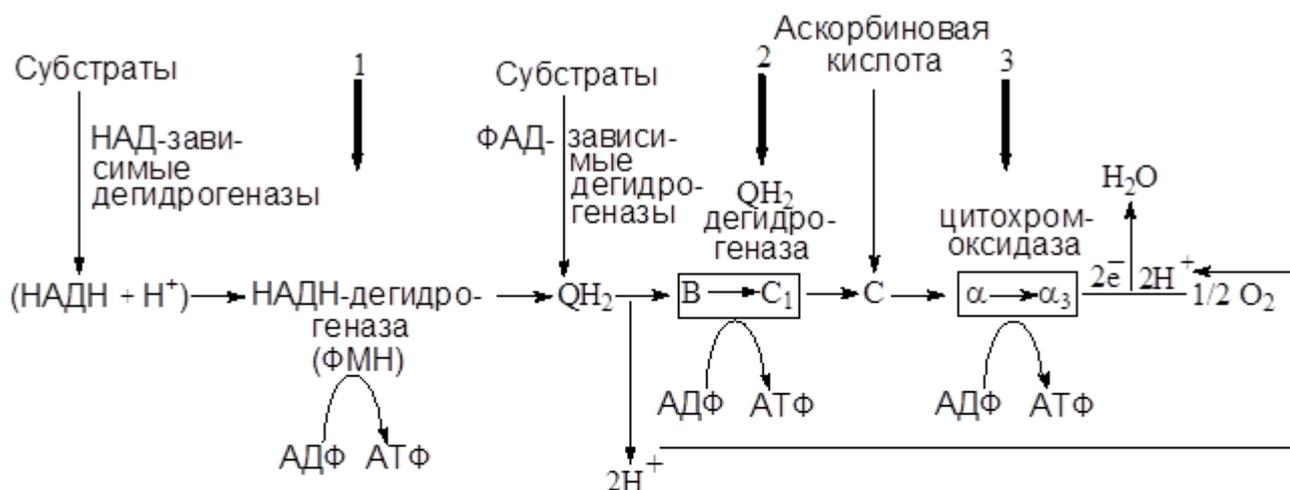
6.1. Разобрать материал следующих разделов темы:

1. **Понятие о метаболизме и метаболических путях.** Метаболизм как совокупность процессов катаболизма и анаболизма. Уровни регуляции метаболизма.
2. **Биоэнергетика.** Элементы термодинамики открытых систем. Сопряжение экзергонических и эндергонических процессов. Макроэргические соединения. АТФ - основной источник и аккумулятор энергии в организме.
3. **Фазы катаболизма основных питательных веществ** в организме. Окислительные реакции катаболических процессов. Субстратное и окислительное фосфорилирование. Клеточное дыхание.
4. **Организация дыхательной цепи** в митохондриях. Направление движения электронов по дыхательной цепи. Электрохимический потенциал. Роль АТФ-синтазы в сопряжении окислительного фосфорилирования с цепью переноса электронов. Коэффициент фосфорилирования при переносе восстановительных эквивалентов на кислород от различных субстратов.
5. Энергетический заряд. Дыхательный контроль. Ингибиторы и разобщители дыхательной цепи и окислительного фосфорилирования.
6. **Окислительное декарбоксилирование** пировиноградной кислоты. Пируватдегидрогеназный комплекс. Последовательность реакций. Биологическое значение.
7. **Цикл лимонной кислоты.** Последовательность реакций. Связь общего пути катаболизма с митохондриальной цепью переноса электронов. Регуляция общего пути катаболизма. Причины ядовитости мышьяка.

6.2. Для успешного изучения темы необходимо усвоить следующий материал:

Дыхательная цепь

1. Усвоить особенности структурной организации и функционирования митохондриальной ЦПЭ. Ознакомьтесь со схемой ЦПЭ (рис.3) и обратите внимание на порядок расположения ее компонентов.



1. Цитохромы В - С₁ входят в состав QH₂- дегидрогеназы

2. Цитохромы α — α₃ входят в состав цитохромоксидазы

Места ингибирования ферментов ЦПЭ указаны жирными стрелками:

1. Ротенон, амитал (аминобарбитал)

2. Антимисин А

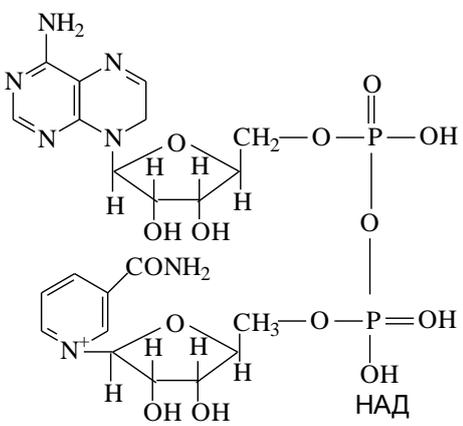
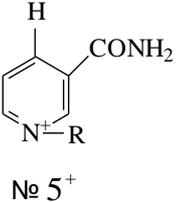
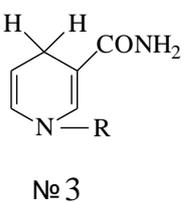
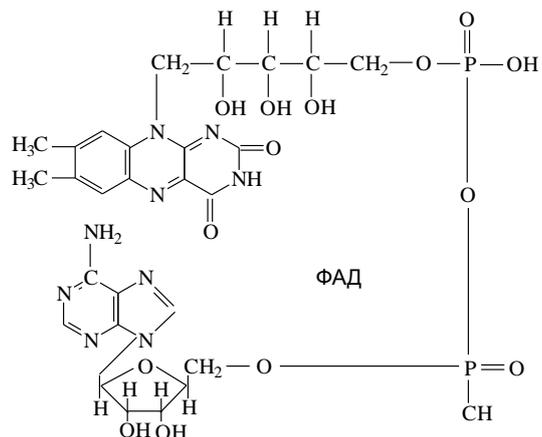
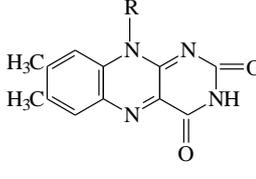
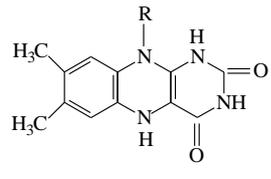
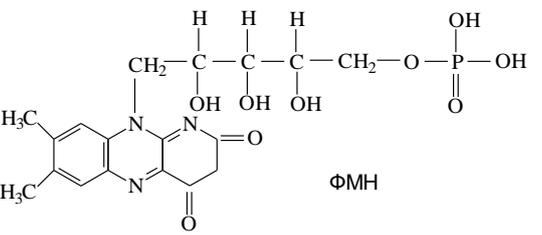
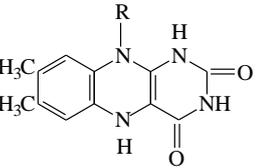
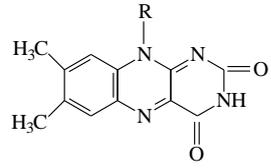
3. Цианиды, СО, Н₂S

Рис. 3. Митохондриальная дыхательная цепь (ЦПЭ)

2. Запомните названия основных ферментных комплексов, катализирующих перенос электронов и протонов от субстратов на кислород воздуха (см. рис.3).

3. Выпишите на карточки названия всех компонентов ЦПЭ (по одному на карточку размером 6 x 4 см). Выучите формулы активной части молекул-переносчиков ЦПЭ в окисленной форме и восстановленной форме (см. табл. 11, рис.3) формулы малата и сукцината.

Таблица 11. Компоненты митохондриальной ЦПЭ

Название фермента	Кофермент	Активная часть кофермента	
		Окислительная форма	Восстановительная форма
1. НАД – зависимые дегидрогеназы		 <p>№ 5⁺</p>	 <p>№ 3</p>
2. ФАД – зависимые дегидрогеназы			
3. НАДН-дегидрогеназа			
4. QH ₂ - дигидрогеназа	Гем (Fe ⁺³)	Гем (Fe ⁺³)	Гем (Fe ⁺³)
5. Цитохромоксидаза	Гем (Fe ⁺³), Cu ⁺²	Гем (Fe ⁺³), Cu ⁺²	А) Гем (Fe ⁺²), Cu ⁺² Б) Гем (Fe ⁺³),

4. Усвоить значение окислительного фосфорилирования как основного пути использования энергии тканевого дыхания. Запомните, что образование воды из водорода и кислорода в организме и вне организма совершается с выделением энергии (210-220 кДж/моль).
5. В организме синтез H₂O происходит в результате окисления субстратов и переноса электронов и протонов на кислород при участии ЦПЭ. Этот процесс сопровождается изменением свободной энергии на каждом этапе ЦПЭ.
6. Обратите внимание на то, что в дыхательной цепи есть три участка, в которых наблюдается большое снижение свободной энергии. Эта энергия используется для синтеза АТФ из АДФ и неорганического фосфата — окислительное фосфорилирование (на рис.3 эти пункты обозначены цифрами 1,2,3).
7. Для идентификации пунктов сопряжения окисления и фосфорилирования применяют специфические ингибиторы. Ротенон и амиадад блокируют перенос электронов НАДН - дегидрогеназой, но не препятствуют окислению сукцината в ЦПЭ (рис. 3, пункт1).
8. Антимидин А блокирует перенос электронов между v и c_1 - цитохромами и синтез АТФ (рис. 3, пункт 2). Однако этот блок можно обойти, если добавить в качестве донора электронов аскорбат, который непосредственно восстанавливает цитохром С.
9. Цианиды, взаимодействуют с Fe⁺³ - формой цитохромоксидазы, блокируют перенос ее на O₂. В результате не происходит соответствующего фосфорилирования АДФ (рис. 1, пункт 3).
10. По схеме ЦПЭ (рис.3) выучите этапы, на которых происходит сопряжение реакций окисления и фосфорилирования, и запомните, что такое коэффициент P/O.
11. Обратите внимание на зависимость скорости окисления субстратов от концентрации АДФ (дыхательный контроль).

12. Запомните, что некоторые липофильные вещества — протонофоры (например, 2,4-динитрофенол) резко повышают проницаемость внутренней мембраны митохондрий для ионов H^+ . Они разобщают перенос электронов по ЦПЭ и синтез АТФ (разобщающие агенты).

13. Окислительное фосфорилирование подавляют также вещества, которые увеличивают проницаемость мембраны для ионов Na^+ , K^+ - ионофоры (напр. валиномицин - для K^+).

Последовательность реакции, ферменты и энергетическое значение реакции общего пути катаболизма

14. Усвоить последовательность реакции окислительного декарбоксилирования пирувата как одного из этапов общего пути катаболизма.

15. Обратите внимание на то, что исходными субстратами общего пути катаболизма являются пировиноградная кислота или ацетил-КоА.

16. Выпишите в тетради суммарное уравнение окислительного декарбоксилирования пирувата.

17. Выучите название ферментов и формулы коферментов, входящих в состав пируватдегидрогеназного комплекса.

18. Напишите в виде схемы реакции окислительного декарбоксилирования пирувата.

19. Определите количество моль АТФ, синтезируемое за счет дегидрирования I моль пирувата.

Для этого:

1) Напишите суммарное уравнение окислительного декарбоксилирования пирувата.

2) Вспомните, что коэффициент окислительного фосфорилирования (P/O) равен числу молекул АТФ, образованных в расчете на один атом кислорода, использованного в процессе дыхания.

3) Поскольку в результате окисления пирувата до ацетил-КоА акцептором водорода является НАД⁺, перенос синтезом 3 молекул АТФ, т.е. P/O = 3 (рис.4).

20. Выучить основные этапы и усвоить физиологическую роль цитратного цикла.

21. Выучите формулы три- и дикарбоксильных кислот: цитрата, изоцитрата, α-кетоглутарата, сукцината, фумарата, малата и оксалоацетата (ЩУК).

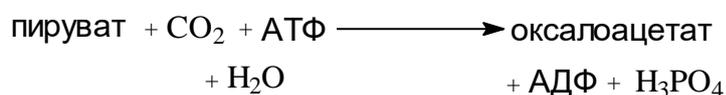
22. Выучите последовательность реакций, составляющих цитратный цикл, названия ферментов, катализирующих эти реакции, и их коферментов.

23. Выделите из этой последовательности реакции дигидрирования и реакции, которые сопровождаются выделением CO₂.

24. Используя схему связи общего пути катаболизма с ЦПЭ (рис.4), проследите путь водорода от окисляемых субстратов к кислороду и оцените выход АТФ для отдельных реакций и цитратного цикла в целом.

25. На примере реакции превращения сукцинил-КоА в сукцинат познакомьтесь с реакцией субстратного фосфорилирования в цитратном цикле.

26. Обратите внимание на тот факт, что цитратный цикл выполняет не только катаболическую роль. Метаболиты цитратного цикла служат предшественниками важных веществ в организме, например, аминокислот. Убыль метаболитов цикла восполняется с помощью вспомогательных реакций, главной из которых является реакция карбоксилирования пирувата:



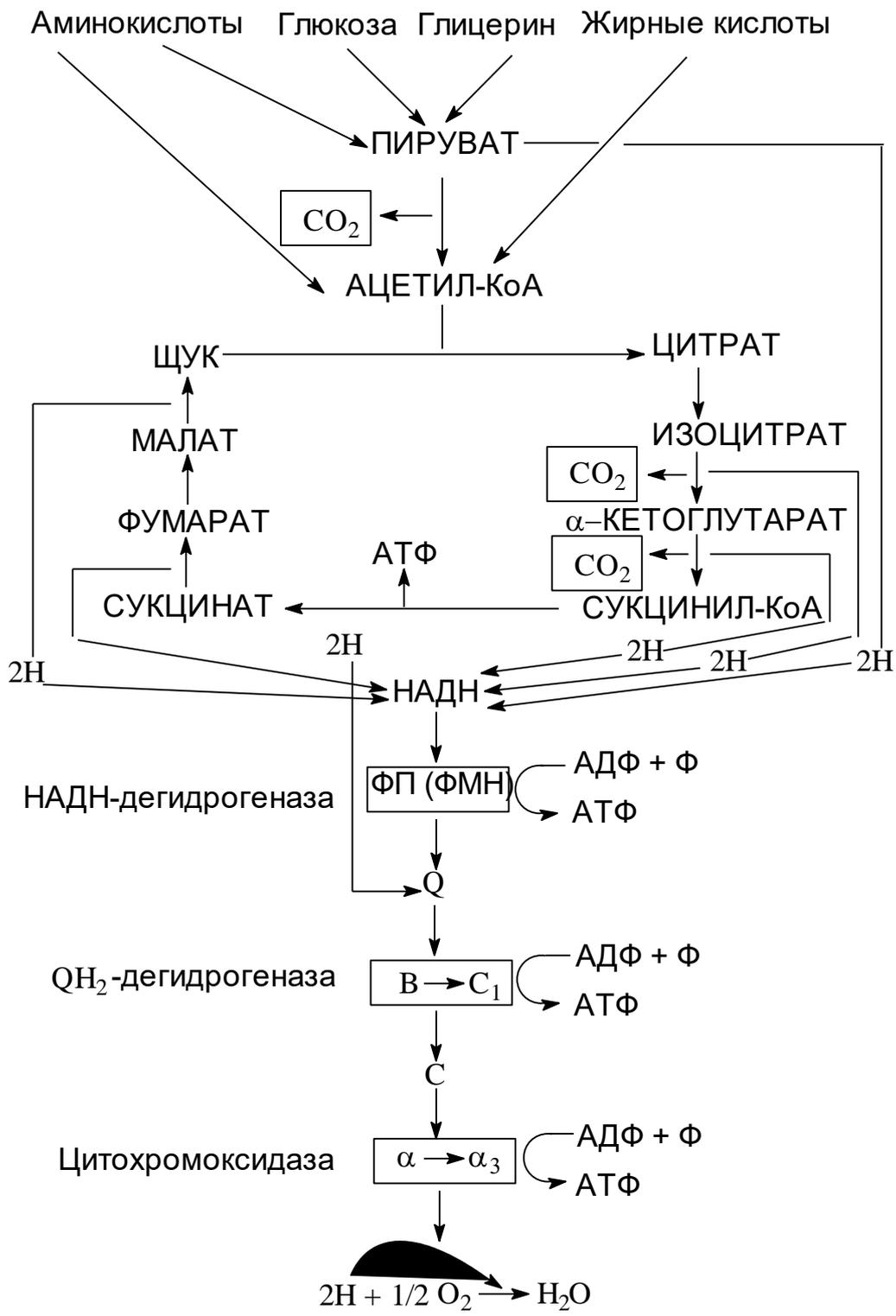


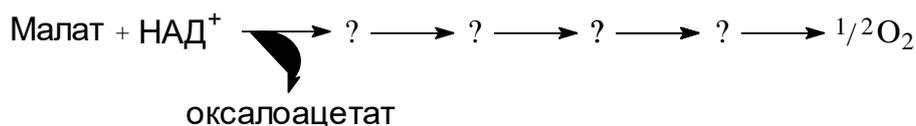
Рис. 4. Связь общего пути катаболизма с ЦПЭ

6.3. Задания по теме «Биоэнергетика и метаболизм»:

1. Подберите к каждому пронумерованному ферменту ЦПЭ соответствующий кофермент, обозначенный буквой:

- | | |
|------------------------------------|--------------------------|
| 1. НАДН-дегидрогеназа | А. ФАД |
| 2. ОН ₂ - дегидрогеназа | В. Гем |
| 3. Цитохромоксидаза | С. ФМН |
| 4. Малатдегидрогеназа | Д. Гем, Cu ²⁺ |
| 5. Сукцинатдегидрогеназа | Е. НАД ⁺ |
| | Ф. НАДФ |

2. Окисление малата (яблочной кислоты) катализируется НАД-зависимой дегидрогеназой. Представьте в виде схемы основные этапы переноса электронов от малата к кислороду, заполнив пропуски в цепи реакций:

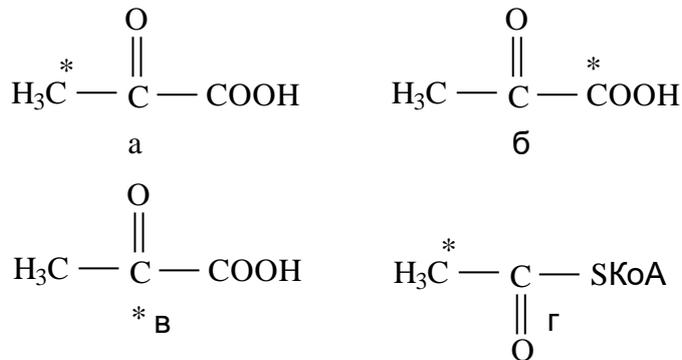


3. Выберите из перечисленных реакций те, которые сопряжены с синтезом АТФ:

1. НАДН + Н⁺ + Q → НАД⁺ + QH₂
2. Сукцинат + Q → фумарат + QH₂
3. QH₂ + 2 цит с (Fe³⁺) → Q + 2 цит с (Fe²⁺) + 2H⁺
4. Малат + НД⁺ → оксалоацетат + НАДН + Н⁺

4. В годы первой мировой войны на заводах в странах Западной Европы, где производства взрывчатых веществ использовали 2,4-динитрофенол, среди рабочих наблюдались случаи тяжелого отравления, сопровождающегося высоким подъемом температуры, часто со смертельным исходом. Как можно объяснить причину такого отравления?

5. Проследите за судьбой радиоактивной метки в одном обороте цитратного цикла, если к клеточному экстракту, содержащему ферменты и кофакторы пируватдегидрогеназного комплекса и цитратного цикла, последовательно добавлять по одному из указанных ниже соединений (метка ^{14}C обозначена звездочкой):



6. Выберите утверждения, определяющие биологическую роль общего пути катаболизма:

1. Синтез АТФ
2. Образование субстратов для ЦПЭ
3. Образование субстратов для реакций анаболизма
4. Образование конечных продуктов катаболизма

6.4. Самостоятельная контрольная работа по теме «ЦПЭ и общий путь катаболизма»

Вариант № 1

1. Напишите реакцию окисления НАДН в ЦПЭ. Укажите фермент и кофермент. Напишите формулу рабочей части НАД в окисленной и восстановленной форме.
2. Выберите соединения, участвующие в переносе электронов от янтарной кислоты на кислород, и разместите их так, как они располагаются в дыхательной цепи.
 - А. Кислород
 - В. Малатдегидрогеназа

- C. НАДФ⁺
- D. Сукцинатдегидрогеназа
- E. QH₂-дегидрогеназа
- F. Цитохромоксидаза.
- G. Q (убихинон)
- H. НАДН-дегидрогеназа
- I. НАД⁺
- J. Цитохром-с

3. Напишите реакции окислительного декарбоксилирования пировиноградной кислоты (пируват мечен по второму углеродному атому - ¹⁴C).
- A. Укажите меченый атом углерода в продуктах реакций.
 - B. Перечислите названия ферментов и коферментов.
 - C. Определите коэффициент P/O для данной реакции.
4. Аскарида, паразитирующая в кишечнике человека, в качестве единственного источника энергии использует первую окислительно-восстановительную петлю ЦПЭ. Представьте в виде схемы топографию этой петли во внутренней мембране митохондрий. Укажите субстраты–доноры водорода, используемые аскаридой для получения энергии. Объясните, почему аскарида не может использовать для синтеза АТФ ЦПЭ на всем ее протяжении (т.е. все три окислительно-восстановительных петли)?

Вариант № 2

1. Напишите формулу рабочей части кофермента Q в окисленном и восстановленном виде. Назовите фермент дыхательной цепи, катализирующий окисление КоQH₂.
2. Выберите соединения, участвующие в переносе электронов от яблочной кислоты на кислород, и разместите их так, как они располагаются в дыхательной цепи.
 - A. Q (убихинон)
 - B. Малатдегидрогеназа

- C. НАДН-дегидрогеназа
- D. Цитохром с
- E. НАДН
- F. QH₂-дегидрогеназа
- G. Сукцинатдегидрогеназа
- H. НАДФ⁺
- I. Цитохромоксидаза
- J. Кислород

3. Напишите реакции превращения сукцинил-КоА в малат.
- A. Укажите реакцию дегидрирования и назовите фермент и кофермент
 - B. Определите, какое количество АТФ (моль) на 1 моль малата может синтезироваться за счет этих реакций.
 - C. Определите коэффициент P/O для данной реакции.
4. Уабаин - токсичный гликозид, избирательно подавляющий активность Na⁺,K⁺-АТФазы в животных тканях и не влияющий на активность других известных ферментов. Однако по мере добавления уабаина в возрастающих концентрациях к тонким срезам почечной ткани наблюдается нарастающее торможение потребления кислорода вплоть до 66%. Объясните причину этого явления. Какой вывод можно сделать относительно использования энергии дыхания в почечной ткани?

Вариант № 3

1. Напишите формулу рабочей части ФАД в окисленном и восстановленном виде. Назовите фермент в дыхательной цепи, в состав которого входит ФАД.
2. Выберите соединения, которые участвуют в переносе электронов от изоцитрата на кислород, и разместите их так, как они располагаются в дыхательной цепи.
 - A. НАД⁺
 - B. ФАД
 - C. Цитохром с

- D. Цитохромы $a a_3$
 - E. Убихинон
 - F. Кислород
 - G. ФМН
 - H. H^+ АТФаза
 - I. Цитохромы $b c_1$
 - J. Сукцинатдегидрогеназа
3. Напишите реакции превращения цитрата в α -кетоглутарат
- A. Укажите названия ферментов
 - B. Определите, какое количество АТФ (моль) на 1 моль цитрата может синтезироваться за счет этих реакций.
 - C. Выберите соединения, которые снижают коэффициент P/O для данного процесса. Объясните свой выбор.
 - а) Валиномицин (белок - инообразующий канал)
 - б) Амитал
 - в) АДФ
4. Токсическое действие цианидов обусловлено их избирательным взаимодействием с Fe^{3+} в составе гема цитохромоксидазы и, таким образом, блокированием ЦПЭ. Объясните, почему немедленное внутривенное введение в кровь нитрита натрия оказывает очень эффективное лечебное действие при отравлении цианидами?

Вариант № 4

1. Что общего в структуре коферментов всех цитохромов? Напишите его окисленную и восстановленную формы.
2. Выберите соединения, являющиеся общими переносчиками электронов на кислород от яблочной и янтарной кислот, и разместите их так, как они располагаются в дыхательной цепи.
 - A. НАДН-дегидрогеназа
 - B. Q(убихинон)

- C. НАД⁺
- D. Цитохромы аа₃
- E. Цитохром с
- F. QH₂-дегидрогеназа
- G. Сукцинатдегидрогеназа
- H. Кислород

3. Напишите реакции превращения янтарной кислоты в оксалоацетат
- A. Перечислите названия ферментов и коферментов
 - B. Определите энергетический эффект (какое количество АТФ (моль) превращения сукцината в оксалоацетат
 - C. Почему перечисленные соединения могут снизить скорость тканевого дыхания при добавлении в инкубационную смесь?
 - а) НАДН
 - б) KCN
 - в) Ротенон
4. Ротенон (токсичное вещество, вырабатываемое одним из видов растений) резко подавляет активность митохондриальной НАДН-дегидрогеназы. Токсичный антибиотик антимисин А сильно ингибирует окисление убихинола. Почему ротенон оказывается смертельным ядом для некоторых насекомых и рыб? Почему антимисин А действует как яд в тканях животных? Допустим, что оба эти вещества блокируют соответствующие участки ЦПЭ с равной эффективностью. Какое из них будет при этом более мощным ядом? Свой ответ аргументируйте.

Вариант № 5

1. Гипоэнергетическое состояние может возникнуть вследствие дефицита витамина В₁. Какие реакции общего пути катаболизма нарушаются при гиповитаминозе В₁? Назовите ферменты и коферменты, участвующие в этих реакциях. Улучшится ли состояние больных гиповитаминозом В₁ при увеличении в их пищевом рационе углеводов? Ответ поясните.

2. Выберите соединения, участвующие в переносе электронов от сукцината на кислород, и разместите их так, как они располагаются в дыхательной цепи.
- A. Сукцинатдегидрогеназа
 - B. Малатдегидрогеназа
 - C. НАДФ⁺
 - D. Цитохромоксидаза.
 - E. Q (убихинон)
 - F. QH₂-дегидрогеназа
 - G. НАДН-дегидрогеназа
 - H. НАД⁺
 - I. Кислород
 - J. Цитохром-с
3. Напишите реакции окислительного декарбоксилирования 2-оксоглутарата (соединение мечено по второму углеродному атому - ¹⁴C).
- A. Укажите меченый атом углерода в продуктах реакций.
 - B. Перечислите названия ферментов и коферментов.
 - C. Определите коэффициент P/O для данной реакции.
4. К суспензии митохондрий добавили 2 ммоль цитрата и 2 ммоль АДФ. Скорость окисления субстрата измеряли по поглощению кислорода. Через некоторое время реакция прекратилась. Объясните, почему? Сколько ммоль субстрата осталось неокисленным?

Вариант № 6

1. Назовите фермент дыхательной цепи, катализирующий окисление убихинола. Определите кофермент данного фермента и изобразите его структурную формулу.
 2. Выберите соединения, участвующие в переносе электронов от малата на кислород, и разместите их так, как они располагаются в дыхательной цепи.
- A. Q (убихинон)
 - B. Малатдегидрогеназа

- C. НАДН-дегидрогеназа
 - D. Сукцинатдегидрогеназа
 - E. Цитохром с
 - F. QH₂-дегидрогеназа
 - G. НАДН
 - H. НАДФ⁺
 - I. Кислород
 - J. Цитохромоксидаза
3. Напишите реакции превращения 2-оксоглутарата в фумарат.
- A. Укажите реакцию дегидрирования и назовите фермент и кофермент
 - B. Определите коэффициент P/O для данной реакции.
 - C. Определите, какое количество АТФ (моль) на 1 моль 2-оксоглутарата может синтезироваться за счет этих реакций.
4. В эксперименте на дышащих митохондриях в 2 пробы, содержащие по 1 мл суспензии митохондрий, добавили одинаковое количество малата и АДФ; в одну из проб дополнительно внесли глюкозу и гексокиназу. В какой из проб скорость поглощения O₂ будет выше и почему?

Вариант № 7

1. Какой кофермент является производным витамина B₂? Напишите механизм функционирования этого кофермента.
2. Выберите соединения, которые участвуют в переносе электронов от изоцитрата на кислород, и разместите их так, как они располагаются в дыхательной цепи.
- A. НАД⁺
 - B. Цитохром с
 - C. ФАД
 - D. Цитохромы aa₃
 - E. Кислород
 - F. Убихинон

- G. ФМН
- H. H⁺АТФаза
- I. Сукцинатдегидрогеназа
- J. Цитохромы bc₁

3. Напишите реакции превращения цитрата в α-кетоглутарат

- A. Укажите названия ферментов
- B. Определите, какое количество АТФ (моль) на 1 моль цитрата может синтезироваться за счет этих реакций.
- C. Выберите соединения, которые снижают коэффициент P/O для данного процесса. Объясните свой выбор.
 - а) Валиномицин (белок - инообразующий канал)
 - б) НАДН
 - в) АДФ

4. В опыте *in vitro* изучали тканевое дыхание на препаратах изолированных митохондрий, наблюдая за тем, как изменится поглощение кислорода этими препаратами в зависимости от условий. Если к активно дышащим митохондриям, использующим в качестве единственного источника «топлива» пируват, добавить 0,01 М малоната натрия, то дыхание внезапно прекращается и накапливается один из промежуточных продуктов метаболизма. Какова структура накапливающегося промежуточного продукта? Почему он накапливается? Почему прекращается потребление кислорода? Каким способом (кроме простого удаления малоната) можно снять вызванное малонатом ингибирование?

Вариант № 8

- 1. Укажите название последнего фермента дыхательной цепи и его коферменты. Напишите, реакцию, катализируемую этим ферментом.
- 2. Выберите соединения, являющиеся переносчиками электронов на кислород от 2-оксоглутарата, и разместите их так, как они располагаются в дыхательной цепи.

- A. НАДН-дегидрогеназа
- B. Q(убихинон)
- C. НАД⁺
- D. Цитохромы $a a_3$
- E. Цитохром c
- F. QH₂-дегидрогеназа
- G. Сукцинатдегидрогеназа
- H. Кислород

3. Напишите реакции превращения сукцинил-КоА в яблочную кислоту

- A. Перечислите названия ферментов и коферментов
- B. Определите энергетический эффект (какое количество АТФ (моль) превращения сукцинил-КоА в CO₂ и H₂O.
- C. Почему перечисленные соединения могут снизить скорость тканевого дыхания при добавлении в инкубационную смесь?

а) НАДН

б) КСН

в) Ротенон

4. Если к суспензии активно дышащих митохондрий добавить ДЦКД, то наблюдается резкое уменьшение скорости переноса электронов (оцениваемой по количеству поглощенного кислорода) и скорости фосфорилирования (оцениваемой по образованию АТФ). Добавив затем к таким ингибированным митохондриальным препаратам 2,4-динитрофенол, вы обнаружите, что потребление кислорода возвращается к нормальному уровню, однако синтез АТФ так и остается подавленным. На какой этап процесса переноса электронов или окислительного фосфорилирования влияет ДЦКД? Почему ДЦКД нарушает потребление O₂ в митохондриях? Каков механизм действия 2,4-динитрофенола на препарат ингибированных митохондрий? С каким из перечисленных ниже ингибиторов более всего

сходен по своему действию ДЦКД: с антимицином А, ротеноном, олигомицином или арсенатом?

Вариант № 9

1. Что является движущей силой переноса электронов по дыхательной цепи? Напишите формулу рабочей части НАД-дегидрогеназ в окисленной и восстановленной форме.
2. Выберите соединения, участвующие в переносе электронов от α -кетоглутарата на кислород, и разместите их так, как они располагаются в дыхательной цепи.
 - A. Кислород
 - B. Малатдегидрогеназа
 - C. НАДФ⁺
 - D. Сукцинатдегидрогеназа
 - E. QH₂-дегидрогеназа
 - F. Цитохромоксидаза.
 - G. Q (убихинон)
 - H. НАДН-дегидрогеназа
 - I. НАД⁺
 - J. Цитохром-с
3. Напишите реакции окислительного декарбоксилирования пирувата (пируват мечен по первому углеродному атому - ¹⁴C).
 - A. Укажите меченый атом углерода в продуктах реакций.
 - B. Перечислите названия ферментов и коферментов.
 - C. Рассчитайте энергетический выход (в виде АТФ) полного окисления пирувата до углекислого газа и воды.
4. Как изменится скорость поглощения кислорода дышащими митохондриями, если в условиях ингибирования изоцитратдегидрогеназы к митохондриям добавить донор электронов, восстанавливающий цитохром С, например,

аскорбиновую кислоту? Чему будет равен коэффициент P/O при добавлении аскорбиновой кислоты на фоне полного угнетения изоцитратдегидрогеназы?

Вариант № 10

1. Напишите формулу рабочей части кофермента Q в окисленном и восстановленном виде. Назовите фермент дыхательной цепи, катализирующий окисление CoQH_2 .
2. Выберите соединения, участвующие в переносе электронов от яблочной кислоты на кислород, и разместите их так, как они располагаются в дыхательной цепи.
 - A. Кислород
 - B. Малатдегидрогеназа
 - C. НАДН-дегидрогеназа
 - D. Цитохром c
 - E. Q (убихинон)
 - F. НАДН
 - G. Сукцинатдегидрогеназа
 - H. QH_2 -дегидрогеназа
 - I. НАДФ⁺
 - J. Цитохромоксидаза
3. Напишите реакции превращения фумарата в оксалоацетат.
 - A. Укажите реакцию дегидрирования и назовите фермент и кофермент
 - B. Определите коэффициент P/O для данной реакции
 - C. Определите, какое количество АТФ (моль) на 1 моль фумарата до углекислого газа и воды может синтезироваться за счет этих реакций.
4. У новорожденных детей в области шеи и в верхней части спины имеется особая жировая ткань, которая у взрослых практически отсутствует, - так называемый бурый жир. Бурую окраску придают этой ткани митохондрии, которых в ней чрезвычайно много. У некоторых животных, впадающих в спячку или приспособленных к обитанию в холодных местностях, тоже

имеется бурый жир. В то время как в митохондриях печени при окислении НАДН на каждый атом поглощенного кислорода образуются обычно три молекулы АТФ, в митохондриях бурого жира выход АТФ на один атом поглощенного кислорода составляет менее одной молекулы. Какая физиологическая функция может определяться этим низким отношением Р/О в буром жире новорожденных? Укажите возможные механизмы, которые могли бы определять столь низкое отношение Р/О, характерное для митохондрий бурого жира.

Вариант № 11

1. Напишите реакцию, которую катализирует комплекс II ЦПЭ. Укажите рабочее название этого комплекса, его кофермент. Изобразите структуру кофермента.
2. Выберите соединения, которые участвуют в переносе электронов от пирувата на кислород, и разместите их так, как они располагаются в дыхательной цепи.
 - A. НАД⁺
 - B. ФАД
 - C. Цитохром c
 - D. Цитохромы aa₃
 - E. Убихинон
 - F. Кислород
 - G. ФМН
 - H. H⁺АТФаза
 - I. Цитохромы bc₁
 - J. Сукцинатдегидрогеназа
3. Напишите реакции превращения изоцитрата в сукцинил-КоА
 - A. Укажите названия ферментов
 - B. Определите, какое количество АТФ (моль) на 1 моль цитрата может синтезироваться за счет этих реакций.

С. Выберите соединения, которые снижают коэффициент Р/О для данного процесса. Объясните свой выбор.

а) 2,4-динитрофенол

б) НАДН

в) АДФ

4. При изменении физиологической активности клеток скелетных мышц энергетический заряд этих клеток, равный в норме 0,89, сначала резко снижается приблизительно до 0,70, а потом постепенно возвращается к своему обычному уровню. Какое именно изменение активности обуславливает это внезапное уменьшение энергетического заряда? Как должно повлиять это внезапное изменение на скорость гликолиза и дыхания? Каким образом энергетический заряд способен влиять на гликолиз и дыхание?

Вариант № 12

1. Напишите рабочее название комплекса III дыхательной цепи и реакцию, катализируемую этим комплексом. Что является коферментами этого фермента. Укажите механизм функционирования этих коферментов в дыхательной цепи.
2. Выберите соединения, являющиеся переносчиками электронов на кислород от малата и сукцината, и разместите их так, как они располагаются в дыхательной цепи.
 - A. Цитохромы aa_3
 - B. Q(убихинон)
 - C. НАД⁺
 - D. НАДН-дегидрогеназа
 - E. Цитохром c
 - F. QH₂-дегидрогеназа
 - G. Кислород
 - H. Сукцинатдегидрогеназа

3. Напишите реакции превращения изолимонной кислоты в сукцинил-КоА
- А. Перечислите названия ферментов и коферментов
 - В. Определите энергетический эффект (какое количество АТФ (моль) превращения изолимонной кислоты при ее полном окислении до углекислого газа и воды.
 - С. Почему перечисленные соединения могут снизить скорость тканевого дыхания при добавлении в инкубационную смесь?
 - а) НАДН
 - б) Na_2S
 - в) динитрофенол
4. При передозировке барбитуратов (амитала) значительно снижается скорость реакций ЦЛК. Объясните, какие реакции ЦЛК окажутся заблокированными в этих условиях? Что является причиной торможения этих реакций?

Вариант № 13

1. Напишите рабочее название комплекса II дыхательной цепи и реакцию, катализируемую этим комплексом. Что является коферментами этого фермента. Укажите механизм функционирования этих коферментов в дыхательной цепи.
2. Выберите соединения, являющиеся переносчиками электронов на кислород от пирувата, и разместите их так, как они располагаются в дыхательной цепи.
- А. Цитохромы aa_3
 - В. Q(убихинон)
 - С. НАД⁺
 - Д. НАДН-дегидрогеназа
 - Е. Цитохром с
 - Ф. QH_2 -дегидрогеназа
 - Г. Кислород
 - Н. Сукцинатдегидрогеназа
3. Напишите реакции превращения лимонной кислоты в сукцинат
- І. Перечислите названия ферментов и коферментов

Ж. Определите энергетический эффект (какое количество АТФ (моль) превращения изолимонной кислоты при ее полном окислении до углекислого газа и воды.

К. Почему перечисленные соединения могут снизить скорость тканевого дыхания при добавлении в инкубационную смесь?

а) АТФ

б) H_2S

в) нитрофенол

4. При отравлении дициклокарбодиимидом значительно снижается скорость реакций ЦЛК. Объясните, какие реакции ЦЛК окажутся заблокированными в этих условиях? Что является причиной торможения этих реакций?

Вариант № 14

1. Гипоэнергетическое состояние может возникнуть вследствие применения в качестве средства для похудения препарата, содержащего динитрофенол. Опишите механизм возникновения такого состояния.

2. Выберите соединения, участвующие в переносе электронов от α -кетоглутарата на кислород, и разместите их так, как они располагаются в дыхательной цепи.

А. Сукцинатдегидрогеназа

В. Малатдегидрогеназа

С. НАДФ⁺

Д. Цитохромоксидаза.

Е. Q (убихинон)

Ф. QH₂-дегидрогеназа

Г. НАДН-дегидрогеназа

Н. НАД⁺

И. Кислород

Ж. Цитохром-с

3. Напишите реакции окислительного декарбоксилирования пирувата (соединение мечено по второму углеродному атому - ^{14}C).

1. Укажите меченый атом углерода в продуктах реакций.

2. Перечислите названия ферментов и коферментов.

3. Определите коэффициент Р/О для данной реакции.

4. К суспензии митохондрий добавили 3 ммоль цитрата и 3 ммоль АДФ. Скорость окисления субстрата измеряли по поглощению кислорода. Через некоторое время реакция прекратилась. Объясните, почему? Какое вещество нужно добавить, чтобы реакция возобновилась?

ТЕМА 7 – ОБМЕН УГЛЕВОДОВ

7.1. Разобрать материал следующих разделов темы:

- 1. Строение углеводов пищи, переваривание, пути превращения глюкозы в тканях**
- 2. Анаэробный и аэробный гликолиз.** Энергетика гликолиза. Спиртовое и молочнокислое брожение. Глиоксилатный цикл.
- 3. Биосинтез глюкозы (глюконеогенез)**
- 4. Синтез и распад гликогена.** Биологическое значение процессов в печени и мышцах
- 5. Пентозофосфатный путь.** Синтез НАДФН и рибозы. Значение процесса в жировой ткани, печени, эритроцитах.

7.2. Для успешного изучения темы необходимо усвоить следующий материал:

Строение углеводов пищи, переваривание, пути превращения глюкозы в тканях.

1. Знать способ связи между моносахаридами в ди- и полисахаридах.
2. Обратить внимание на то, что:
 - а) большинство моно- и дисахаридов имеют свободный полуцетальный гидроксил, обуславливающий их восстановительные свойства: подчеркнуть эту функциональную группу в написанных формулах;
 - б) крахмал является гомополисахаридом: его мономером является глюкоза (гетерополисахариды состоят из различных мономеров);
 - в) крахмал представляет собой разветвленный гомополисахарид. Мономеры линейных участков соединены $\alpha 1 \rightarrow 4$ связями, а в местах разветвления $\alpha 1 \rightarrow 6$ связями. Цепи между ответвлениями содержат в среднем 12 мономеров. Отметить на фрагменте формулы крахмала связи, соединяющие остатки глюкозы в линейных цепях и в точках ветвления.
3. Уметь писать формулы моно- и дисахаридов, входящих в состав пищи.
4. Знать основные этапы переваривания углеводов в пищеварительном тракте.

5. Усвоить, что в процессе переваривания углеводов в желудочно-кишечном тракте происходит ферментативный гидролиз гликозидных связей.
6. Ознакомиться с таблицей 12.
7. Обратить внимание на то, что:
- а) желудочный сок не содержит ферментов, расщепляющих пищевые углеводы;
 - б) гидролиз крахмала в кишечнике происходит путем последовательного отщепления дисахаридных фрагментов;
 - в) расщепление дисахаридов происходит в тонком кишечнике;
 - г) целлюлоза не расщепляется ферментами желудочно-кишечного тракта, т.к. фермент целлюлоза не вырабатывается у человека, но образуется бактериями в толстом кишечнике.
8. Запомнить: а) названия ферментов, принимающие участие в переваривании углеводов; б) локализацию ферментов в пищеварительных секретах.
9. Знать значение процессов переваривания, всасывания углеводов.

Таблица 12. Переваривание и всасывание углеводов

Отдел желудочно-кишечного тракта	Локализация фермента	Ферменты	Катализируемая реакция		Гидролизуемая связь
			субстрат	конечный продукт	
Ротовая полость	слюна	амилаза	крахмал	мальтоза	I—>4
12-перстная кишка	Панкреатический сок	амилаза	крахмал	Мальтоза+ +Изомальтоза 2 Глюкоза	I—>4 I—>4
Тонкий кишечник	Щеточная кайма Эпителия кишечника	Мальтоза	Изомальтоза	2 Глюкоза	I—>6
		Изомальтоза	Сахароза	Глюкоза+	I—>2
		Лактаза	Лактоза	Глюкоза + Галактоза	I—>4
Тонкий кишечник: всасывание продукта полного переваривания	Для глюкозы и галактозы возможен активный транспорт за счет градиента концентрации ионов натрия (механизм симпорта). Этот механизм обеспечивает перенос моносахаридов против градиента концентрации и может функционировать тогда, когда концентрация глюкозы в просвете кишечника меньше, чем в клетках. Моносахариды поступают через клетки кишечника в кровь путем облегченной диффузии.				
Биологическое значение	Полимеры и димеры гидролизуются до мономеров, которые способны всасываться и поступать в кровь, а затем в ткани.				

Специфические пути распада глюкозы. Аэробный и анаэробный гликолиз

10. Знать основные этапы аэробного и анаэробного распада глюкозы.

Рассмотреть схему распада глюкозы (рис.5).

11. Усвоить, что гликолиз — серия реакций, в результате которых глюкоза распадается на две молекулы пирувата (аэробный гликолиз, реакции 1-10 (или две молекулы лактата (анаэробный гликолиз, реакции 1-11). Обратить внимание на то, что:

А) в гликолизе (аэробном и анаэробном) можно выделить два этапа:

1. Превращение глюкозы в две молекулы глицеральдегидрофосфата.
2. превращение глицеральдегидрофосфата в пируват или лактат.

Б) Большинство реакций гликолиза обратимы, за исключением трех (реакции 1, 3,10).

В) Все промежуточные соединения превращения глюкозы в пируват находятся в фосфорилированной форме.

Г) источником фосфатной группы в реакциях фосфорилирования при гликолизе являются АТФ или H_3PO_4 .

Д) Регенерирование НАД*, необходимого для окисления новых молекул глицеральдегидрофосфата происходит:

1. Посредством ЦПЭ при аэробном гликолизе. В этом случае, водород транспортируется в митохондриях с помощью челночного механизма при участии переносчиком «Х» (реакция 12).
2. Независимо от ЦПЭ при анаэробном гликолизе (реакция 11).

Е) Образование АТФ при гликолизе может идти двумя путями: либо субстратным фосфорилированием, когда для синтеза АТФ и АДФ и H_3PO_4 используется энергия макроэнергетической связи субстрата (реакция 7, 10), либо путем окислительного фосфорилирования за счет энергии переноса электронов и протонов по ЦПЭ

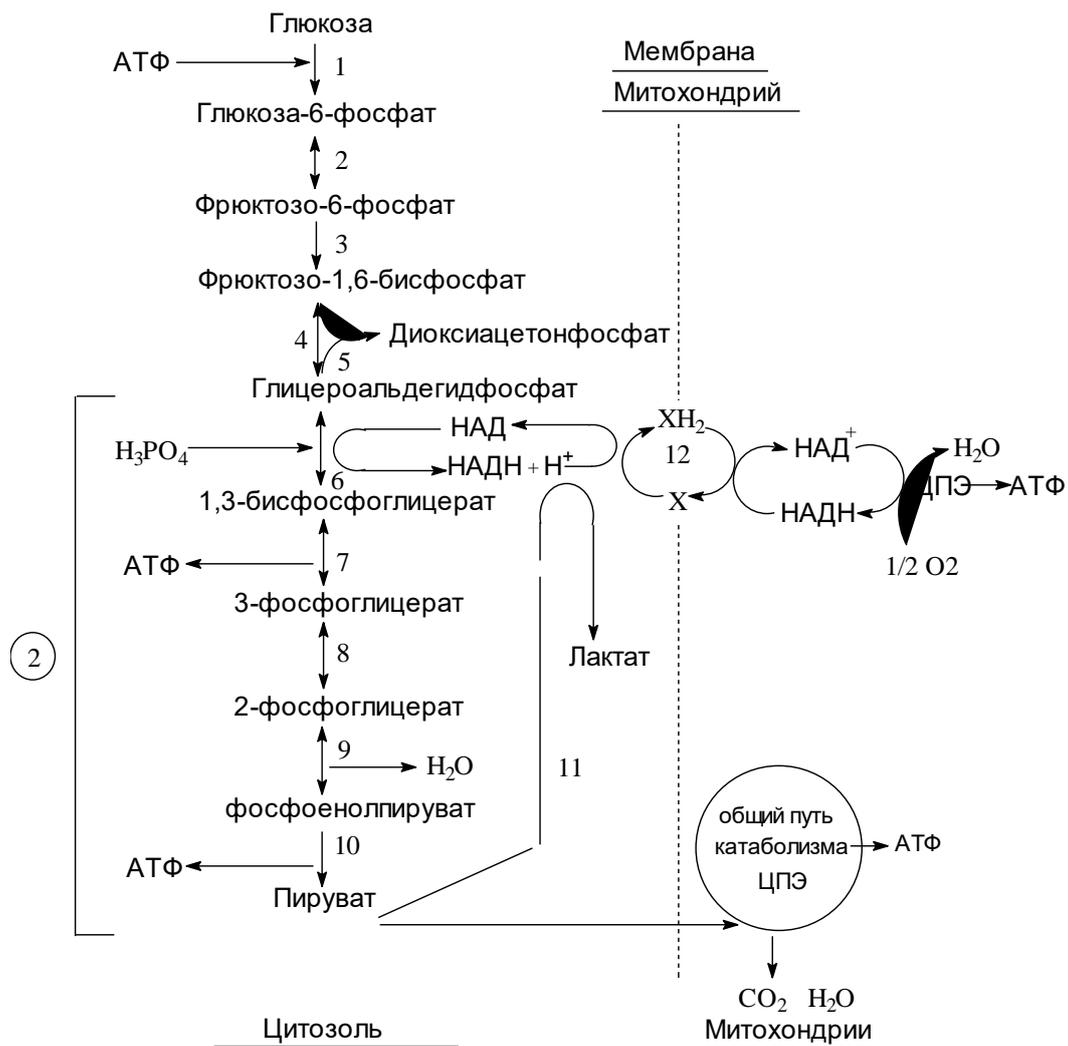


Рис. 5. Аэробный и анаэробный распад глюкозы

12. Знать, что:

а) аэробный распад глюкозы включает аэробного гликолиза и последующее окисление пирувата в общем пути катаболизма. Таким образом, аэробный распад глюкозы — это процесс предельного окисления ее до CO_2 и H_2O , а аэробный гликолиз — это часть аэробного распада глюкозы.

б) анаэробный распад глюкозы (анаэробный гликолиз) включает те же реакции специфического распада гликозы до пирувата, что и аэробный гликолиз, но с последующим превращением пирувата в лактат, т.е. термины анаэробный распад глюкозы и анаэробный гликолиз — синонимы.

13. Выучить (уметь писать формулами) реакции аэробного и анаэробного гликолиза. Запомнить названия ферментов, катализирующих эти реакции.

14. Получить представление о челночном механизме транспорта водорода из цитоплазмы в митохондрию.

15. Усвоить, что мембрана митохондрий непроницаема для НАДН, и что перенос водорода от НАДН для окисления в ЦПЭ осуществляется с помощью челночного механизма. Рассмотреть схему малат-аспартатного цикла (челночный механизм, рис. 6):

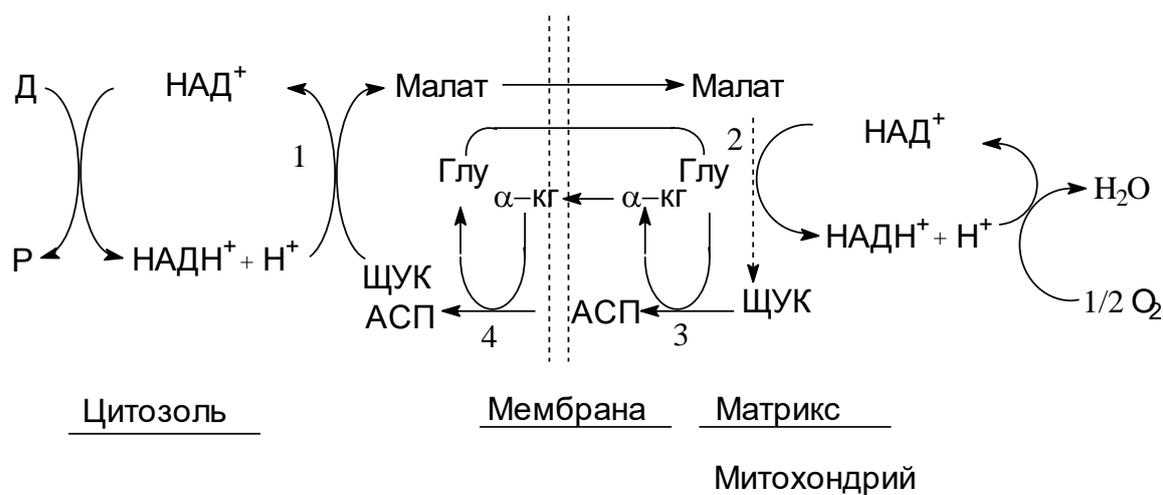


Рис. 6. Малат-аспартатный цикл

1,2- окислительно восстановительные реакции, с помощью которых транспортируется водород на митохондриальную ЦПЭ;

3,4- реакции переноса аминогруппы с аминокислоты на кетокислоту с помощью которых в цитозоль возвращается щавелевоуксусная кислота.

Биосинтез глюкозы (глюконеогенез)

16. Знать процесс синтеза глюкозы из пирувата в печени. Рассмотреть схему гликолиза и глюконеогенеза (рис. 7). Обратить внимание на то, что синтез глюкозы из пирувата протекает в основном как гликолиз, но в обратном направлении.

17. Запомнить, что семь ферментальных реакций гликолиза обратимы (рис. 7, реакции 2, 4-9) и свойственны также глюконеогенезу.

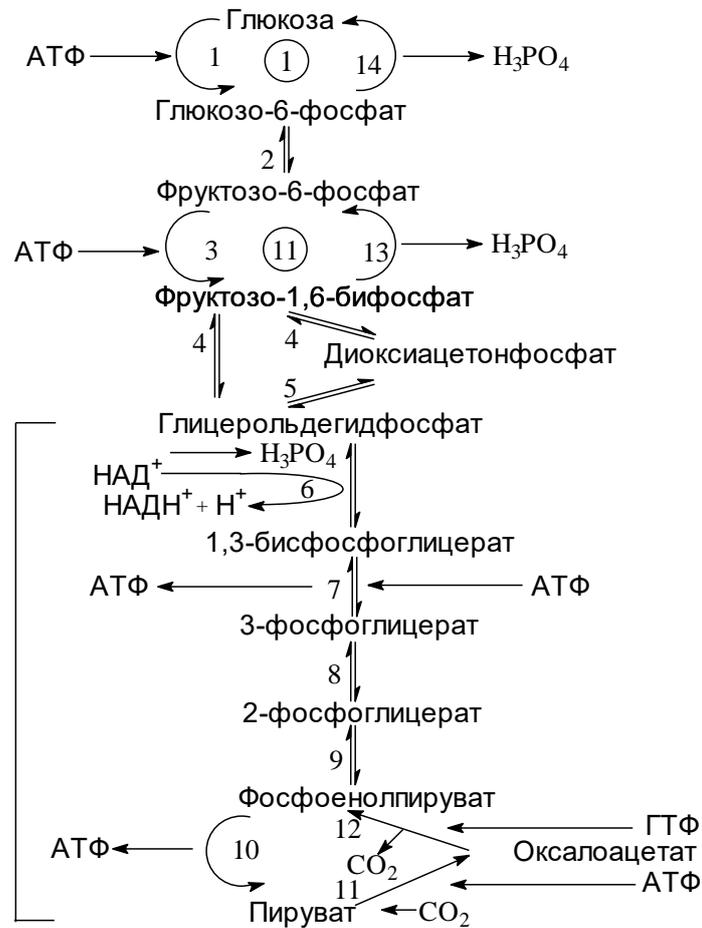


Рис. 7. Схема гликолиза и глюконеогенеза

18. Выучить обходные пути необратимых стадий в процессе глюконеогенеза (рис. 7, реакции 11, 12, 13, 14). Уметь написать эти реакции формулами, знать соответствующие ферменты. Усвоить, что образование оксалоацетата из пирувата катализируется митохондриальным ферментом — пируваткарбоксилазой. Это биотин содержащий фермент. Оксалоацетет, образовавшись в митохондриях, транспортируется в цитозоль и включается в глюконеогенез.

19. Запомнить реакции глюконеогенеза, протекающие с потреблением энергии.

20. Запомнить общую схему глюконеогенеза. Знать суммарное уравнение процесса: $2 \text{ Пируват} + 4\text{АТФ} + 2\text{ГТФ} + 2(\text{НАДН} + \text{Н}^+) + 4\text{Н}_2\text{О} \rightarrow \text{Глюкоза} + 4\text{АДФ} + 2\text{ГДФ} + 6\text{Н}_3\text{Р}_4 + 2\text{НАД}^+$.

21. Усвоить, что каждая из необратимых реакций гликолиза вместе с соответствующей обратимой реакцией глюконеогенеза составляет циклы, называемые субстратными. Найти на рис. 7 субстратные циклы I, II, III, обозначенные по направлению гликолиза.

22. Обратит внимание на то, что результатом одновременного протекания реакций субстратного цикла будет расходование энергии.

23. Знать, что субстратные циклы могут протекать в условиях нормального обмена веществ в печени, имея вполне определенное биологическое значение. Эти циклы служат точками приложения регулярных механизмов, результатом влияния которых является направление метаболитов либо по пути распада (гликолиз), либо по пути синтеза (глюконеогенеза).

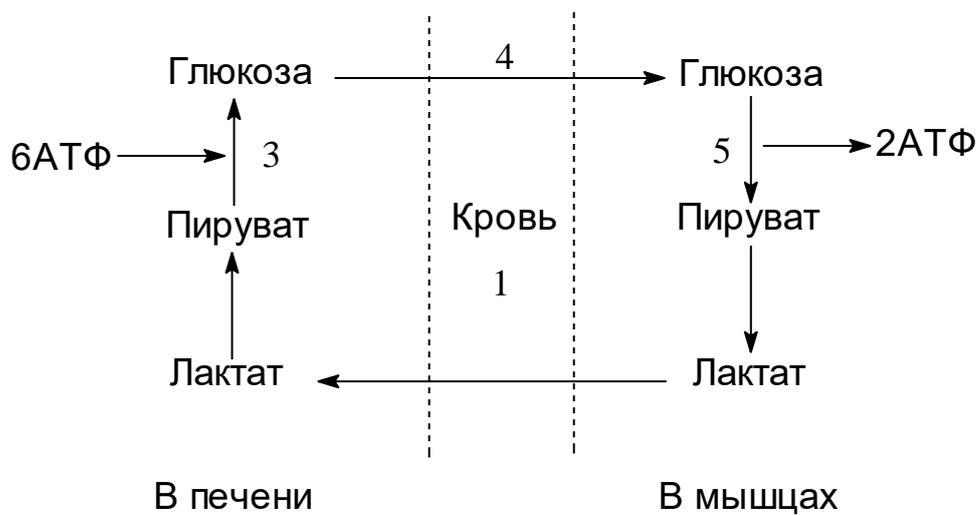
24. Знать, что в процесс синтеза глюкозы могут быть вовлечены вещества, которые способны превращаться в пируват или любой другой метаболит глюконеогенеза. Рассмотреть схему вовлечения первичных субстратов в глюконеогенез.



25. Усвоить, что использование первичных субстратов в глюконеогенезе происходит в различных физиологических состояниях. Физиологическая роль глюконеогенеза из лактата с одной стороны и из аминокислот и глицерина с другой стороны совершенно различны.

26. Знать, что глюконеогенез протекает в основном в печени и менее интенсивно в корковом веществе почек, а также слизистой оболочке кишечника.

27. Усвоить пути обмена лактата в печени и мышцах. Рассмотреть схему обмена лактата в печени и в мышцах (цикл Кюри).



28. Обратите внимание, что лактат не является конечным продуктом гликолиза. Дальнейший метаболизм лактата связан с его превращением в печени в пируват. Написать эту реакцию формулами. Указать фермент и кофермент.

29 Сравнить направление реакции, катализируемых лактатдегидрогеназой в интенсивно работающей мышце и в печени. Усвоить, что направление реакции в этих органах обусловлено различным отношением концентраций восстановленной и окислительной форм НАД: $[НАДН]/[НАД^*]$ в сокращающейся мышце больше, чем в печени.

30. Обратите внимание на последовательность превращений, составляющий цикл Кюри (глюкозо-лактатный цикл):

- поступление лактата из сокращающейся мышцы с током крови в печень (1)
- синтез глюкозы из лактата в печени (2,3)
- поступление глюкозы из печени с током в работающую мышцу (4)
- использование глюкозы как энергетического субстрата сокращающейся мышцы и образование лактата (5,6).

31. Усвоить, что часть лактата окисляется печенью до CO_2 и H_2O . Энергия окисления используется в глюконеогенезе. Написать процесс аэробного окисления лактата и подсчитать энергетический эффект (в моль АТФ) полного окисления 1 моль лактата.

32. Знать, что в мышцах часть пирувата, не превращаясь в лактат, может превращаться в аланин. Аланин с кровью транспортируется в печень и там, теряя аминогруппу, превращается в пируват. Эта цепь превращений называется глюкозоаланиновым циклом.

Обмен гликогена. Регуляция синтеза и мобилизации гликогена в печени и мышцах

33. Знать строение и свойства гликогена как резервного полисахарида. Ответить на вопросы

- а) Из каких мономеров построена молекула гликогена?
- б) Какие связи соединяют остатки глюкозы в полимере?
- в) В каких органах преимущественно откладывается гликоген?
- г) Почему резервной формой является гликоген, а не глюкоза?

34. Усвоить, что гликоген — основной резервный полисахарид в клетках животных. Его роль аналогична роли крахмала в клетках растений. Знать, что по сравнению с крахмалом гликоген более разветвлен и компактен.

35. Усвоить, что ветвистость молекулы гликогена обеспечивает наличие большого количества концевых мономеров, а это способствует ускорению высвобождения остатков глюкозы.

36. Знать реакции синтеза и распада гликогена. Ознакомиться с общей схемой синтеза и мобилизации гликогена, обратив внимание на то, что синтез и распад гликогена происходит разными путями (рис. 8).

37. Запомнить, что синтез гликогена происходит в течение 1-2 часов после приема пищи, т.е. во время переваривания углеводов. Мобилизация гликогена протекает между приемами пищи, при голодании, ускоряется при физической работе.

38. Обратит внимание на реакции, связанные с затратой энергии.

39. Выучить реакции синтеза гликогена. Уметь писать их формулами. Уметь писать схему процесса.

40. Знать, что гликоген запасается главным образом в печени* (до 6% от массы печени) и в мышцах (до 1% от массы).

41. Рассмотреть схему распада гликогена до глюкозы (рис.8). Ответить на вопросы:

а) С помощью какого фермента расщепляются $\alpha 1—4$ гликозидные связи?

Какой продукт при этом образуется?

б) Может ли образующаяся фосфорилированная глюкоза поступать из клетки в кровь?

в) Какие превращения необходимы для образования в печени свободной глюкозы?

г) С помощью какого фермента расщепляются $\alpha 1—6$ гликозидные связи?

Какие продукты при этом образуются?

42. Выучить реакции мобилизации гликогена, уметь писать их формулами, запомнить ферменты. Уметь писать схему процесса.

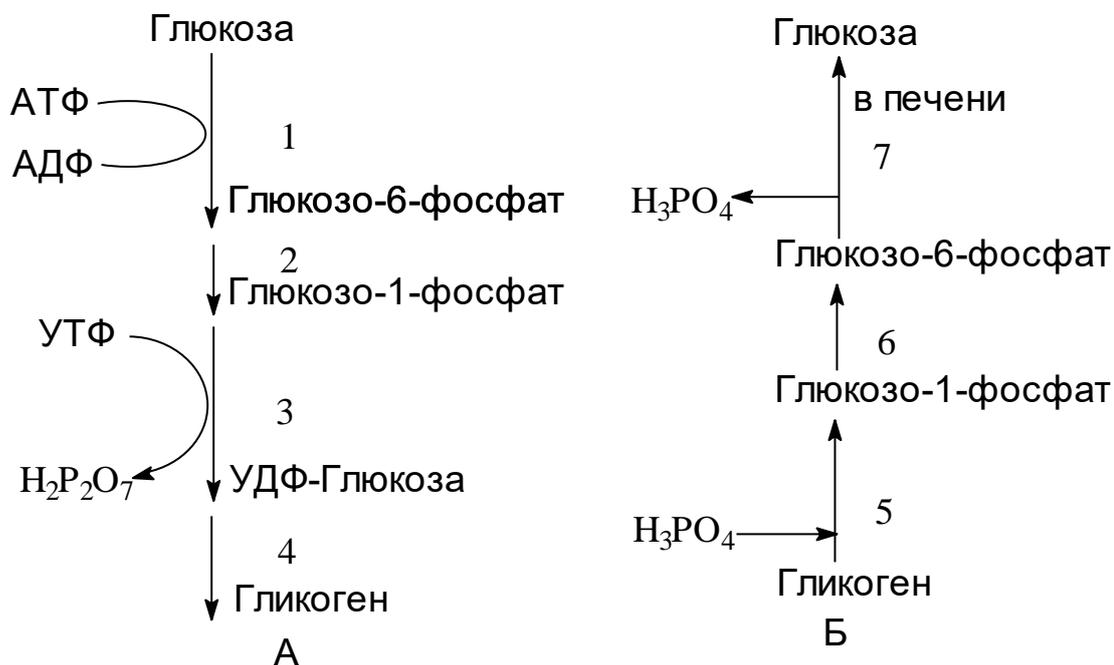


Рис. 8. Схема синтеза (А) и распада (Б) гликогена

43. Знать особенности мобилизации гликогена в печени и мышцах. Рассмотреть таблицу 12 «Особенности обмена гликогена в печени и мышцах».

44. Обратить внимание, что гексокиназа, присутствующая во всех тканях, имеет высокое сродство к глюкозе. Ее функция состоит в том, чтобы обеспечить захват тканью глюкозы даже при ее низких концентрациях в крови.

45. Глюкокиназа характерна только для клеток печени. Глюкокиназа в отличие от гексокиназы имеет высокое значение K_m для глюкозы и эффективно функционирует при концентрации глюкозы в крови выше 100 мг/дм. Функция глюкокиназы состоит в «захватывании» глюкозы из кровотока после приема пищи, когда концентрация глюкозы в крови повышается.

46. Усвоить, что функция мышечного гликогена состоит в том, что он является источником глюкозы, используемой в гликолизе в самой мышце. Гликоген печени используется главным образом для поддержания физиологической концентрации глюкозы в крови. Через 12-18 часов после приема пищи запас гликогена в печени почти полностью истощается.

Таблица 13. Особенности обмена гликогена в печени и мышцах

ПЕЧЕНЬ	МЫШЦЫ
<p>Реакцию 1 катализирует гексокиназа ($K_m < 0,1$ ммоль/л) и глюкокиназа ($K_m \sim 10$ ммоль/л)</p>	<p>Реакцию 3 катализирует только гексокиназа ($K_m < 0,1$ ммоль/л). Ингибитор фермента - Глк-6-фосфат.</p>
<p>Глюкозо-6-фосфатаза, катализирует образование свободной глюкозы (реакция 2), которая поступает в кровь и используется другими органами.</p>	<p>Глюкозо-6-фосфатаза отсутствует. Гликоген мышц используется для энергообеспечения только самих мышц.</p>

Пентозофосфатный путь превращения глюкозы

47. Знать этапы пентозофосфатного пути превращения глюкозы. Уметь объяснять физиологическое значение этих процессов в разных органах и тканях.
48. Рассмотреть таблицу 13. Обратит внимание на то, что в пентозофосфатном пути превращения глюкозы можно выделить две части: окислительный (А) и неокислительный (Б) пути образования пентоз.
49. Усвоить, что окислительный путь образования пентоз включает две реакции дегидрирования. Коферментов дегидрогеназ является НАДФ⁺, который восстанавливается в НАДФН и используется в клетке как донор водорода в реакциях восстановления и гидроксирования.
50. Знать, что пентозы, образуемые в результате реакции декарбоксилирования, используются в клетке для синтеза нуклеотидов.
51. Выучить и уметь писать формулами реакции окислительного пути синтеза пентоз. Запомнить ферменты и коферменты.
52. Иметь представление о неокислительном пути образования пентоз. Обратит внимание на то, что этот путь включает реакции переноса 2-х и 3-х углеродных фрагментов с одной молекулы на другую. Этот путь служит для синтеза пентоз.
53. Усвоить, что неокислительный путь образования пентоз обратим, следовательно, он может служить для образования гексоз из пентоз. С помощью этого пути избыток пентоз, превышающий потребности клетки, может быть возвращен в фонд гексоз.
54. Знать, что пентозофосфатный путь образования пентоз (путь А и Б) может функционировать в печени, жировой ткани, молочной железе, коре надпочечников, эритроцитах, в органах, где активно протекают восстановительные синтезы, например, синтез липидов.

55. Усвоить, что окислительный путь синтеза пентоз (путь А) и путь возвращения пентоз в гексозы (путь Б в обратном направлении) вместе составляют циклический процесс. Суммарное уравнение пентозофосфатного цикла:



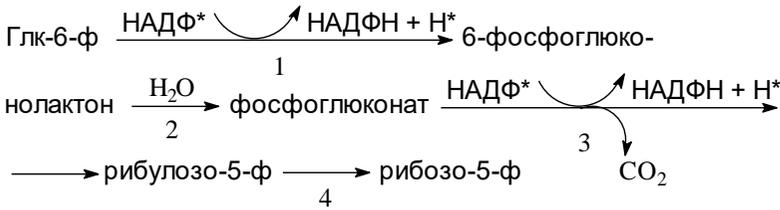
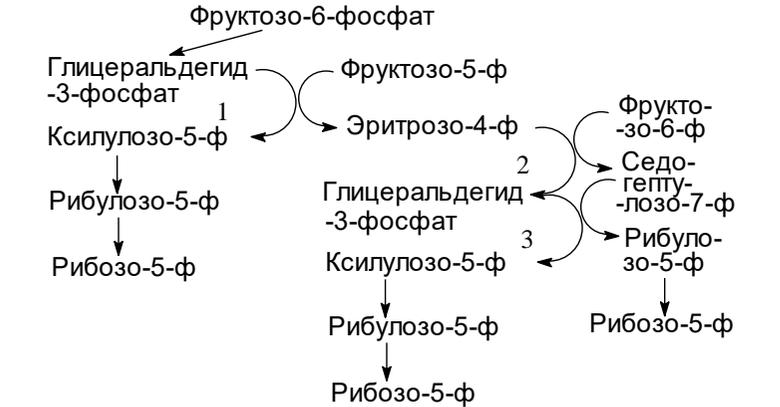
Обратить внимание на то, что за один оборот цикла полностью распадается одна молекула глюкозы.

56. Усвоить, что промежуточные продукты (фруктозо-6-фосфат, глицероальдегид-3-фосфат) могут включаться в пути аэробного и анаэробного окисления и служить источником энергии для синтеза АТФ.

57. Знать, что пентозофосфатный цикл функционирует, по-видимому, только в жировой ткани.

58. Знать, что у растений реакции пентозофосфатного пути составляют часть процесса образования гексоз из CO_2 при фотосинтезе.

Таблица 14. Пентозофосфатный путь превращения глюкозы

Основные типы процесса	Схема процесса	Ферменты
<p><u>А. Окислительный путь образования пентоз:</u> суммарное уравнение: $\text{Глк-6-ф} + 2\text{НАДФ}^+ \rightarrow \text{рибулозо-5-ф} + 2\text{НАДФН} + 2\text{H}^+ + \text{CO}_2$ Включает две реакции дегидрирования, декарбоксилирования</p>		<ol style="list-style-type: none"> 1. Глк-6-фосфат-дегидрогеназа 2. Лактоназа 3. 6-Фосфооглюконатдегидрогеназа 4. Пентозофосфатизомераза
<p><u>Б. Неокислительный путь образования пентоз.</u> Суммарное уравнение: $5\text{фру-5-ф} \leftrightarrow 6\text{рибулозо-5-ф}$ Включает реакции переноса 2-х и 3-х углеродных фрагментов с одной молекулы на другую.</p>		<ol style="list-style-type: none"> 1. Транскетолаза 2. Трансальдолаза 3. Транскетолаза 4. Пентозофосфатизомераза
<p><u>В. Путь синтеза гексоз из пентоз (пентозофосфатный путь)</u> Включает все реакции неокислительного пути синтеза</p>		

пентоз, но в обратном направлении.		
------------------------------------	--	--

7.3. Задания по теме «Обмен углеводов»

Строение углеводов пищи, переваривание, пути превращения глюкозы в тканях.

1. Вспомнить строение основных углеводов пищи. Заполнить таблицу «Основные углеводы пищи».

Название	Строение (формулы) по Хеуорсу
1. Моносахариды: Д-глюкоза Д-фруктоза Д-галактоза	
2. Дисахариды: сахароза лактоза мальтоза	
3. Крахмал (фрагмент, содержащий $\alpha 1 \rightarrow 4$ и $\alpha 1 \rightarrow 6$ гликозидные связи)	

2. Подобрать название к перечисленным углеводам.

- | | |
|-----------------------------------|------------------------------|
| 1. Глк - ($\alpha 1 - 6$) - Глк | А. Лактоза |
| 2. Глк - ($\alpha 1 - 2$) - Фру | В. Мальтоза |
| 3. Глк - ($\alpha 1 - 4$) - Глк | С. Сахароза |
| 4. Фру - ($\alpha 1 - 6$) - Гал | Д. Изомальтоза |
| 5. Фру - ($\alpha 1 - 4$) - Глк | Е. Ни один из этих углеводов |

3. В какой части пищеварительного тракта приостанавливается действие амилазы слюны и почему?

4. Какой мономер преобладает в продуктах переваривания?

5. а) Подберите ферменты, расщепляющие связи между мономерами в углеводах при переваривании:

- | | |
|-------------------------------|-------------|
| 1. Глк-(α -1-4) - Глк | А. Сахароза |
|-------------------------------|-------------|

- В. Фруктозо-1,6-дифосфатаза
- С. Пируваткарбоксилаза
- Д. Фосфоенолпируват карбоксикиназа
- Е. Глюкозо-6-фосфатаза
- Ф. Глюкокиназа
- Г. Пируваткиназа

13. Какие из перечисленных в пункте 1 ферментов катализируют реакции глюконеогенеза, протекающие с потреблением энергии?

14. Решить задачу, используя рис.8. Подсчитать количество молей пирувата, необходимое для синтеза 5 молей глюкозы. Сколько молей микроэнергетических соединений затрачивается в этом процессе?

15. Указать органы, в которых протекают следующие процессы:

1. Лактат образуется из глюкозы в процессе гликолиза
 2. Утилизация лактата связана с его превращением в пируват
 3. Лактат используется в процессе глюконеогенеза
 4. Лактат окисляется до CO_2 и H_2O
- А. Преимущественно в печени
 - В. Преимущественно в работающих скелетных мышцах
 - С. В печени и в мышцах
 - Д. Ни в печени, ни в мышцах

16. В каком направлении будет идти реакция, катализируемая лактатдегидрогеназой при низком значении отношения $\text{НАДН}/\text{НАД}^+$? Для какого органа это условие характерно?

Обмен гликогена. Регуляция синтеза и мобилизации гликогена в печени и мышцах

17. Подобрать к каждой пронумерованной реакции на рис. 7 соответствующий фермент, обозначенный буквой:

- А. Гексокиназа
- В. Фосфоглицератутаза
- Е. Пирофосфорилаза УДФ - глюкозы

С. Фосфатаза

Ф. Гликогенсинтаза

Д. Фосфорилаза

Г. Амило-1,6-гликозидаза

18. Решить задачу. Процесс депонирования глюкозы в виде гликогена связан с потреблением энергии. Учитывая, что основным источником энергии в период синтеза гликогена является распад глюкозы, рассчитайте, сколько моль глюкозы необходимо окислить до CO_2 и H_2O , чтобы обеспечить энергией синтез 70 г гликогена (70 г гликогена соответствует примерно 400 моль глюкозных остатков).

Алгоритм решения:

1. Подсчитать общее количество моль АТФ, необходимое для синтеза 70 г гликогена, считая, что УТФ эквивалента АТФ.

2. Подсчитать количество ммоль АТФ, образующееся при полном окислении глюкозы (до CO_2 и H_2O).

3. Произвести необходимые расчеты (в ммоль реагирующих веществ).

19. Ответить на тестовые вопросы:

А. Гексокиназа

В. Глюкокиназа

С. Оба фермента

Д. Ни один

1. В постабсорбтивном состоянии активность снижается

2. Глюкозо-6-фосфат ингибирует фермент

3. Высокая активность фермента при пищеварении предотвращает повышение концентрации глюкозы в периферической крови

4. Характерен для клеток печени

5. Обладает высоким сродством к глюкозе

Пентозофосфатный путь превращения глюкозы

20. Чем отличаются функции НАД^+ и НАДФ^+

21. Выберите процессы, в которые могут включаться метаболиты пентозофосфатного пути превращения глюкозы:

А. Синтез нуклеотидов

Г. ЦПЭ

Б. Синтез липидов

Д. Фотосинтез у растений

В. Общий путь катаболизма

3. Метаболиты пентозофосфатного пути превращения глюкозы могут быть использованы для синтеза:

1. НАД⁺
2. ФАД
3. УТФ
4. Кофермент А
5. АТФ

22. Выберите утверждения, характеризующие физиологическое значение пентозофосфатного цикла превращения глюкозы

1. Активно протекает в жировой ткани
2. Включает совместное протекание окислительного пути синтеза пентоз и пути возвращения пентоз в гексозы.
3. Промежуточные продукты могут включаться в аэробный и анаэробный гликолиз.
4. Образуются восстановительные коферменты, используемые в реакциях восстановления.
5. Образуются пентозы, используемые для синтеза нуклеотидов.

ТЕМА 8 – ОБМЕН И ФУНКЦИИ ЛИПИДОВ

8.1. Разобрать материал следующих разделов темы:

1. **Переваривание и всасывание липидов.** Их транспорт и ресинтез.
2. **Основные пути превращения жирных кислот.** β -Окисление жирных кислот. Образование и использование кетоновых тел.
3. **Синтез жирных кислот.** Другие пути превращения жирных кислот и ацетил-КоА
4. **Метаболизм и функции жиров.** Депонирование и мобилизация жиров.

8.2. Для успешного изучения темы необходимо усвоить следующий материал:

Переваривание и всасывание липидов. Ресинтез жира в стенке кишечника

1. Рассмотреть схему (рис. 9), запомнить основные пути поступления жирных кислот в клетку и их использования.

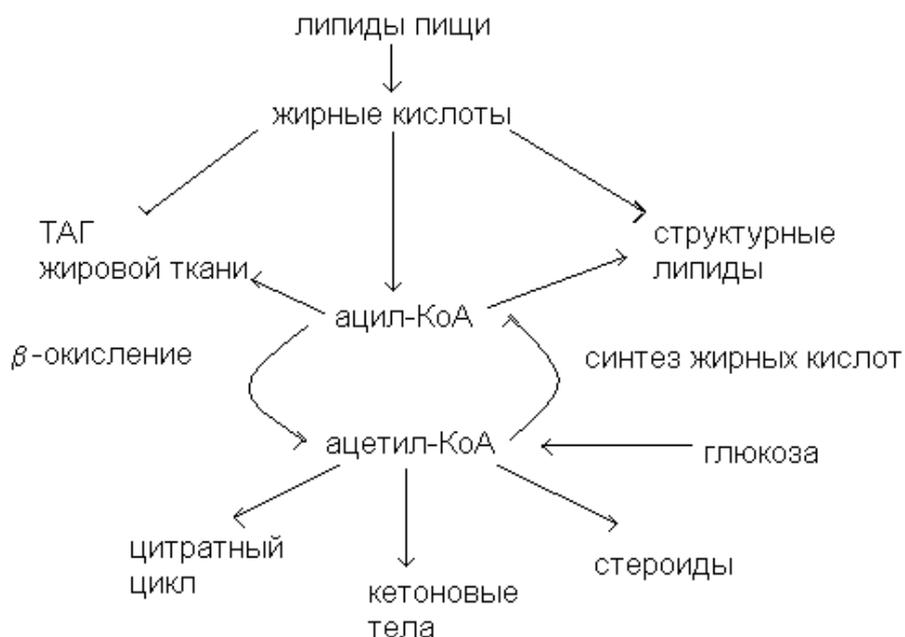


Рис. 9. Схема поступления и использования жирных кислот в клетках

2. Запомнить, что для переваривания и всасывания жиров необходим не только фермент липаза, но и эмульгаторы – ферменты, желчные кислоты.

3. Знать особенности переваривания и всасывания липидов и роль желчных кислот в этом процессе (рис. 10).

4. Уметь писать реакцию гидролиза триацилглицеринов под действием панкреатической липазы, обратить внимание на то, что панкреатическая липаза с большой скоростью расщепляет в жирах сложноэфирные связи в α -положении, поэтому основными продуктами переваривания жиров являются β -моноацилглицерины и жирные кислоты.

5. Усвоить, что одним из условий действия панкреатической липазы на жиры является их эмульгирование поверхностно-активными веществами – солями желчных кислот. Пунктирной линией выделить гидрофильные и гидрофобные части молекул. Какая кислота обладает более сильным эмульгирующим действием? Почему?

6. Обратите внимание на то, что в процессе эмульгирования происходит значительное увеличение поверхности контакта жира с молекулами водорастворимого фермента липазы.

7. Мицеллы желчи, образующиеся в желчном пузыре, имеют следующий состав: желчные кислоты – фосфолипиды – холестерин в соотношении 12,5:2,5:1. При нарушении этого соотношения могут образовываться желчные камни, содержащие холестерин. Объяснить, какую функцию в данном случае выполняют желчные кислоты.

8. Усвоить, что переваривание фосфолипидов пищи происходит под действием панкреатических фосфолипаз, гидролизующих сложноэфирные связи с образованием глицерина, высших жирных кислот, азотистых оснований и фосфорной кислоты.

9. Обратите внимание на то, что амфифильные продукты гидролиза жира (жирные кислоты, моноацилглицерины), желчные кислоты и холестерин образуют смешанные мицеллы и в такой форме проникают в клетки слизистой тонкого кишечника, где мицеллы распадаются на составные компоненты.

10. Желчные кислоты из слизистой кишечника поступают через систему воротной вены в печень и затем вновь секретируются в составе желчи.

11. Усвоить процесс ресинтеза жира в стенке кишечника.

12. Выучить реакции ресинтеза жира, протекающие в клетках эпителия кишечника.

13. Усвоить, что структура молекул ресинтезированного жира существенно отличается от структуры молекул пищевых жиров. Знать, что состав жирных кислот ресинтезированного жира может существенно отличаться от пищевых жиров, потому что субстратами ресинтеза жиров не только всосавшиеся жирные кислоты, но и жирные кислоты, синтезированные в слизистой кишечника.



Рис.10. Этапы поступления экзогенных жиров

Строение и функции липидов

14. Усвоить строение и функции липопротеинов.

15. Обратить внимание на то, что липиды не растворяются в водных фазах организма, поэтому транспорт их кровью и лимфой осуществляется в виде комплексов с белками и фосфолипидами, которые называются липопротеинами.

16. Знать строение липопротеинов. Обратить внимание на то, что гидрофобное ядро хиломикронов состоит из ТАГ и эфиров холестерина, а на поверхности находятся определенным образом ориентированные амфильные фосфолипиды и белки.

17. Изучить по таблице 14 состав и функции хиломикронов и липопротеинов очень низкой плотности (ЛОНП). Усвоить, что основной функцией хиломикронов является транспорт ресинтезированного жира (экзогенного) из эпителия тонкого кишечника в ткани. ЛОНП образуются в печени и обесцвечивают транспорт эндогенных жиров из печени в ткани. Небольшая часть ЛОНП образуется в слизистой тонкого кишечника.

18. Используя рис. 11, усвоить, что составные компоненты жиров (жирные кислоты и глицерин) проникают в клетки после их гидролиза липопротеинлипазой, располагающейся в эндотелии сосудов и действующей на жиры, находящиеся в составе хиломикронов и ЛОНП. Этот фермент активируется гепарином. Хиломикроны превращаются в хиломикроны остаточные (ХМ ост.). ХМост. захватываются печенью.

19. Усвоить, что транспортной формой неэтерифицированных жирных кислот (НЭЖК) являются их комплексы с альбуминами.

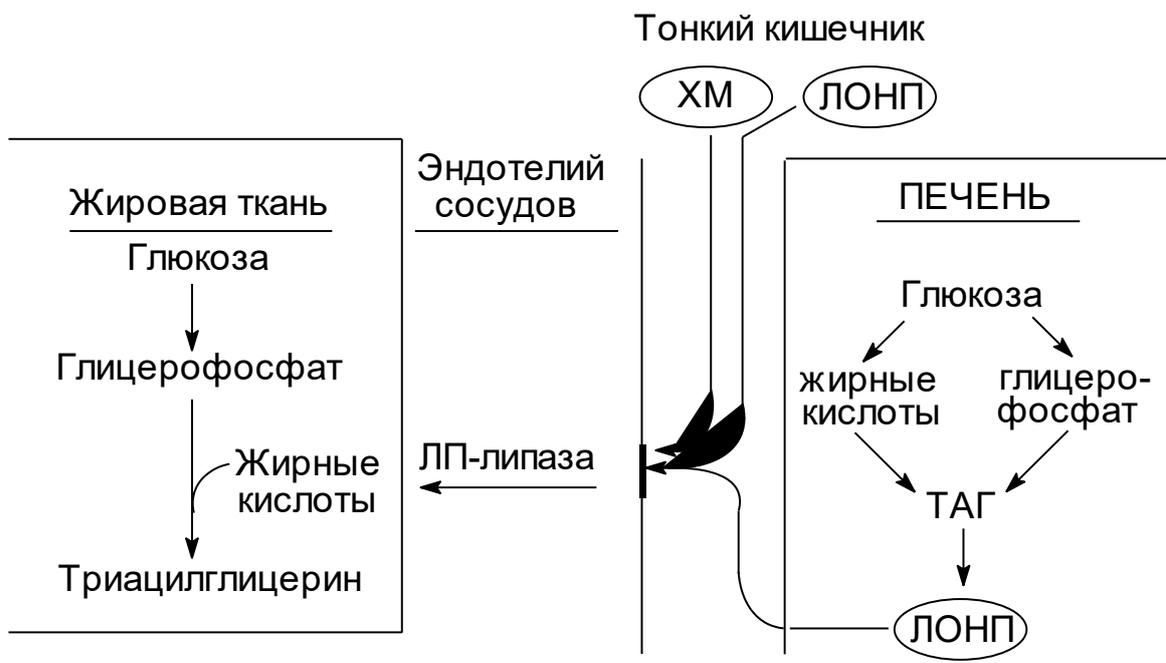


Рис. 11. Транспорт жира в организме человека.

Таблица 15. Липропротеины - транспортные формы липидов в организме человека.

Классификация	Хиломикроны - ХМ	ЛОНП	ЛНП	ЛВП
Состав в %	Белки - 2	Белки - 10	Белки - 22	Белки - 50
	ФЛ - 3	ФЛ - 18	ФЛ - 21	ФЛ - 27
	ХС - 2	ХС - 7	ХС - 8	ХС - 4
	ЭХС - 3	ЭХС - 10	ЭХС - 42	ЭХС - 16
	ТГ - 90	ТГ - 55	ТГ - 7	ТГ - 3
Функции	Транспорт липидов из клеток кишечника	Транспорт липидов, синтезируемых в печени и слизистой тонк.кишечника	Транспорт холестерина в ткани	Транспорт холестерина из тканей в печень

Место образования	Эпителии тонкого кишечника	Клетки печени и эпителий тонкого кишечника	Плазма крови (из ЛОНП)	Клетки печени ЛВП предшественники
Плотность, г/мл	0,92 - 0,98	0,96 - 1,00	1,00 - 1,06	1,06 - 1,21
Диаметр частиц нМ	больше 120	30-100	21 - 25	7 - 15

Метаболизм и функции жирных кислот, кетоновых тел

20. Усвоить процесс β -окисления жирных кислот и его физиологическое значение:

1. Вспомнить основные функции жирных кислот.
2. Знать реакции β -окисления жирных кислот и суммарное уравнение полного окисления пальмитиновой кислоты до CO_2 и H_2O .
3. Обратить внимание на то, что в каждом цикле β -окисления:

а) образуется ацетил-КоА, который в ЦТК окисляется до CO_2 и H_2O . В последний цикл β -окисления вступает бутирил-КоА и при его окислении образуется 2 ацетил-КоА, поэтому число циклов β -окисления для жирной кислоты с n -числом атомов углерода можно рассчитать по формуле:

$$\frac{n}{2} - 1, \text{ где } \frac{n}{2} - \text{это число молекул ацетил-КоА, образующихся при}$$

окислении данной кислоты.

б) происходит две реакции дегидрирования, в которых восстанавливаются 1 молекула убихинона и 1 молекула НАД^+ , поэтому каждый цикл дает 5 молекул АТФ с участием ЦПЭ, Расчет выхода АТФ при β -окислении жирных кислот производится по формуле:

$$\left[\left(\frac{n}{2} - 1 \right) \times 5 + \frac{n}{2} \times 12 \right] - 1^* =$$

1* молекула АТФ тратится на активацию жирной кислоты.

21. Усвоить процесс биосинтеза высших жирных кислот в организме человека.

22. Выучить последовательность реакций, составляющих цикл синтеза высших жирных кислот. Усвоить следующие особенности этого процесса:

- цикличность процесса и роль малонил-КоА, который является источником двууглеродных единиц для наращивания цепи жирных кислот;

- наличие реакций восстановления, которые протекают с использованием НАДФН + H⁺, одним из источников которого является пентозофосфатный путь окисления глюкозы;

- реакции биосинтеза жирных кислот катализируются полифункциональным ферментным комплексом (пальминат-синтазой), локализованным в цитозоле клетки;

- синтез других жирных кислот в организме человека начинается с синтеза пальмитиновой кислоты, затем происходят реакции удлинения углеродного скелета и дегидрирования;

- в организме человека не синтезируются жирные кислоты с двойными связями, расположенными дистальнее С9 и поэтому человек должен получать с пищей такие кислоты. Эти кислоты называются незаменимыми (эссенциальными) и они являются предшественниками в биосинтезе простагландинов, тромбоксанов и др. веществ.

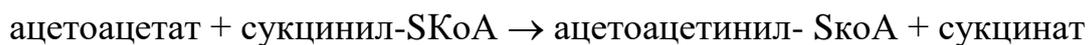
23. Знать процессы биосинтеза и окисления кетоновых тел, их роль в организме:

1. Обратить внимание на то, что ацетоуксусная кислота и β-гидроксибутират образуются в норме в небольших количествах, а ацетон - лишь в значительном накоплении кетоновых тел (при голодании, сахарном диабете). Знать формулы кетоновых тел.

2. Обратить внимание на то, что синтез кетоновых тел увеличивается в тех условиях, когда клетки испытывают недостаток в глюкозе (голодание,

сахарный диабет). Кетоновые тела выполняют функцию источника энергии, частично замещая глюкозу.

3. Обратить внимание на то, что ацетоуксусная кислота и β -гидроксibuтират в печени не используются (т.к. нет соответствующего фермента, обеспечивающего их активацию) и поставляются с кровью в другие ткани, где они окисляются до CO_2 и H_2O , выполняя функцию источника энергии. Знать способ активации ацетоуксусной кислоты в тканях:



24. Усвоить метаболизм жиров в организме человека и получить представление об их функции, механизмах регуляции обмена и связи обмена жиров и углеводов.

25. Усвоить, что основная функция в организме — это запасание энергии. Процесс мобилизации жира представляет собой гидролиз жиров (ТАГ) до жирных кислот и глицерина под действием фермента ТАГ-липазы. Этот фермент находится внутри жировых клеток и его активность регулируется гормонами в зависимости от потребности организма в источниках энергии. Обратить внимание на то, что мобилизация жиров активируется гормонами адреналином, глюкагоном, а депонирование жиров активируется инсулином.

26. Усвоить тесную взаимосвязь между обменом жиров и углеводов:

а) изучить рис. 12;

б) усвоить, что в жировой клетке при катаболизме глюкозы образуются все компоненты, необходимые для биосинтеза жиров (α -глицерофосфат, ацетил-КоА, НАДФН+ H^+), поэтому избыточное поступление глюкозы приводит к активации синтеза жиров;

в) используя рис. 3 и нумерацию, предложенную в нем, записать процессы, которые будут активироваться при избыточном потреблении углеводов.

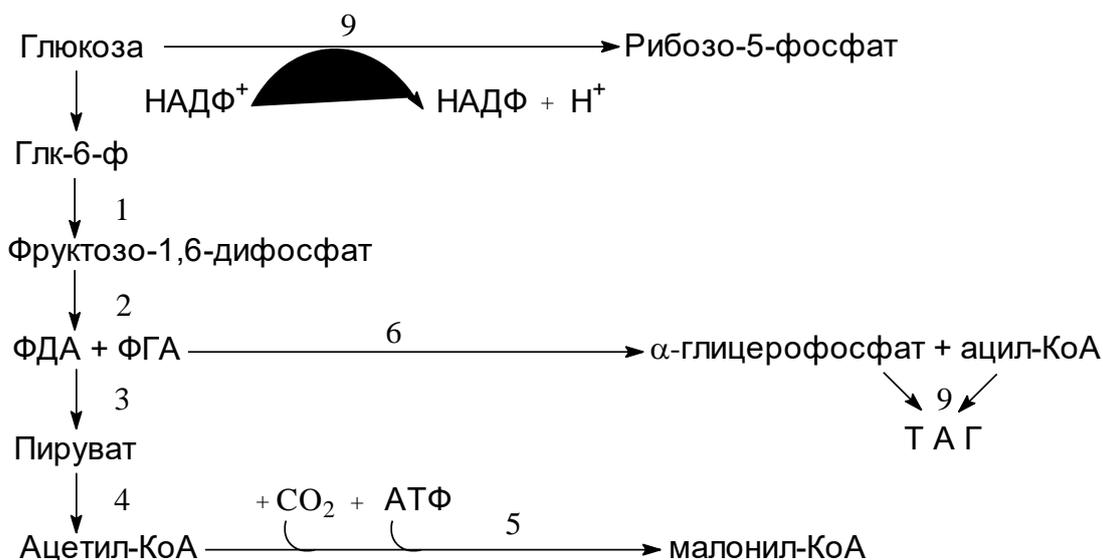


Рис. 12. Взаимосвязь обмена жиров и углеводов.

8.3. Задания по теме «Обмен и функции липидов»

Переваривание и всасывание липидов. Их транспорт и ресинтез.

1. Вещества, обозначенные цифрами, образуются при переваривании:

- | | |
|------------------------------|----------------------------|
| 1. Холестирин | А. Жиров |
| 2. Глицерин | В. Фосфолипидов |
| 3. Жирные кислоты | С. Обоих соединений |
| 4. Фосфорная кислота | Д. Ни одного из соединений |
| 5. Холин | |
| 6. β -моноациглицерины | |
| 7. Сфингозин | |

2. Выберите, какие из перечисленных процессов протекают с участием желчных кислот:

1. Эмульгирование жира
2. Повышение активности ТАГ-липазы
3. Всасывание жирных кислот и холестирина
4. Всасывание глицерина

3. Напишите реакции, происходящие при действии панкреатической липазы на олеил-пальмитоил-линоленоил-глицерин. Указать класс фермента и его название.

4. Указать вещества, участвующие в ресинтезе триацилглицеринов в клетках слизистой тонкого кишечника:

1. β -моноацилглицерин

2. Ацил-sКоА

3. Диацилглицерин

4. α -глицерофосфат

5. Написать в общем виде реакцию ресинтеза жира в стенке кишечника.

Метаболизм и функции жирных кислот, кетонных тел

6. Рассчитать выход АТФ при полном окислении 1 молекулы пальмитиновой кислоты до CO_2 и H_2O .

7. Рассчитайте, сколько моль АТФ образуется при окислении 1 моль стеариновой кислоты до CO_2 и H_2O . Если окисляется линолевая кислота, то на сколько моль АТФ образуется меньше?

8. Рассчитайте, сколько молекул АТФ образуется при окислении капроновой кислоты до CO_2 и H_2O . Сравните с выходом АТФ при полном окислении глюкозы (то же число атомов С). Убедитесь, какая молекула имеет больший запас энергии в расчете на один атом углерода.

9. Решить задачу, учитывая, что в процессе β -окисления жирной кислоты происходит окисление группы - CH_2 - сначала в спирт, а затем в кетон. Определить, какой фрагмент последовательности реакций цитратного цикла аналогичен реакциям β -окисления. Записать эти реакции, вспомнить участвующие в них коферменты и ферменты.

10. Напишите реакцию, катализируемую регуляторным ферментом β -окисления жирных кислот. Укажите локализацию этого фермента в клетке.

11. Написать суммарное уравнение β -окисления стеариновой кислоты (18:0).

12. Когда при β -окислении в печени образуется больше ацетил-КоА, чем может быть окислено через ЦЛК, избыток ацетил-КоА направляется на образование кетоновых тел –ацетоацетата, β -гидроксибутирата и ацетона. Именно такое положение существует при тяжелой форме диабета, потому что ткани таких больных неспособны утилизировать глюкозу и вместо этого окисляют большие количества жирных кислот. Хотя ацетил-КоА и нетоксичен, в митохондриях его избыток все же должен переводиться в кетоновые тела. Почему? Каким образом это разрешает возникающую проблему?

13. Написать суммарное уравнение биосинтеза пальмитиновой кислоты и подсчитать количество циклов, необходимых исходных продуктов и АТФ при этом процессе.

14. Указать, подобрав к каждой цифре соответствующий буквенный ответ, какие из перечисленных жирных кислот:

- | | |
|---------------------------------|---------------------|
| 1. Синтезируются в организме | A. 18:2 (9,12) |
| 2. В организме не синтезируются | B. 18:3 (9,12,15) |
| должны поступать с пищей | C. 15:0 |
| | D. 18:1 (9) |
| | E. 20:4 (5,8,11,14) |

15. Выбрать доноры водорода, необходимые для синтеза жирных кислот в организме человека:

1. ФАДН
2. НАДН + H^+
3. Аскорбиновая кислота
4. НАДФН

16. Какие органы в норме могут использовать ацетоацетат в качестве источника энергии?

1. Печень
2. Сердце
3. Мозг

4. Кортикальный слой почек

17. Написать превращение ацетоацетата в ацетил-КоА.

18. К системе, активно синтезирующей пальмитат, добавили большое количество малонил-КоА, в котором все углеродные атомы малонильного остатка мечены C^{14} . Какой углеродный атом пальмитата, образованного этой системой, обладает большей радиоактивностью - C-1 или C-16?

19. Решить задачу. Рассчитать количество молекул АТФ, образующихся при окислении 1 молекулы трипальмитоилглицерина.

Алгоритмы решения:

а) написать реакцию гидролиза этого соединения;

б) рассчитать количество молекул АТФ, образующихся при окислении 1 молекулы пальмитата до CO_2 и H_2O ;

в) записать реакции катаболизма глицерина (глицерин — α -глицерофосфат \rightarrow ФДА \rightarrow ФГА) и вспомнить путь дальнейшего окисления ФГА до CO_2 и H_2O ;

г) рассчитать количество АТФ, синтезируемое при окислении 1 молекулы глицерина до CO_2 и H_2O (используя общую схему процесса);

д) рассчитать суммарный выход АТФ при окислении 1 молекулы трипальмитоилглицерина и убедиться в том, что молекулы жиров заключают в себе очень большой запас энергии.

Примечание: в расчетах учитывать затраты АТФ на активацию субстратов окисления.

20. Напишите схему окисления 3-гидроксибутирата и рассчитайте выход молекул АТФ при окислении 1 моль этого вещества.

ТЕМА 9 - ОСНОВНЫЕ ПУТИ ПРЕВРАЩЕНИЯ БЕЛКОВ И АМИНОКИСЛОТ

9.1. Разобрать материал следующих разделов темы:

1. *Переваривание белков в желудочно-кишечном тракте.* Нарушения переваривания белков. Заменяемые и незаменимые аминокислоты.
2. *Катаболизм аминокислот.* Трансаминирование и дезаминирование аминокислот. Типы дезаминирования аминокислот, биологическое значение трансаминирования
3. *Обмен аммиака. Биосинтез мочевины.*
4. *Пути обмена безазотистого остатка аминокислот.* Гликогенные и кетогенные аминокислоты. Превращение в биогенные амины, нуклеотиды и другие соединения.

9.2. Для успешного изучения темы необходимо усвоить следующий материал:

Основные этапы переваривания белков в желудочно-кишечном тракте

1. Усвоить основные этапы и биологическое значение переваривания белков в желудочно-кишечном тракте.

2. Рассмотреть таблицу 16. Обратит внимание на то, что процесс переваривания белков:

- 1) Многоэтапный (ввиду сложности и многообразия белков пищи);
- 2) Ферментативный, осуществляемый целым набором эндо- и экзопептиаз.

3. Запомнить основные этапы переваривания:

- 1) Переваривание в желудке;
- 2) Переваривание в просвете тонкого кишечника;
- 3) «Пристеночное» переваривание.

3. Усвоить, что конечным результатом переваривания белков является образование свободных аминокислот, легко проникающих в клетки слизистой оболочки кишечника.

4. Усвоить значение секреции протеаз в виде проферментов и научиться объяснять механизм их активации:

1. Обратить внимание на структурные особенности клеток желудка и кишечника, наличие компонентов, которые защищают клетки от действия протеолитических ферментов.

2. Объяснить:

а) что произошло бы с секреторными клетками при образовании в них активных протеолитических ферментов;

б) какое значение имеет секреция протеаз в виде проферментов.

3 Запомнить, что проферменты образуются в одном месте (слизистой желудка или в поджелудочной железе), а активируются в другом (полости желудка или тонкого кишечника).

5. Знать роль HCl в образовании активного пепсина и уметь объяснять значение аутокатализа в нарастании активности фермента при попадании пищи в желудок.

6. Запомнить, что большинство ферментов панкреатического сока активируется трипсином, активная форма которого образуется при участии энтеропептидазы. Активация протеиназ в кишечнике происходит лавинообразно с участием «каскадного механизма» (рис. 14).

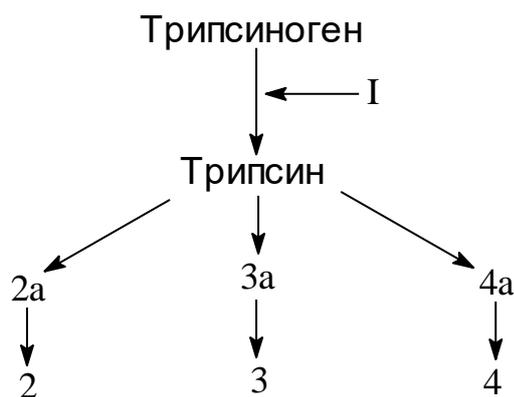


Рис. 14. Активация панкреатических протеиназ в кишечнике.

Промежуточный обмен аминокислот. Роль трансаминирования и дезаминирования в обмене аминокислот

7. Усвоить реакции трансаминирования как центрального пути обмена аминокислот.

8. Уметь объяснять трансаминирование как реакции переноса аминогрупп с аминокислоты (донора аминогруппы) на α -кетокислоту (акцептор), в результате чего образуются соответственно кетокислота и новая аминокислота. Записать уравнение реакции трансаминирования в общем виде.

9. Запомнить, что реакции трансаминирования осуществляются с участием аминотрансфераз (трансаминаз, коферментом которых является производное витамина В₆ - пизидоксальфосфат.

10. Научиться давать названия аминотрансферазам, участвующим в соответствующей реакции трансаминирования: название фермента образуется из названий субстратов - на первом месте название донора аминогрупп, затем акцептор: например, фермент, катализирующий реакцию:

глутамат + оксалоацетат \leftrightarrow α -КГ + аспаргат,

называется ГЛУТАМАТОКСАЛОАЦЕТАТАМИНОТРАНСФЕРАЗА (трансаминаза, сокращенное название ГОТ). Другое название: аспартатаминотрансфераза, сокращенно АсАТ - по названию субстрата в обратной реакции.

11. Усвоить, что в клинике в диагностических целях широко используется определение активности некоторых аминотрансфераз, особенно АсАТ и АлАТ (аланинаминотрансфераза). Ниже приведена активность этих ферментов в плазме крови здоровых людей:

АсАТ: 8-40 ед. (0,1-0,45 мкм ЩУК, образованной при инкубации 1 мл плазмы 1 ч при 37).

АлАТ: 5-30 ед. (0,1-0,68 мкм ПВК <<< <<< <<<

12. Усвоить, что путем трансаминирования образуются заменимые аминокислоты (если их в данный момент в органе недостаточно), так как реакции трансаминирования легко обратимы.

13. Знать, что трансаминирование - один из начальных этапов метаболизма аминокислот (образующиеся из них - кетокислоты могут затем окисляться в цикле трикарбоновых кислот, использоваться для глюконеогенеза, а также участвовать в синтезе заменимых аминокислот, и первая стадия непрямого дезаминирования).

14. Усвоить особенности реакций дезаминирования отдельных аминокислот и значение этих реакций в катаболизме аминокислот.

15. Используя таблицы 17 и 18 выучить основные виды дезаминирования:

1 — прямое 1) окислительное для Глу;

2) неокислительное для Сер, Тре и Гис.

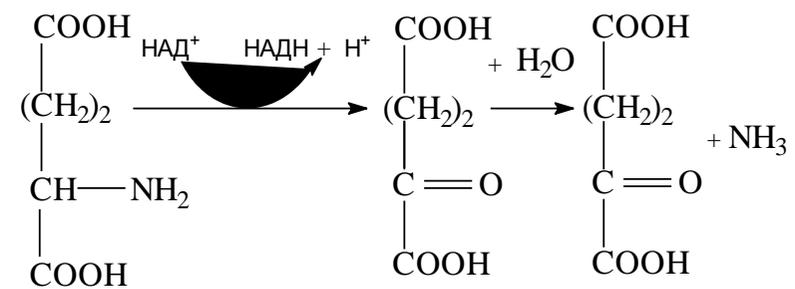
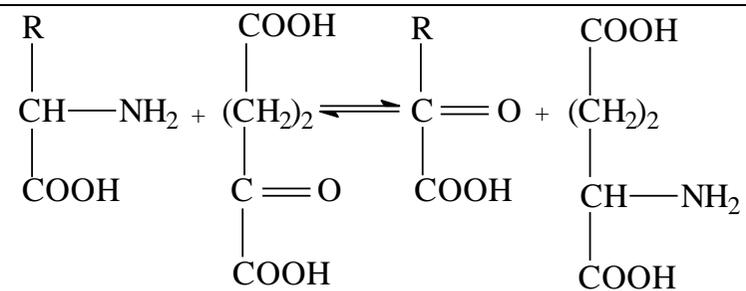
2 — не прямое (для остальных аминокислот).

Таблица 17. Прямое дезаминирование аминокислот

Виды дезаминирования аминокислот	Аминокислоты	Ферменты, коферменты	Реакции (формулами)
Окислительное	Глу	Глутаматдегидрогеназа, НАД	$ \begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ (\text{CH}_2)_2 \\ \\ \text{CH}-\text{NH}_2 \\ \\ \text{COOH} \end{array} \xrightarrow{\text{НАД}^+} \begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ (\text{CH}_2)_2 \\ \\ \text{CH}=\text{NH} \\ \\ \text{COOH} \end{array} + \text{НАДН} + \text{H}^+ \xrightarrow{+\text{H}_2\text{O}} \begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ (\text{CH}_2)_2 \\ \\ \text{CH}=\text{O} \\ \\ \text{COOH} \end{array} + \text{NH}_3 $
Неокислительное	Сер	Сериндегидратаза	$ \begin{array}{c} \text{CH}_2\text{OH} \\ \\ \text{CHNH}_2 \\ \\ \text{COOH} \end{array} \xrightarrow{-\text{H}_2\text{O}} \begin{array}{c} \text{CH}_2 \\ \\ \text{C} \text{ NH} \\ \\ \text{COOH} \end{array} \xrightarrow{+\text{H O}} \begin{array}{c} \text{CH}_2 \\ \\ \text{C} = \text{NH} \\ \\ \text{COOH} \end{array} \xrightarrow{+\text{H O}} \begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{C} = \text{O} \\ \\ \text{COOH} \end{array} + \text{NH}_3 $
	Тре	Треониндегидратаза	$ \begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{CHOH} \\ \\ \text{CH}-\text{NH}_2 \\ \\ \text{COOH} \end{array} \xrightarrow{-\text{H O}} \begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH} \\ \\ \text{C}-\text{NH}_2 \\ \\ \text{COOH} \end{array} \xrightarrow{+\text{H O}} \begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C} = \text{NH} \\ \\ \text{COOH} \end{array} \xrightarrow{+\text{H O}} \begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C} = \text{O} \\ \\ \text{COOH} \end{array} + \text{NH}_3 $
	Гис	Гистаза	$ \begin{array}{c} \text{N} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{C} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{NH} \end{array} - \text{CH}_2 - \begin{array}{c} \text{CH} \\ \\ \text{NH} \end{array} - \text{COOH} \longrightarrow \begin{array}{c} \text{N} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{C} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{NH} \end{array} - \text{CH} = \text{CH} - \text{COOH} + \text{NH}_3 $

Таблица 18. Непрямое дезаминирование аминокислот.

Стадии дезаминирования	Аминокислоты	Ферменты, коферменты	Реакции (формулами)
<p>а) трансаминирование с α-КГ</p> <p>б) окислительное дезаминирование Глу</p>	<p>Арг</p> <p>Ала</p> <p>Асп</p> <p>Вал</p> <p>Лей</p> <p>Илей</p> <p>Мет</p> <p>Тир</p>	<p>а) трансаминаза, фосфопиридоксаль</p> <p>б) глутаматдегидроге наза, НАД</p>	<p>Использовать одну из перечисленных аминокислот</p> <p>а)</p> <p>б)</p>



16. Запомнить, что большинство аминокислот подвергается в клетке непрямому дезаминированию. Обратите внимание, что не прямое дезаминирование может быть двух типов:

1) Первый тип — в результате циклических превращений α -кетоглутарата и глутамата. Этот процесс протекает в две стадии:

а) трансаминирование с α -КГ (в цитозоле);

б) окислительное дезаминирование Глу (в митохондриях).

2) Второй тип — с участием цикла ИМФ-АМФ. Этот тип дезаминирования для мышечной ткани и протекает в четыре стадии:

а) трансаминирование с α -КГ (образование глутамата);

б) трансаминирование глутамата с оксалоацетатом (фермент глутаматоксалоацетат трансаминаза) — образование аспарата;

в) реакция переноса аминогруппы от аспарата на ИМФ (инозинмонофосфат) с образованием АМФ и fumarата;

г) гидролитическое дезаминирование АМФ.

Центральную роль в непрямом дезаминировании выполняют глутаминовая кислота и α -кетоглутарат.

17. Запомнить, что катаболизм аминокислот начинается с процесса удаления аминогруппы. В отличие от трансаминирования, при дезаминировании общее количество аминокислот уменьшается.

Обмен аммиака в организме: основные источники аммиака, пути его связывания и выведения из организма

18. Получить представление об источниках аммиака в организме.

19. Познакомиться с таблицей 19 «Основные источники аммиака в организме». Усвоить, что основным источником аммиака является катаболизм аминокислот, однако аммиак может образовываться и при катаболизме других азотсодержащих веществ (например, биогенных аминов, нуклеотидов).

20. Запомнить, что определенная часть аммиака образуется в кишечнике в результате процессов микробиологической трансформации неусвоенных

аминокислот и других азотсодержащих веществ (так называемое «гниение»). Этот аммиак всасывается в кровь.

21. Знать, что удаление из диеты какой-либо незаменимой аминокислоты приводит к отрицательному азотистому балансу, потому что интенсифицируются процессы катаболизма остальных «избыточных» аминокислот.

Таблица 19. Основные источники аммиака

Источник	Процесс, ферменты	Примечания
Аминокислоты	Непрямое дезаминирование. Трансаминазы и глутаматдегидрогеназа.	Происходит во всех тканях, основной путь дезаминирования большинства аминокислот.
	Прямое неокислительное дезаминирование. Гистидаза, серин-треониндегидратаза.	Преимущественно в печени, дезаминирование Гис, Сер, Тре.
	Прямое окислительное дезаминирования аминокислот. Оксидаза L-аминокислот (ФМР-зависимая).	В печени и почках. Малозначимый путь дезаминирования.
Биогенные амины (например, серотонин)	Окислительное дезаминирование. Моноаминоксидазы (ФАД-зависимые).	Происходит во всех тканях. Служит для инактивации биогенных аминов.
А М Ф	Гидролитическое дезаминирование. АМФ-дезаминаза.	Происходит в интенсивно работающей мышце. Выделяющийся аммиак предотвращает закисление

		среды в результате образования молочной кислоты.
--	--	--

22. Знать реакции обезвреживания аммиака.

23. Усвоить, что катаболизм аминокислот и, следовательно, образование аммиака происходит во всех тканях. Поскольку аммиак обладает токсическим действием, то должны существовать синстемы обезвреживания этого соединения.

24. Записать основную реакцию обезвреживания аммиака: синтез глутамина из глутаминовой кислоты.

25. Запомнить, что глутамин является нейтральной аминокислотой, способной легко проникать через клеточные мембраны (в отличие от глутаминовой кислоты, требующей механизмов активного транспорта).

26. Выучить реакции орнитинового цикла.

27. Усвоить, что первая аминокетильная группа поступает в цикл в виде аммиака, образующегося в митохондриях (см. рис.15 «Путь азота аминокислот в орнитиновый цикл»). Обратить внимание, что реакция катализируется митохондриальной карбамолфосфатсинтетазой 1, отличающейся от цитоплазматической карбамоилфосфатсинтетазы 11, участвующей в синтезе пиримидинов.

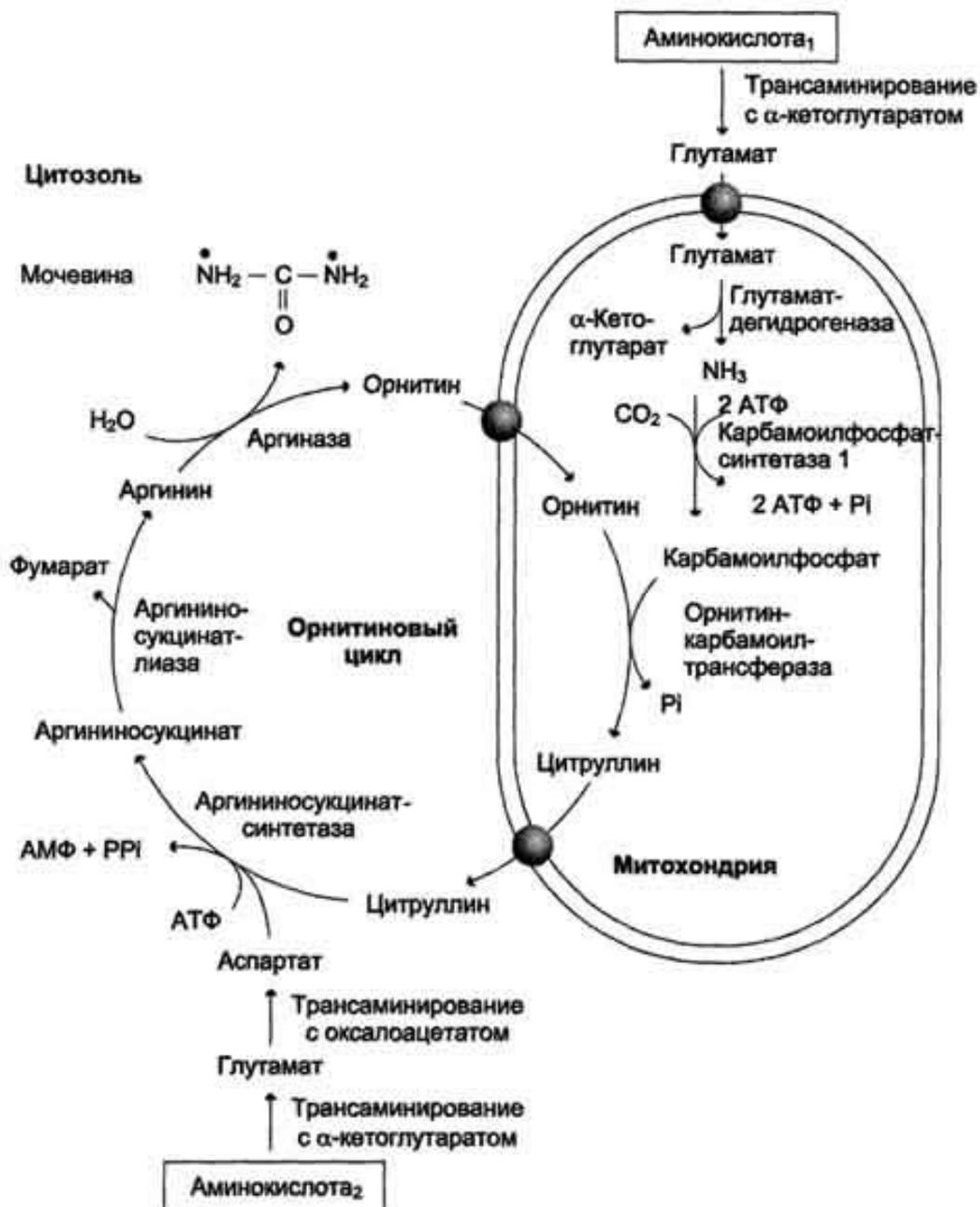


Рисунок.15 Путь азота аминокислот в орнитиновый цикл

28. Запомнить, что вторая аминогруппа вводится в мочевину из аспарагиновой кислоты.

28. Обратите внимание, что в последней реакции, катализируемой аргиназой, аргинин распадается на мочевину и орнитин. орнитин вновь поступает в митохондрии и повторно включается в цикл синтеза мочевины, (проведите аналогию с циклом трикарбоновых кислот (орнитиновый цикл был также открыт Кребсом).

Пути обмена безазотистого остатка аминокислот

29. Усвоить специфические пути превращения аминокислот: окислительное расщепление аминокислот, глюконеогенез из аминокислот.

30. Повторить реакции общего пути катаболизма.

31. Обратить внимание, что катаболические пути всех 20 аминокислот сводятся в конечном счете к 5 продуктам, вступавшим в общий путь катаболизма. Записать формулы этих 5 продуктов.

32. Обратить внимание, что некоторые аминокислоты в процессе катаболизма проходят стадию пирувата или включаются непосредственно в цикл трикарбоновых кислот.

33. Вспомнить реакции глюконеогенеза, обратив внимание на реакцию превращения пирувата в фосфоенолпируват.

34. Усвоить, что аминокислоты, которые превращаются в пируват и промежуточные продукты цикла трикарбоновых кислот, могут обеспечить процесс глюконеогенеза, т.е. называются гликогенными аминокислотами. Запомнить названия этих аминокислот.

35. Усвоить, что некоторые аминокислоты в процессе катаболизма проходят стадию ацетоацетата и могут быть источником кетоновых тел (так называемые кетогенные аминокислоты). Запомнить названия этих аминокислот.

36. Запомнить, что полное окисление безазотистых остатков аминокислот до углекислого газа и воды реального значения не имеет. Основным путем их использования является глюконеогенез. Причем этот процесс приобретает решающее значение при голодании и усиливается при сахарном диабете.

Обмен отдельных аминокислот

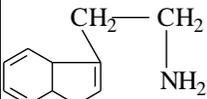
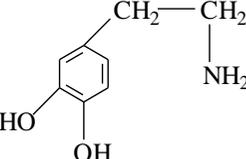
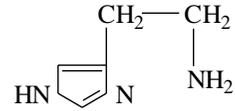
37. Уметь писать реакции синтеза катехоламинов (ДОФАмина, норадреналина, адреналина). Обратить внимание на роль метионина в синтезе последнего.

38. Знать реакции декарбоксилирования некоторых аминокислот и биологическую роль продуктов этих реакций (см. табл. 20).

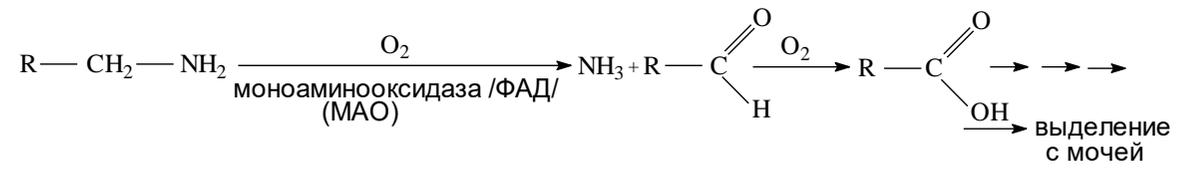
39. Обратить внимание на то, что при декарбоксилировании некоторых аминокислот или их производных образуются вещества (амины), выполняющие разнообразные функции в организме (медиаторы в синаптической передаче нервного импульса, гормоны и др.).

40. Выучить реакции образования гистамина, серотонина, гамма-аминомасляной кислоты; обратить внимание на фермент и кофермент), катализирующий эти реакции.

Таблица 20. Образование и физиологическая активность некоторых продуктов декарбоксилирования аминокислот.

Аминокислоты	Серин	Триптофан	Тирозин	Глутаминовая кислота	Гистидин
Фермент и кофермент	Декарбоксилазы, кофермент - фосфопиридоксаль (витамин В ₆)*				
Продукты декарбоксилирования	Этаноламин	Триптамин	Тирамин	α-Аминомасляная кислота	Гистамин
Биологически активные вещества	Ацетилхолин	Серотонин	ДОФАмин	-«-	
Формулы	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{C} - \text{OCH}_2\text{CH}_2 - \text{N}^+ \equiv (\text{CH}_3)_3 \\ \\ \text{O} \end{array}$			$\text{H}_2\text{N} - (\text{CH}_2)_3 - \text{COOH}$	
Физиологическая роль	Возбуждающий медиатор вегетативной нервной системы	Возбуждающий медиатор средних отделов мозга	Медиатор верхнего отдела мозга	Тормозной медиатор высших отделов мозга	Вызывает расширение сосудов (снижение давления). Увеличивает проницаемость сосудов для воды (отеки, головная боль). Увеличение секреции слюны, желудочного сока, аллергические реакции

Инактивация



- Кроме гистидиндекарбоксины, коферментом которой является пирувильная группа.

9.3. Задания по теме «Основные пути превращения белков и аминокислот»

Основные этапы переваривания белков в желудочно-кишечном тракте

1. Укажите, какие связи преимущественно расщепляются в пептиде Ala-Gly-Tyr-Thr-Arg-Val-Ile нижеперечисленными ферментами:

а) карбоксипептидазой б) химотрипсином в) трипсином г) пепсином.

2. Оптимум действия ферментов, расщепляющих белки в тонком кишечнике (трипсина, химотрипсина и карбоксипептидазы), лежит в пределах рН от 7 до 8. Однако субстраты этих ферментов поступают из желудка вместе с желудочным соком, имеющим рН 1,5-2,5. Каким образом величина рН желудочного сока доводится до значений, оптимальных для действия ферментов тонкого кишечника?

3. Указать, какие связи в данном пептиде будут гидролизироваться приведенными ниже протеазами. Пептид перепишите в тетрадь, причем радикалы аминокислот напишите формулами:

А. Пепсин С. Химотрипсин Е. Карбоксипептидаза
В. Трипсин Д. Карбоксипептидаза

4. Биологическое значение переваривания белков заключается в том, что благодаря этому процессу происходит:

1. Образование набора аминокислот, необходимых для синтеза собственных белков организма и биологически активных соединений.

2. Отщепление небелковой части сложных белков (липо-, нуклеопротеидов), что облегчает расщепление белковой части молекулы.

3. Образование продуктов, лишенных антигенной специфичности.

4. Образование продуктов, которые могут легко проникать в клетки слизистой оболочки кишечника.

5. Рассмотреть механизм активации проферментов в табл. 15. Отметить общие черты, присущие активации различных проферментов: а).....; б).....

Составить общую схему активации протеолитических ферментов:

Профермент \longrightarrow 2 + 3

6. Что является начальной причиной образования активных протеолитических ферментов из проферментов:

А. Сближение аминокислот, входящих в активный центр.

В. Изменение вторичной структуры фермента.

С. Образование новых связей в молекуле фермента.

Д. Изменение первичной структуры.

Е. Изменение третичной структуры.

7. Решить задачу. При острых панкреатитах происходит преждевременная активация проферментов в клетках панкреатической железы (в результате механического повреждения — сильного сдавливания, травмы, проферменты выходят из клеток и активируются в самой железе, а не в полости тонкой кишки).

а) Какие ферменты могут активироваться при острых панкреатитах?

1.....2.....3.....4.....

б) Какие последствия может вызвать такая активация?

в) Как можно уменьшить разрушительное действие панкреатических протеиназ?

г) Биохимическим тестом на острый панкреатит в клинической практике служит определение α -амилазы в крови больного. Объясните, почему активность α -амилазы в крови при остром панкреатите увеличивается?

Промежуточный обмен аминокислот. Роль трансаминирования и дезаминирования в обмене аминокислот

8. Написать формулами реакции трансаминирования между следующими парами аминокислот и α -кетокислот:

а) Глу + пируват \rightarrow

б) Глу + оксалоацетат \rightarrow

в) Ала + α -КГ \rightarrow

Указать:

1. Назвать продуктов, образующихся в каждой реакции;
2. Полное название ферментов;
3. Название кофермента и написать его формулу.

9. Решить задачу. Аминокислотный состав тканей и органов может существенно отличаться от соотношения аминокислот в белках пищевых продуктов. Перераспределение аминного азота осуществляется в реакциях трансаминирования с образованием необходимых заменимых аминокислот. Напишите уравнения реакций, ведущих к образованию аспарагиновой кислоты в условиях недостатка Асп и избытка Ала в пище.

10. Ответить на тест:

Трансаминирование - важнейший процесс обмена аминокислот, благодаря которому происходит:

1. Синтез заменимых аминокислот.
2. Начальный этап катаболизма аминокислот.
3. Перераспределение аминного азота в тканях организма.
4. Синтез незаменимых аминокислот.

11. Написать схему реакций, с помощью которых могут терять азот (дезаминироваться) следующие аминокислоты: а) Асп, б) Сер, в) Глу.

Указать ферменты и коферменты, а также реакции, связанные с синтезом АТФ.

12. Выбрать правильные ответы:

Центральная роль глутаминовой кислоты в промежуточном обмене аминокислот определяется тем, что глутаминовая кислота:

1. Участвует в трансаминировании как универсальный донор аминогрупп.
2. Легко образуется из α -КГ, универсального акцептора аминогрупп.
3. Деаминируется НАД-зависимой глутаматдегидрогеназой.
4. Является заменимой аминокислотой.

13. Назовите и напишите α -оксокислоты, образующиеся из перечисленных ниже аминокислот в реакции переаминирования с 2-оксоглутаратом:

- а) Asp б) Ala в) Phe г) Tyr.

Обмен аммиака в организме: основные источники аммиака, пути его связывания и выведения из организма

14. Источниками аммиака в организме являются:

1. Дезаминирование аминокислот.
2. Катаболизм пуриновых нуклеозидмонофосфатов.
3. Инактивация биогенных аминов.
4. Процессы гниения белков в кишечнике.

15. Мочевина имеет строение $\text{NH}_2\text{-CO-NH}_2$. Зная последовательность реакций синтеза мочевины, укажите происхождение каждого атома азота и углерода в молекуле мочевины.

16. Токсическое действие аммиака на клетки мозга объясняется, в частности, нарушением образования нейромедиаторов. Синтез какого из известных Вам нейромедиаторов будет нарушен в первую очередь?

17. Кошкам, голодавшим в течение 1/2 суток, дали утром натошак аминокислотную смесь, содержащую весь набор аминокислот, за исключением аргинина. Через 2 часа содержание аммиака у животных в крови возросло до 140 мкг/л (при норме 18 мкг/л) и появились клинические симптомы аммиачного отравления (кома, судороги). В контрольной группе животных, получивших смесь, симптомов объяснить:

- а) почему отсутствие аргинина привело к аммиачному отравлению;
- б) можно ли аргинин заменить орнитином?

Обмен отдельных аминокислот

18. При декарбоксилировании каких аминокислот или их производных образуются следующие соединения:

1. Ацетилхолин
2. Серотонин
3. ДОФАмин
4. Гамма-аминомасляная кислота
5. Гистамин

19. Написать реакцию образования гамма-аминомасляной кислоты, указать фермент, кофермент.

ТЕМА 10 – СТРУКТУРА И СВОЙСТВА НУКЛЕОЗИДОВ - НУКЛЕОТИДОВ - НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

10.1. Разобрать материал следующих разделов темы:

1. **Нуклеиновые основания: пиримидиновые** (урацил, тимин, цитозин), **пуриновые** (аденин, гуанин). Лактим-лактаманная таутомерия. Реакции дезаминирования, метилирования оснований.
2. **Водородные связи в комплементарных нуклеиновых основаниях. Нуклеозиды.** Строение. Углеводные компоненты. Конфигурация гликозидного центра
3. **Мононуклеотиды.** Структура, номенклатура. Классификация. Биологические функции. Природные биологически активные нуклеотиды: АМФ, АДФ, АТФ, НАД⁺, ФАД, цАМФ. Мононуклеотиды как структурные элементы нуклеиновых кислот
4. **Полинуклеотиды и нуклеиновые кислоты.** Классификация и номенклатура. Фосфодиэфирная связь. ДНК и РНК. Первичная структура нуклеиновых кислот

10.2. Задания по теме «Структура и свойства нуклеозидов - нуклеотидов - нуклеиновых кислот».

1. Вспомните строение рибо- и дезоксирибонуклеозидов и нуклеотидов. Перенесите названия нуклеозидов и нуклеотидов в таблицу к названиям оснований.

Основание	Сахар	Нуклеозид	Нуклеотид
Аденин	Дезоксирибоза		
Гуанин			
Цитозин			
Тимин			

Аденин	Рибоза		
Гуанин			
Цитозин			
Урацил			

2. Напишите структурные формулы всех нуклеиновых оснований, входящих в состав нуклеотидов.
3. Напишите структурные формулы некоторых нуклеозидов, например: цитидина, дезоксицитидина, аденозина, дезоксиаденозина.
4. Напишите структурные формулы ГТФ, ТМФ, ЦМФ и дЦМФ
5. Напишите полуреакции восстановления НАД⁺ и ФАД
6. Напишите структурные формулы полинуклеотидов: дА-Т-дГ'; У-Г-А'. Укажите 3', 5'-концы и фосфодиэфирные связи. Какой суммарный заряд у этих структур при рН 7?
7. Определить коэффициент молярной экстинкции аденина, если известно, что его раствор в концентрации 5 мг/л имеет оптическую плотность 0,229 при длине волны 262 нм и ширине кюветы 5 мм. Молекулярная масса аденина составляет 135 Да.
8. Определить величину оптической плотности растворов в кюветах толщиной 5 мм и 20 мм: а) 56,3 мкМ раствора цитозина при 260 нм и б) 8,3 мкМ раствора урацила при 260 нм, если известны коэффициенты молярной экстинкции для указанных оснований при 260 нм, равные 5550 и 8200 л/(моль см), соответственно.
9. Кэрис при изучении репликации ДНК использовал радиоактивный тимидин. Почему именно тимидин? Можно ли было с тем же успехом использовать радиоактивный аденозин или гуанозин?
10. Среди перечисленных соединений укажите структурные элементы РНК:

<i>a. тимин</i>	<i>b. D-рибоза</i>
<i>c. урацил</i>	<i>d. аденин</i>

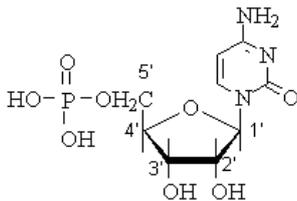
11. Среди перечисленных соединений выберите нуклеозид:

- Аденин
- Тимидин-5'-монофосфат
- Цитидин
- Дезоксигуанозин
- Урацил

12. Среди перечисленных соединений выберите нуклеотид:

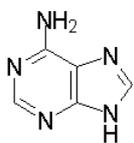
- Аденин
- Тимидин-5'-монофосфат
- Цитидин
- Дезоксигуанозин
- Урацил

13. Назовите соединение:

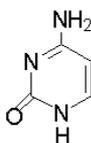


14. Выберите пуриновые основания, которые входят в состав природных нуклеотидов:

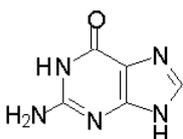
1.



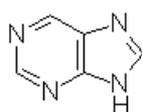
2.



3.



4.



15. Из каких мономеров построены нуклеиновые кислоты?

- Нуклеозиды
- Жирные кислоты

- Моносахариды
- Аминокислоты
- Нуклеотиды
- Нуклеиновые основания

16. Какие связи обеспечивают формирование первичной структуры нуклеиновых кислот:

- Гликозидные
- Фосфодиэфирные
- Водородные
- Гидрофобные

17. Выберите силы, стабилизирующие вторичную структуру ДНК?

- Водородные связи
- Стэкинг-взаимодействия
- Фосфодиэфирные связи
- Пептидные связи
- Дисульфидные связи

18. Выберите положения, характеризующие особенности структуры ДНК:

- Количество нуклеотидов А и Т одинаково.
- Количество Г и Ц одинаково.
- Одна нуклеотидная цепь комплементарна другой.
- Нуклеотидная последовательность одной нити идентична нуклеотидной последовательности другой нити.
- 3'-конец одной цепи находится напротив 3'-конца другой цепи.
- Пространственная структура - двойная спираль

19. Выберите утверждения, характеризующие первичную структуру РНК:

- В состав мономеров нуклеиновой кислоты входят аденин, гуанин, урацил, цитозин
- В состав мономеров нуклеиновой кислоты входит дТМФ.
- Мономеры связаны 3'-5'-фосфодиэфирными связями.

- Мономеры связаны пептидными связями.
20. Найдите положения, характеризующие структуру т-РНК:
- Двойная спираль
 - Структура «клеверного листа»
 - КЭП-структура на 5'-конце
 - ЦЦА-триплет на 3'-конце
 - Свободная ОН-группа на 3'-конце
 - Полиаденилатная цепочка на 3'-конце
21. Какие связи обеспечивают формирование вторичной структуры нуклеиновых кислот:
- Гликозидные
 - Фосфодиэфирные
 - Водородные
 - Гидрофобные
22. Из перечисленных пар азотистых оснований выберите комплементарные пары, обеспечивающие формирование вторичной структуры РНК:
- гуанин- урацил
 - аденин - урацил
 - гуанин - цитозин
 - тимин - аденин
 - аденин – гуанин
23. Каким из перечисленных параметров не отличаются разные типы м-РНК.
- Первичной структурой.
 - Молекулярной массой.
 - Вторичной структурой.
 - Способом соединения нуклеотидов в полинуклеотидной цепи.

10.3. Самостоятельная контрольная работа «Нуклеотиды»

Напишите структурную формулу нуклеотида.

<i>Вариант</i>	<i>Нуклеотид</i>
1	уридин-5'-фосфат
2	уридин-3'-фосфат
3	дезоксиуридин-5'-фосфат
4	тимидин-3'-фосфат
5	тимидин-5'-фосфат
6	дезоксицитидин-5'-фосфат
7	дезоксицитидин-3'-фосфат
8	аденозин-3'-фосфат
9	дезоксиаденозин-5'-фосфат
10	аденозин-5'-фосфат
11	гуанозин-5'-фосфат
12	гуанозин-3'-фосфат
13	дезоксигуанозин-5'-фосфат
14	дезоксигуанозин-3'-фосфат
15	3-N-метилуридин-3'-фосфат
16	1-N-метилгуанозин-5'-фосфат

ТЕМА 11 - ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ ДНК И РНК

11.1. Разобрать материал следующих разделов темы:

1. **Вторичная структура нуклеиновых кислот, двойная спираль ДНК.** Комплементарные и межплоскостные взаимодействия нуклеиновых оснований.
2. **Полиморфизм двойной спирали ДНК.** Циклические сверхскрученные ДНК и топоизомеры.
3. **Особенности строения ДНК** бактерий, вирусов, фагов, митохондрий
4. **Макромолекулярная структура РНК.** Особенности строения цитоплазматических РНК. Рибосомы прокариот и эукариот

11.2. Для успешного изучения темы необходимо усвоить следующий материал:

1. Обратить внимание на особенности ДНК митохондрий.

Митохондрии ограничены мембраной и имеют собственную генетическую систему. ДНК митохондрий имеют несколько особенностей:

- а) В ДНК митохондрий нередки отклонения от генетического кода. Например, в митохондриях человека кодон АУА кодирует метионин вместо изолейцина в стандартном коде.
- б) Транспортную РНК в митохондриях узнают сразу 4 кодона, что уменьшает значимость третьего нуклеотида в кодоне и приводит к меньшему числу т-РНК.
- в) В генетической системе митохондрий содержится запись не всех белков митохондрий, но большинства из них.
- г) Некоторые малые РНК транспортируются в митохондрии из цитоплазмы.
- д) Некоторые гены митохондрий представлены копиями в ядерных ДНК.
- е) В ходе транскрипционных изменений происходит исправление большого количества ошибок в молекуле м-РНК до 40%, и этот процесс играет важную роль в адаптации организмов.

2. Усвоить основные характеристики вторичной структуры ДНК:

- а) молекула состоит из двух полинуклеотидных цепей, расположенных антипараллельно;
- б) цепи удерживаются друг относительно друга за счет водородных связей между комплементарными азотистыми основаниями: А-Т и Г-Ц;
- в) цепи комплементарны, но не идентичны друг другу; нуклеотидный состав цепей различен;
- г) комплементарные цепи закручены в спираль вокруг общей оси.

3. Обратить внимание на особенности структуры различных типов РНК:

- а) все типы РНК имеют одну полинуклеотидную цепь;
- б) отдельные участки цепей РНК образуют спирализованные петли – «шпильки» за счет водородных связей между комплементарными азотистыми основаниями.
- в) на 5' конце мРНК имеют специфическую нуклеотидную последовательность – «колпачок», обеспечивающую прикрепление м-РНК к рибосоме; на 3' конце фрагмент поли-А, который защищает молекулу от действия нуклеаз и способствует транспорту ее из ядра в цитоплазму;
- г) около 70% полинуклеотидной цепи т-РНК образует «шпильки», определяющие специфическую плоскостную конформацию молекул – фигуру «клеверного» листа, которая в трехмерном пространстве приобретает L – образную форму. т-РНК характеризуется наличием на 3' конце молекулы акцепторного участка (ЦЦА) – места присоединения аминокислот, и в средней части молекулы антикодона – триплета нуклеотидов, обеспечивающего взаимодействие т-РНК с кодоном м-РНК.

4. Повторить и разобрать следующие вопросы:

- а) Комплементарные и межплоскостные взаимодействия нуклеиновых оснований – основа формирования двойной спирали ДНК.
- б) Особенности пространственного строения А-, В-, Z-форм двойной спирали ДНК и их роль в формировании активного хроматина.

- в) Топоизомеразы, их функции
- г) Типы РНК в клетке.
- д) Функции цитоплазматических РНК.
- е) Особенности строения рРНК, тРНК, мРНК
- ж) Различия между рибосомами прокариот и эукариот.
- з) Уровни организации ДНК в хромосомах. Нуклеосома. Гистоны.
Химическая модификация гистонов как один из механизмов регуляция активности хроматина.
- и) В ходе транскрипционных изменений происходит исправление большого количества ошибок в молекуле м-РНК до 40%, и этот процесс играет важную роль в адаптации организмов.

11.3. Задания по теме «Структура и свойства нуклеозидов - нуклеотидов - нуклеиновых кислот».

1. Выбрать соединения, являющиеся иономерами нуклеиновых кислот:
 1. Азотистые основания
 2. Нуклеозиды
 3. Динуклеотиды
 4. Нуклеозидмонофосфаты
2. Подобрать для каждого типа нуклеиновых кислот соответствующие особенности вторичной структуры:
 1. Комплементарность двух полинуклеотидных цепей.
 2. Антипараллельное расположение двух полинуклеотидных цепей.
 3. Комплементарность между отдельными участками одной полинуклеотидной цепи.
 4. Образование водородных связей между комплементарными азотистыми основаниями.
 5. Образование водородных связей между >C-O и NH – группами полипептидного остова.

- А. Характерны только для ДНК
- В. Характерны только для РНК
- Д. Не характерны ни для одного типа НК

3. Заполните таблицу:

Форма ДНК	Направление закручивания	Число пар нуклеотидов на один виток	Конформация С2' и С3'	Угол поворота оснований вокруг оси спирали	Другие свойства

4. Приведите примеры комплементарных пар оснований. Чем обеспечивается их спаривание? Почему аденин не может образовать пары с цитозином?

5. Заполните таблицу:

Цитоплазматическая РНК	Функции	Особенности первичной структуры	Особенности пространственной структуры

6. Приведите примеры комплементарных пар оснований. Чем обеспечивается их спаривание? Почему аденин не может образовать пары с цитозином?

7. Объясните, какие силы и взаимодействия обеспечивают образование нуклеосом.

8. Приведите схему реакции ацилирования гистонов. Какова биологическая роль этого процесса?

9. Известно, что температура плавления ДНК линейно зависит от содержания в ее составе ГЦ-пар, что выражается уравнением: $T(\text{пл.}) = 69,3 + 0,41X$, где X – содержание ГЦ-пар в процентах. Какова будет температура плавления различных образцов ДНК, если известно число ГЦ-пар в их составе, которое равно: 33,7; 48,6; 53,3; 63,1 и 66,5? Каковым будет соотношение ГЦ и АТ-пар, если температура плавления ДНК равна: 78о; 85о и 91о? Нарисуйте кривую

зависимости между величиной точки плавления ДНК и содержанием ГЦ или АТ пар в её структуре.

10. Составьте таблицу, в которой приведены сравнительные характеристики ДНК про- и эукариот (особенности нуклеотидного состава, величина молекулярной массы, число цепей в хромосоме, упаковка, скорость репликации и т.п.).

ТЕМА 12 – МАТРИЧНЫЕ БИОСИНТЕЗЫ

12.1. Разобрать материал следующих разделов темы:

- 1. Репликация ДНК.** Белки и ферменты прокариот и эукариот, участвующие в репликации.

Полуконсервативный способ репликации. Репликативная вилка. Участие ДНК-топоизомеразы и ДНК-хеликазы в образовании репликативной вилки. РНК-праймеры. Лидирующая и отстающая цепи ДНК. Фрагменты Оказаки.

Понятие «ориджина». Скорость репликации ДНК. Репликон. Метилирование ДНК и его биологическое значение.

Понятие концевой недорепликации и возможности её преодоления. Теломеры и теломераза. Особенности теломерной ДНК. Защитные системы клетки и их активность при старении организма. Теломераза и онкогенез.
- 2. Репарация.** Спонтанные повреждения. Ошибки репликации, депуринизация и дезаминирование. Репарация таких повреждений. Индуцируемые повреждения. Индуцирующие факторы (УФ- и ионизирующее излучение, нитраты и нитриты, метилирующие агенты, интерколяторы). Специфические ферменты репарации.
- 3. Транскрипция.** Схема реализации генетической информации в фенотипические признаки. Промоторы, транскриптон, транскрипционные факторы. Этапы транскрипции (инициация, элонгация и терминация). Процессинг РНК у прокариот и эукариот. Полиаденилирование, кэпирование и сплайлинг мРНК эукариот. Альтернативный спайсинг первичных транскриптов мРНК.
- 4. Биосинтез белков (трансляция).** Генетический код и его свойства (триплетность, универсальность, однозначность, вырожденность).

Основные компоненты белок синтезирующей системы. Адапторные функции тРНК и аминоацил-тРНК. Активация

аминокислот.

Синтез полипептидной цепи на рибосоме (инициация, элонгация, терминация). Полирибосомы.

Фолдинг белков (посттрансляционные модификации полипептидных цепей). Присоединение простетических групп, формирование четвертичной структуры, образование дисульфидных связей, частичный протеолиз, ковалентная модификация).

5. **Ингибиторы матричных биосинтезов.** Ингибиторы транскрипции и трансляции – антибактериальные препараты. Вирусы и токсины. Интерфероны

12.2. Для успешного изучения темы необходимо усвоить следующий материал:

1. Обратите внимание!

Посттрансляционная модификация белка (фолдинг белков)

1. Некоторые белки, например, ферменты или белки системы свёртывания крови синтезируются на рибосомах в виде белков-предшественников. Для их активации необходим частичный гидролиз полипептидной цепи, т.е. физически активными они становятся лишь после частичного протеолиза. Таким образом, протеолиз – это одно из направлений посттрансляционного изменения белка.

2. В составе некоторых белков встречаются нестандартные аминокислоты, например, в составе белка коллагена встречается много оксипролина, в состав ластина входит большое количество десмозина, образующегося из четырёх лизинов. Все эти изменения происходят под действием определённых ферментов после синтеза белка на рибосомах, например, фермент, гидроксилирующий пролин до оксипролина требует участия в качестве K_0 – фактора витамина С (витамин С – зависимая

гидроксилированная). Нехватка витамина С в организме может привести к нарушениям пострасляционных изменений коллагена, а, следовательно, к изменению его конформации, что приводит к рыхлости соединительных тканей.

3. Образование гликопротеинов и липопротеинов путём присоединения липидов или углеводов к синтезированному белку.

4. Сборка отдельных субъединиц с образованием белка четвертичной структуры.

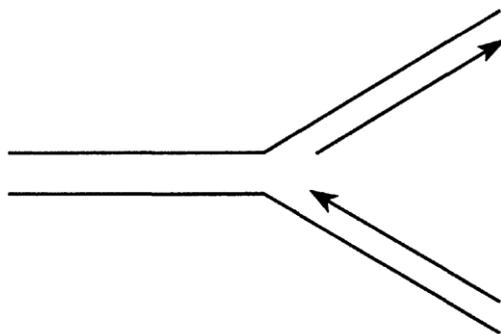
5. Присоединение простетических групп к белкам, например, гемоглобину.

6. Стабилизация белков. Многие белки проявляют свою активность лишь после фосфорилирования по остаткам тирозина или серина.

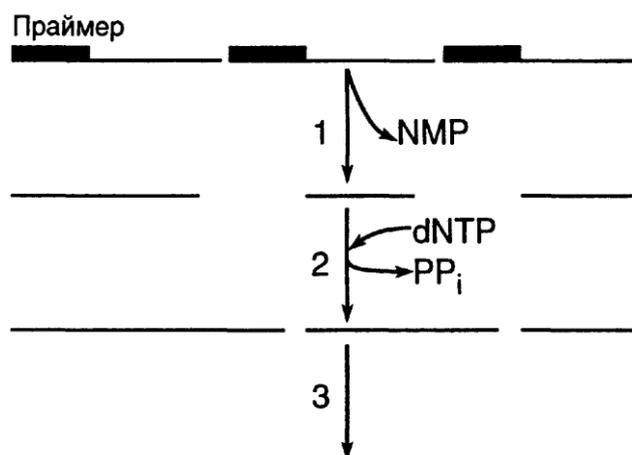
7. Карбоксилирование факторов свёртывания крови при участии витамина К (витамин К зависимая карбоксилирования). Некоторые биологически активные пептиды, участвующие в свёртывании крови проявляют свою активность после карбоксилирования остатков глутаминовой кислоты. В результате образуются белки, способные хелатировать ионы кальция, что приводит к изменению конформации белка и появлению его активности.

12.3. Задания по теме «Матричные биосинтезы».

1. Расскажите об особенностях репликации ДНК у про- и эукариот.
2. Для указанной на рисунке схемы определите 3' и 5'-концы матричной цепи и вновь синтезированных фрагментов, определите лидирующую и отстающую цепи.



3. Определите, какой этап репликации изображен на схеме. Выберите ферменты, которые могут катализировать стадии 1, 2 и 3.



- А) ДНК-полимераза I
- Б) ДНК-полимераза III
- В) ДНК-полимераза α
- Г) ДНК-полимераза β
- Д) ДНК-полимераза δ
- Е) ДНК-полимераза ε
- Ж) ДНК-лигаза

4. Определите возможные последовательности нуклеотидов иРНК, с которых синтезируются последовательности пептидов:

- а. глицин – аланин – аспарагин – глутамин – глицин,
- б. валин – триптофан – метионин – пролин – серин,
- с. лизин – треонин – валин – лейцин – изолейцин.

5. Напишите последовательности ДНК, с которых синтезировались иРНК в предыдущей задаче.

6. Напишите последовательности ДНК, иРНК, которая переписана с неё, а также последовательности аминокислот при сдвиге рамки считывания на -2, -1, +1, считая относительно пятого нуклеотида.

7. У больных серповидно-клеточной анемией в бета-цепи гемоглобина глутаминовая кислота заменена на валин. Какие возможные изменения в молекуле ДНК привели к такой замене аминокислоты?

Таблица генетического кода (соответствие кода иРНК и аминокислот)

Аминокислота	Последовательность триплета в направлении 5' → 3'					
	ГЦЦ	ГЦГ	ГЦУ	ГЦА		
Аланин	ГАЦ	ГАУ				
Аспарагиновая кислота	ААЦ	ААУ				
Аспарагин						

Аргинин	ЦГЦ	ЦГГ	ЦГУ	ЦГА	АГГ	АГА
Валин	ГУЦ	ГУГ	ГУУ	ГУА		
Глицин	ГГЦ	ГГГ	ГГУ	ГГА		
Гистидин	ЦАЦ	ЦАУ				
Глутамин	ЦАГ	ЦАА				
Глутаминовая кислота	ГАГ	ГАА				
Изолейцин	АУЦ	АУУ	АУА			
Лейцин	ЦУЦ	ЦУГ	ЦУУ	ЦУА	УУА	УУГ
Лизин	ААГ	ААА				
Метионин	АУГ					
Пролин	ЦЦЦ	ЦЦГ	ЦЦУ	ЦЦА		
Серин	УЦЦ	УЦГ	УЦУ	УЦА	АГЦ	АГУ
Тирозин	УАЦ	УАУ				
Треонин	АЦЦ	АЦГ	АЦУ	АЦА		
Триптофан	УГГ					
Фенилаланин	УУЦ	УУУ				
Цистеин	УГЦ	УГУ				

8. Составьте таблицу, отражающую отдельные этапы клеточного цикла и процессы, происходящие в эти периоды.
9. Кратко опишите суть «концевой недорепликации».
10. Составьте таблицу с описанием всех матричных биосинтезов по общей схеме: субстраты, ферменты, матрица, локализация в клетке, кофакторы, источник энергии.
11. Составьте таблицу этапов – инициации, элонгации и терминации в сравнительном аспекте (сигналы для начала этапа, необходимые элементы и факторы, время протекания, завершение этапа и пр.).

12. Составьте таблицу, в которой сравнивались бы процессы трансляции в про- и эукариотических клетках (особенности генной кодировки, скорость трансляции, участники трансляции, энергетические характеристики и т.п.)
13. Сворачивание синтезированной белковой цепи в пространственную структуру и химическая модификация аминокислотных остатков белков (присоединение углеводов, окисление групп и т.д.) происходят в процессе, который называют _____
14. Сворачивание синтезированной белковой цепи в пространственную структуру и химическая модификация аминокислотных остатков белков (присоединение углеводов, окисление групп и т.д.) происходят в присутствии специальных белков, которые называют _____
15. Процесс синтеза белка называется _____
16. Процесс синтеза РНК с молекулы ДНК называется _____
17. Процесс удвоения молекулы ДНК называется _____
18. В рибосоме различают следующее число основных центров связывания и протекания реакции
- 2
 - 4
 - 6
 - 8
19. Процессы синтеза белка обеспечиваются в основном энергией в виде:
- АТФ
 - ТТФ
 - ЦТФ
 - ГТФ
20. Число кодонов-терминаторов равно _____
21. Назовите и охарактеризуйте периоды клеточного цикла.
22. Назовите и охарактеризуйте фазы митоза.
23. Что такое циклин-зависимые киназы и какова их роль в клетке?

24. Какие виды комплексов циклин-киназа вам известны?
25. В S-период митотического цикла происходит _____
26. Во время M-периода митоза происходит _____
27. Ключевая роль в поочерёдной смене фаз клеточного цикла отведена ферментам, которые называют _____
28. Группу белков, изменение концентрации которых носит циклический характер в связи с процессом деления, называют _____
29. Для процессов репликации, репарации, транскрипции и трансляции укажите: а) субстраты; б) источники энергии; в) ферменты; г) кофакторы; д) локализацию в клетке; е) матрицу для процесса копирования; ж) направление синтеза новых полимерных цепей; з) продукт биосинтеза. На основании этих ответов составьте таблицу.
30. Заполните таблицу «Белки, участвующие в формировании репликативного комплекса у *E.coli*».

Белки	Ферментативная активность	Биологические функции

31. Заполните таблицу «Полимеразы эукариот».

Тип полимеразы	Ферментативная активность	Биологические функции

ТЕМА 13 - РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ У ПРО- И ЭУКАРИОТ

13.1. Разобрать материал следующих разделов темы:

1. *Адаптивная регуляция генов у прокариот. Теория оперона.* Индукция синтеза белков. Лас-оперон. Опероны верхнего и нижнего путей катаболизма нафталина.
2. *Репрессия синтеза белков.* Триптофановый и гистидиновый опероны.
3. *Механизмы регуляции генов у эукариот.* Гетерохроматин и эухроматин. Транскрипционно-активный хроматин. Энхансеры и сайленсеры.
4. *Клеточный цикл и его регуляция.* Стадии митоза G 1, S, G 2, M.
5. *Клетки митотические, условно постмитотические, постмитотические.* Циклины и циклин-зависимые киназы

13.2. Для успешного изучения темы необходимо усвоить следующий материал:

1. Обратите внимание!

Клеточный цикл и его регуляция

Клеточным циклом называется совокупность событий, обеспечивающих деление эукариотической клетки (рис.16). Продолжительность клеточного цикла зависит от типа клеток.

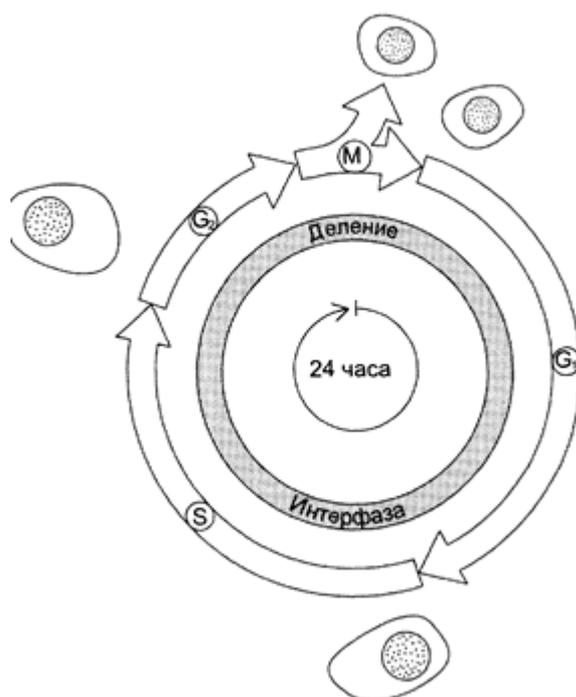


Рис.16. Фазы клеточного цикла

Все фазы различаются по времени, особенно G_1 , продолжительность которой может быть равна 0 или так велика, что говорят, что клетка находится в покое, фаза G_0 и не делится. Внешние сигналы могут активировать или ингибировать прохождение клеток через цикл деления. Такими сигналами могут быть факторы роста, интерлейкины, гормоны, способные поддерживать деление определённых клеток.

Эти соединения связываются с рецепторами на поверхности клетки, активируют путь переноса сигнала внутрь ядра и в виде комплексов с определёнными белками связываются с регуляторными последовательностями в молекуле ДНК, активируя транскрипцию. Одним из первых активируются белки – *циклины*, которые названы так, т.к. их концентрация меняется в зависимости от фазы цикла. Все циклины делятся на 2 подсемейства: циклин-зависимые киназы (катализируют субстрат с помощью АТФ, класс трансфераз) становятся активными после связи с циклинами и фосфорилируют специфические белки, например, факторы транскрипции. Синтез каждого циклина начинается при подготовке к соответствующей фазе клеточного роста,

что приводит к активации специфических ферментов – киназ и, следовательно, к фосфорилированию определённых белков, активность которых необходима на каждой фазе клеточного цикла.

Таблица 21. Регуляция клеточного цикла

Циклин	Киназа	Функция
D, E	CDK4, CDK6	Регулирует переход клетки из G ₁ -фаза в S-фазу
A	CDK2	Активирует синтез ДНК на начальной стадии S-фазы
B	CDK1	Регулирует переход клетки из G ₂ -фаза в M-фазу

2. Усвоить механизм регуляции транскрипции по типу индукции и репрессии.

3. Познакомиться с таблицей 22 «Регуляция синтеза на уровне транскрипции» и таблицей 23 «Регуляция действия генов в ходе клеточной дифференцировки».

Обратить внимание на существование двух типов регуляции биосинтеза белков: кратковременной, обеспечивающей адаптацию организма к возможным изменениям окружающей среды и длительной, стабильной, определяющей дифференцировку клеток и разный белковый состав органов и тканей.

4. Разобрать, с помощью каких факторов и через какие механизмы осуществляются эти виды регуляции.

Таблица 22. Регуляция синтеза белков на уровне транскрипции

Виды регуляции	1. Кратковременная индукция синтеза белков. 2. Кратковременная репрессия синтеза белков.
Регуляторные факторы	1. Метаболиты (субстраты /S/ и конечные продукты метаболических путей /P/). 2. Гормоны (кортизол, тироксин). 3. белки-регуляторы.
Механизмы регуляции	Регуляторные факторы (индукторы, корепрессоры) связываются с белками-регуляторами, изменяют их конформацию и сродство к операторам. Репрессия: белок-регулятор, связываясь с корепрессором

	<p>(например, накопившемся в избытке конечным продуктом Р), приобретает к оператору и блокирует транскрипцию метаболического пути E₁, E₂ и т.д.</p> <p>Индукция: белок-регулятор связывается с индуктором (например, субстратом, и теряет сродство к оператору. Начинается транскрипция структурных генов и синтез соответствующих ферментов.</p>
Биологическое значение	<p>Метаболиты и гормоны могут временно изменят содержание белков в клетках, а, следовательно, - метаболизм и функциональное состояние клеток. Таким путем достигается адаптация к изменяющимся условиям среды.</p>

Таблица 23. Регуляция действия генов в ходе клеточной дифференцировки

Вид регуляции	Стойкая, сохраняющаяся на протяжении всей жизни клетки репрессия генов
Регуляторные факторы	<ol style="list-style-type: none"> 1. Гистоны 2. ДНК-метиلاзы 3. Белки, обуславливающие конденсацию ДНК
Механизм регуляции	Связывание ДНК с гистонами, метилирование оснований, конденсация ДНК препятствуют транскрипции хроматина. В клетках разных тканей стойко репрессированы различные гены.
Биологическое значение	Клетки разных тканей одного организма отличаются по белковому составу и, следовательно, по обмену веществ и функциям. Стабильная регуляция создает молекулярные основы онтогенеза и клеточной дифференцировки.

13.3. Задания по теме «Регуляция экспрессии генов у про- и эукариот».

1. Выбрать положения, правильно отражающие регуляцию синтеза белка по механизму индукции:

1. В отсутствие индуктора белок-регулятор связан с оператором и транскрипция структурных генов невозможна.
2. Индукторами синтеза белка могут быть субстраты метаболических путей.
3. Индукторами синтеза белка могут быть конечные продукты метаболических путей.
4. В присутствии индуктора сродство белка-регулятора к оператору снижено.
5. В присутствии индуктора сродство белка-регулятора к оператору возрастает.
6. В присутствии индуктора РНК-полимераза способна присоединиться к промотору и начать синтез мРНК.

2. Решить задачу:

Диплоидная клетка человека содержит 45 хромосом, которые, вероятно, включают по одной молекуле ДНК. Каждая молекула ДНК содержит примерно 100 млн нуклеотидных пар. Предлагается, что геном человека (все молекулы одного ядра) содержит около 50000 структурных генов. Размер гена колеблется от 1000 до 1500 нуклеотидных пар. Определить, сколько в среднем генов может быть на молекуле ДНК и какую долю составляют гены от всей ДНК клетки.

3. Заполните таблицу

Спонтанные повреждения. Ошибки репликации, депуринизация и дезаминирование. Репарация таких повреждений.	3.6.2. Индуцируемые повреждения. Индуцирующие факторы (УФ- и ионизирующее излучение, нитраты и нитриты, метилирующие агенты, интерколяторы). Специфические ферменты репарации
Спонтанные повреждения.	3.6.2. Индуцируемые повреждения.

<p>Ошибки репликации, депуринизация и дезаминирование. Репарация таких повреждений.</p>	<p>Индущирующие факторы (УФ- и ионизирующее излучение, нитраты и нитриты, метилирующие агенты, интерколяторы). Специфические ферменты репарации</p>
---	---

4. Для лактозного и триптофанового и нафталинового оперонов укажите влияние регуляторных факторов на:

- А) сродство белка-регулятора к оператору (повысится или понизится);
- Б) индукция или репрессия синтеза ферментов;
- В) изменение концентрации метаболитов, являющихся исходными субстратами или конечными продуктами метаболических путей.

5. Белок, который кодируется геном-регулятором в гистидиновом опероне:

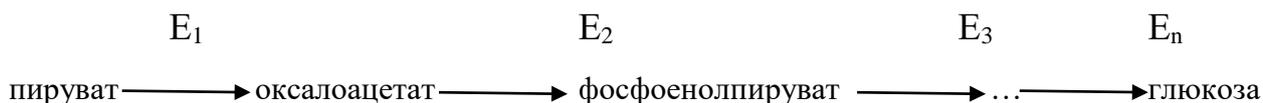
- А. Синтезируется в клетках с постоянной скоростью.
- Б. Для связывания с оператором требует затраты энергии.
- В. При образовании комплекса с гистидином приобретает способность связываться с оператором.
- Г. Имеет сродство к оператору.
- Д. Все перечисленное верно.

6. Выберите правильное окончание данного утверждения. Клетка на каждой стадии дифференцировки характеризуется специфическим набором белков, так как в ходе онтогенеза:

- А. Утрачивается часть неактивного хроматина.
- Б. Усиливается транскрипция некоторых участков за счет метилирования.
- В. Происходит включение одних участков хроматина и выключение других.
- Г. Ослабляется связь с гистонами в области неактивного хроматина.
- Д. Активно транскрибируются участки в области конденсированного хроматина.

7. Решите задачу. Кортизол – гормон коры адпочечников – легко проходит плазматическую и ядерную мембраны, и образуя комплекс с белком, влияет на генетический аппарат гепатоцитов.

А. Укажите как влияет гормон на процесс транскрипции, если известно, что под влиянием кортизола повышается скорость синтеза глюкозы из неуглеводных субстратов – аминокислот, пирувата и некоторых других соединений – следующим путем:



Б. Используя знания о регуляции активности генов у эукариотов, выберите и представьте в правильной последовательности события, обеспечивающие синтез E_2 :

а) до увеличения секреции кортизола;

б) после увеличения секреции кортизола:

1. Идет минимальный синтез E_2 ;
2. Идет индуцированный синтез E_2 ;
3. Комплекс кортизола с белком-рецептором поступает в ядро клетки;
4. Факторы транскрипции А, В, F, E, H связываются с РНК-полимеразой и ТАТА-связывающим белком, образуя единый комплекс на ДНК-матрице.
5. Комплекс кортизол-рецептор с помощью белок-белковых взаимодействий изменяет конформацию ТАТА-связывающего белка.
6. ТАТА-связывающий белок присоединяется к участку промотора ТАТА.
7. Комплекс кортизол-рецептор связывается с энхансером на молекуле ДНК.
8. Конформация ДНК в области гена E_2 становится более доступной для РНК-синтезирующего аппарата.
9. Заполните таблицу

Структурный компонент оперона	Функция
-------------------------------	---------

Структурные гены Оператор Промотор Ген-регулятор	
---	--

ТЕМА 14 – МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МУТАЦИИ И ИХ БИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОСЛЕДСТВИЯ

14.1. Разобрать материал следующих разделов темы:

- 1 **Спонтанные повреждения.** Ошибки репликации, депуринизация и дезаминирование. Репарация таких повреждений.
- 2 **Индукцируемые повреждения.** Индуцирующие факторы (УФ- и ионизирующее излучение, нитраты и нитриты, метилирующие агенты, интерколяторы). Специфические ферменты репарации
- 3 **Генетическая рекомбинация.** Полиморфизм белков

14.2. Для успешного изучения темы необходимо усвоить следующий материал:

1. Знать основные типы молекулярных мутаций и изменения в структуре белков в результате мутаций (таблица 24).

Таблица 24. Типы молекулярных мутаций

Виды мутаций		Изменение в структуре ДНК	Изменения структуры белка
ЗАМЕНА	Без изменения смысла кодона	Замена одного нуклеотида в кодоне	Белок не изменен
	С изменением смысла кодона		Происходит замена одной аминокислоты на другую
	С образованием терминирующего кодона		Синтез пептидной цепи прерывается на этом кодоне и образуется незавершенный белок

ВСТАВКА	Без сдвига рамки считывания	Вставка фрагмента ДНК из трех нуклеотидов или с числом нуклеотидов, кратным трем	Происходит удлинение полипептидной цепи на одну или несколько аминокислот
	Со сдвигом рамки считывания	Вставка одного или нескольких нуклеотидов не кратных трем	Синтезируется пептид со «случайной» последовательностью аминокислот, т.к. изменяется смысл всех кодонов, следующих за местом мутации.
ДЕЛЕЦИЯ	Без сдвига рамки считывания	Выпадение фрагмента ДНК из трех нуклеотидов или с числом нуклеотидов, кратных трем.	Происходит укорочение белка на одну или несколько аминокислот
	Со сдвигом рамки считывания	Выпадение одного или нескольких нуклеотидов не кратных трем	Синтезируется пептид со «случайной» последовательностью аминокислот, т.к. изменяется смысл всех кодов, следующих за местном мутации.

2. Запомнить, что:

- а) Мутации – это нерепарированные изменения первичной структуры ДНК.
- б) Основной вклад в изменчивость генетической программы вносят рекомбинации и мутации.

в) Мутации: 1) в половых клетках передаются по наследству и могут проявляться в фенотипе потомства как наследственная болезнь, связанная со структурными и функциональными изменениями белков; 2) в соматических клетках могут вызывать различные функциональные нарушения, а иногда трансформацию клеток и развитие опухолей.

3. Получить представление о механизмах усложнения генома в процессе филогенеза и о полиморфизме белков. Запомнить следующие положения:

1. Молекулярные мутации являются одной из причин эволюционной изменчивости организмов.
2. Независимые мутации в копиях генов создают их структурное разнообразие.
3. В филогенезе за счет удвоения генов, мутаций и рекомбинаций происходит усложнение генома, которое характеризуется увеличением количества и разнообразия генов, а, следовательно, и белков.
4. Аллельные варианты одного гена, занимающие в хромосомах гомологичные локусы, кодируют белки с близкой аминокислотной последовательностью и функциями.

16.3. Задания по теме «Регуляция экспрессии генов у про- и эукариот».

1. Используя данные таблицы 21, решить задачу: Дан фрагмент транскрибируемой нити ДНК



который кодирует участок полипептидной цепи со следующей последовательностью аминокислот:



Определить, какие изменения произойдут в данном белке при следующих мутациях:

- а) Замена Ψ_6 на Т
- б) Замена T_4 на Ц
- в) Замена T_4 на А

г) Вставка Ц между Г₁ и А₂

д) Выпадение А₂

Алгоритм решения задачи:

1. Записать последовательность нуклеотидов в мутантных ДНК (а-д).
2. Определить и записать последовательность нуклеотидов в мРНК, синтезируемых на мутантных ДНК.
3. Пользуясь таблицей биологического кода, определить и записать фрагменты полипептидной цепи, закодированной в мутантных мРНК.
4. Используя информацию, содержащуюся в графе III табл.18, сделать выводы о
а) возможных изменениях структуры мутантных белков и б) их функциональной активности, выбрав соответствующие буквы (ответ может быть неоднозначен):
 - А. Не изменится
 - Б. Может увеличиться
 - С. Может снизиться
 - Д. Может утратиться
2. Указать возможные причины возникновения мутаций:
 - 1 Ошибки репликации
 2. Повреждение ДНК ультрафиолетом
 3. Повреждение ДНК ионизирующей радиацией
 4. Повреждение ДНК химическими соединениям окружающей среды.
3. К каким биологическим последствиям могут привести вредные мутации в разных типах клеток:

<p>1. Предрасположенность к некоторым заболеваниям.</p> <p>2. Возникновение наследственных болезней</p> <p>3. Непереносимость некоторых лекарственных препаратов и пищевых веществ</p> <p>4. Трансформация клеток и развитие опухолей</p>	<p>А. Только в соматических клетках</p> <p>В. Только в половых клетках</p> <p>С. В тех и других</p> <p>Д. Ни в тех, ни в других</p>
---	---

ТЕМА 15 - ОСНОВЫ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ

15.1. Разобрать материал следующих разделов темы:

1. Молекулярная биология и ее методы как основа молекулярной биотехнологии.
2. Фундамент молекулярной биологии и области ее применения.
3. Технология рекомбинантных ДНК. Ферменты рестрикции. Векторы
4. Химический синтез нуклеиновых кислот. Определение нуклеотидной последовательности (секвенирование ДНК). Ферментативный и химический пути.
5. Полимеразная цепная реакция. ПЦР как инструмент в современной биотехнологии. Амплификация ДНК.
6. Гибридизация как высокочувствительный метод выявления специфических последовательностей нуклеотидов.

15.2. Для успешного изучения темы необходимо усвоить следующий материал:

1. Обратите внимание!

История возникновения и развития молекулярной биологии и ее методов как основы молекулярной биотехнологии

Молекулярная биология исторически появилась как раздел биохимии. В 1939 году У.Эстбюри впервые назвал себя «молекулярным биологом». В 1940 году он получил первую рентгенограмму ДНК. Датой рождения молекулярной биологии принято считать апрель 1953 году, когда в английском журнале «Nature» появилась статья Джеймса Д. Уотсона и Фрэнсиса Крика с предложением пространственной модели молекулы ДНК. Основанием для построения этой модели послужили работы по рентгеноструктурному анализу, в которых участвовали также Морис Х. Ф. Уилкинсон и Розалинда Франклин.

Это основополагающее открытие было подготовлено длительным этапом исследований генетики и биохимии вирусов и бактерий.

В 1928 году Фредерик Гриффит впервые показал, что экстракт убитых нагреванием болезнетворных бактерий может передавать признак патогенности неопасным бактериям. Исследование трансформации бактерий в дальнейшем привело к очистке болезнетворного агента, которым, вопреки ожиданиям, оказался не белок, а нуклеиновая кислота. Сама по себе нуклеиновая кислота не опасна, она лишь переносит гены, определяющие патогенность и другие свойства микроорганизма.

В 50-х годах XX века было показано, что у бактерий существует примитивный половой процесс, они способны обмениваться внехромосомной ДНК, плазмидами. Открытие плазмид, как и трансформации, легло в основу распространенной в молекулярной биологии плазмидной технологии.

Еще одним важным для методологии открытием стало обнаружение в начале XX века вирусов бактерий, бактериофагов. Фаги тоже могут переносить генетический материал из одной бактериальной клетки в другую. Заражение бактерий фагами приводит к изменению состава бактериальной РНК. Если без фагов состав РНК сходен с составом ДНК бактерии, то после заражения РНК становится больше похожа на ДНК бактериофага. Тем самым было установлено, что структура РНК определяется структурой ДНК. В свою очередь, скорость синтеза белка в клетках зависит от количества РНК-белковых комплексов. Так была сформулирована центральная догма молекулярной биологии: ДНК ↔ РНК → белок.

Дальнейшее развитие молекулярной биологии сопровождалось как развитием ее методологии, в частности, изобретением метода определения нуклеотидной последовательности ДНК (У. Гилберт и Ф. Сенгер, Нобелевская премия по химии 1980 г.), так и новыми открытиями в области исследований строения и функционирования генов. Эпоха молекулярной генетики (составной части молекулярной биологии) начинается с появившихся в 1940—1950-х гг.

работ, доказавших ведущую роль ДНК в передаче наследственной информации. Важнейшими шагами стали расшифровка структуры ДНК, триплетного кода, описание механизмов биосинтеза белка, обнаружение рестриктаз и секвенирование ДНК.

К началу XXI века были получены данные о первичной структуре всей ДНК человека и целого ряда других организмов, наиболее важных для медицины, сельского хозяйства и научных исследований, что привело к возникновению нескольких новых направлений в биологии: геномики, биоинформатики и др.

Основные этапы становления и развития молекулярной биологии приведены ниже.

В 1866 г. чешский священник Г. Мендель опубликовал работы по наследованию окраски цветков садового гороха, где им была высказана мысль, что за наследование физических свойств организма отвечают некие «элементы», которые мы сегодня называем генами. Хотя это открытие в то время не могло иметь к молекулам ДНК какое-либо отношение (поскольку, что такое ДНК, да и что такое ген просто не было известно), оно заложило определенные основы для последующего изучения наследственности и, соответственно, генов. Тогда их природа была просто загадочна. Спустя 3 года, в 1869 г. швейцарским врачом Ф. Мишером в ядрах лейкоцитов человека была впервые обнаружена названная им «нуклеином» особая субстанция (уже затем переименованная Р. Альтманом в нуклеиновую и позже в дезоксирибонуклеиновую кислоту), функция которой была также абсолютно не ясна. Вопросы хранения и передачи наследственной информации всегда крайне интересовали ученых и уже с самого начала века двадцатого стали проводиться интенсивные исследования, направленные на выяснение их закономерностей. В этой связи нельзя не упомянуть американского ученого Т. Моргана, который опубликовал результаты своих первых экспериментов в области генетики в 1909 г. и внес огромный вклад в развитие этой науки, что было отмечено Нобелевской премией 1933 г., присужденной ему за открытие функций

хромосом как носителей наследственности. В 1935 году А.Н. Белозерский выделил ДНК из растений. В 1940 году У.Эстбюри получил первую рентгенограмму ДНК.

На протяжении долгих лет осуществлялись многочисленные попытки выделить то самое вещество клетки, те самые “элементы”, в которых заложена генетическая информация. На роль таких молекул поочередно выдвигались различные биополимеры. Весьма долгое время предпочтение отдавалось белкам, большое разнообразие которых обеспечивалось участием в их формировании до 20 аминокислот. Что касается ДНК, то существовало мнение о невозможности кодирования ею всего существующего биоразнообразия только из-за того, что в состав ДНК входит, как было показано в 20-х гг. XX столетия биохимиком П.Левеном, всего-навсего 4 типа структурных единиц, названных им нуклеотидами. Более того, долгое время считалось, что нуклеиновые кислоты представляют собой монотонные полимерные молекулы с однообразным строгим чередованием входящих в их состав мономеров нуклеотидов.

Прошло достаточно много времени, пока, благодаря элегантным экспериментам О.Эвери и его коллег, выполненным в 1943 г., удалось доказать, что именно ДНК – этот сравнительно просто организованный биополимер – и есть вещество наследственности. Эксперимент Освальдом Эвери, Колин Маклеод и Маклин Маккарти (Oswald Avery, Colin MacLeod, Maclyn McCarty), произведенный в 1943 году, доказал что ДНК является веществом, вызвавшим трансформацию клеток бактерий. Эксперимент Эвери, Маклеод и Маккарти стал кульминацией исследований, проводившихся в Рокфеллеровском институте медицинских исследований (Rockefeller Institute for Medical Research) в 1930-х — 1940-х годах, начатых экспериментом Гриффитса в 1928 году. В эксперименте Гриффитса убитые *Streptococcus pneumoniae* вирулентного штамма III-S, введенные с живыми невирулентными пневмококками штамма II-R, вызывали инфекцию типа III-S. В ходе эксперимента пневмококки,

колонии которых имели гладкий вид, были убиты нагреванием, и был экстрагирован компонент, растворимый в растворе соли. Было произведено осаждение белков хлороформом. Полисахаридные капсулы, обуславливающие антигенные свойства бактерий, были гидролизованы специфичным ферментом. Для подтверждения полного гидролиза капсул, была сделана процедура иммунопреципитации специфическими антителами. Из полученного продукта после обработки спиртом и при последующем фракционировании были выделены тяжи. Химический анализ показал, что соотношения атомов углерода, водорода, азота и фосфора в полученных тяжах соответствует соотношению этих же атомов в молекуле ДНК. Для подтверждения того, что действующим началом трансформации является именно ДНК, но не РНК, белки или другие компоненты клетки, Эвери с сотрудниками обработали смесь трипсином, химотрипсином, рибонуклеазой, но эта обработка никак не влияла на трансформирующие свойства. Лишь обработка ДНКазой приводила к разрушению трансформирующего начала.

В опытах с бактериофагами, будущими Нобелевскими лауреатами 1969 года М.Дельбрюком, А.Херши и С.Лурия в середине 40-х гг. еще более убедительно было показано участие ДНК в передаче наследственной информации. Эксперимент проводился на бактериофаге T2, структура которого к тому времени была выяснена с помощью электронной микроскопии. Оказалось, что бактериофаг состоит из белковой оболочки, внутри которой находится ДНК. Эксперимент был спланирован таким образом, чтобы выяснить, что же - белок или ДНК - является носителем наследственной информации.

Херши и Чейз выращивали две группы бактерий: одну в среде, содержащей радиоактивный фосфор-32 в составе фосфат-иона, другую — в среде с радиоактивной серой-35 в составе сульфат-иона. Бактериофаги, добавленные в среду с бактериями и размножившиеся в них, поглощали эти радиоактивные изотопы, которые служили маркерами, при построении своей

ДНК и белков. Фосфор содержится в ДНК, но отсутствует в белках, а сера, наоборот, содержится в белках (точнее в двух аминокислотах: цистеин и метионин), но её нет в ДНК. Таким образом, одни бактериофаги содержали меченые серой белки, а другие — меченую фосфором ДНК.

После выделения радиоактивно-меченых бактериофагов их добавляли к культуре свежих (не содержащих изотопов) бактерий и позволяли бактериофагам инфицировать эти бактерии. После этого среду с бактериями подвергали энергичному встряхиванию в специальном смесителе (было показано, что при этом оболочки фага отделяются от поверхности бактериальных клеток), а затем инфицированных бактерий отделяли от среды. Когда в первом опыте к бактериям добавлялись меченые фосфором-32 бактериофаги, оказалось, что радиоактивная метка находилась в бактериальных клетках. Когда же во втором опыте к бактериям добавлялись бактериофаги, меченые серой-35, то метка была обнаружена во фракции среды с белковыми оболочками, но её не было в бактериальных клетках. Это подтвердило, что материалом, которым инфицировались бактерии, является ДНК. Поскольку внутри инфицированных бактерий формируются полные вирусные частицы, содержащие белки вируса, данный опыт был признан одним из решающих доказательств того факта, что генетическая информация (информация о структуре белков) содержится в ДНК.

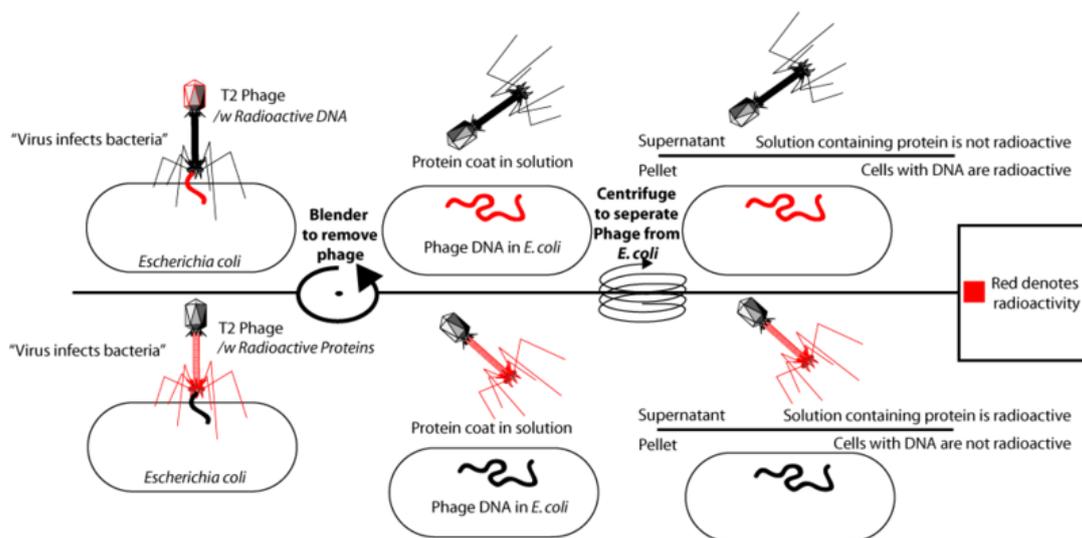


Рис. 17. Схема эксперимента Херши

Одним из самых важных открытий прошедшего столетия в биологии, за которое в 1962 г. была присуждена Нобелевская премия, можно считать установление весной 1953 г. Дж. Уотсоном и Ф. Криком структуры ДНК в виде известной сегодня, наверное, чуть ли не каждому двойной спирали. При формировании двойной спирали действует принцип комплементарности, согласно которому аденинам одной цепи соответствуют тимины другой, а гуанинам одной – цитозины другой и наоборот. Эти соотношения известны как правила Чаргаффа, который в 1950 г. показал, что ДНК включает равные количества определенных азотистых оснований и вывел для двуцепочечной ДНК следующие закономерности: $A = T$, $G = C$; $A+G=C+T$; $A + C = G + T$.

Параллельно с анализом структуры ДНК изучались особенности ее ферментативного синтеза, приведшие в 1958 г. к обнаружению, в том числе, фермента ДНК-полимеразы. В 1959 г. С. Очоа и его ученику А. Корнбергу были присуждены Нобелевские премии «за открытие механизмов биологического синтеза рибонуклеиновой и дезоксирибонуклеиновой кислот». Хотя в настоящее время в молекулярной биологии более широкое применение находят несколько иные ДНК полимеразы с улучшенными свойствами (либо позже обнаруженные в природе, либо слегка измененные или даже сконструированные исследователями), сами принципы ферментативного построения новых молекул ДНК *in vitro* остались неизменными.

С изучением ферментативного биосинтеза ДНК тесно переплетались работы по исследованию процесса репликации. Элегантными экспериментами Ф. Сталя и М. Мезелсона в 1958 г. с помощью аналитического ультрацентрифугирования в градиенте плотности хлористого цезия молекул ДНК, меченных тяжелыми изотопами углерода и азота, был доказан полуконсервативный характер репликации «двойной спирали».

После того, как стала известна структура ДНК, весьма важно было понять, как именно в этой молекуле записывается наследственная информация. Значительную роль в решении данного вопроса сыграл наш бывший

соотечественник физик Г.А.Гамов, который проанализировал все известные к тому времени аминокислотные последовательности белков и в 1957 г. пришел к выводу, что код должен быть триплетным. Немало ученых разных стран (среди которых были внесшие наибольший вклад англичанин Ф.Крик, а также американец индийского происхождения Х.Г.Корана) занялись впоследствии расшифровкой генетического кода. С помощью многочисленных экспериментов удалось подтвердить, что код действительно триплетен и установить какие тройки нуклеотидов что кодируют. В 1968 г. Х.Г.Коране вместе с еще двумя учеными была присуждена Нобелевская премия по физиологии и медицине «за расшифровку генетического кода и выяснение его роли в синтезе белков».

Моделируя условия примитивной Земли, современными химиками было показано, что благодаря высокой реакционной способности метилурацила может образовываться большое число разнообразных его производных, в чем они усматривают вовлечение через них молекул ДНК и белков в процессы примитивного размножения. Возможно, что среди первых полимерных молекул на нашей планете были просто устроенные полирибонуклеотиды, поскольку известно, что урацил входит в состав именно рибонуклеиновых кислот. Таким образом, на заключительном этапе пребиотического существования Земли и, может быть, в самом начале биотической жизни господствовал так называемый РНКовый мир. Дополнительным доказательством этому служат обнаруженные у некоторых молекул РНК каталитические свойства, благодаря чему они получили название рибозимов. Это открытие было также отмечено Нобелевской премией, присужденной американскому ученому Т.Чеху в 1986 г. Считается, что некоторые сохранившиеся у молекул РНК каталитические свойства – это некий атавизм – и более подходящие для этой цели, возникшие позднее белковые молекулы смогли у них эти свойства перенять. С появлением в начале 70-х гг. фосфотриэфирного метода, скорость синтеза заметно возросла,

что постепенно превратило процесс получения олигонуклеотидов в довольно рядовое событие.

Произошедшее изменение химии синтеза вместе с сопровождавшим его процессом автоматизации и использованием полимерных носителей в виде твердой фазы (твердофазный синтез) довершили начатое дело и привели к еще более широкому вовлечению олигонуклеотидов в молекулярно-биологические эксперименты.

Огромный вклад в дело химического синтеза олигонуклеотидных блоков с заданной последовательностью внес Х.Г.Корана, которому вместе с коллегами пришлось преодолеть многочисленные трудности. Так, 60-е и начало 70-х годов двадцатого столетия были периодом фосфодиэфирного синтеза, который позволил сдвинуть весь этот пласт, но оказался непригоден для широкого использования из-за своей крайней медлительности, поскольку средняя скорость наращивания олигонуклеотидной цепи этим методом составляла одно звено в месяц.

Продолжавшееся на протяжении 70-х годов совершенствование химии синтеза олигонуклеотидов завершилось в начале 80-х революционным переходом к фосфорамидитному методу. Благодаря использованию данных высокореакционных соединений трехвалентного фосфора, скорость синтеза и его эффективность возросли настолько, что один цикл синтеза, занимавший прежде целый месяц, сократился до нескольких минут на звено, а конечный выход олигонуклеотидов приблизился к количественному.

Расшифровка генетического кода дала молекулярным биологам ключ к переводу белковых текстов в последовательности РНК, ДНК и наоборот, но последнее могло осуществляться только теоретически, поскольку самих текстов ДНК еще не было. Главным препятствием для определения нуклеотидных последовательностей молекул ДНК был их огромный размер и невозможность получения небольших дискретных фрагментов ДНК, пригодных для секвенирования. Значительно меньший размер РНК и наличие

определенных классов этих молекул, а также выявление специфических рибонуклеаз, расщепляющих их в строго определенных местах, обусловили успехи в определении нуклеотидных последовательностей именно этих нуклеиновых кислот. Так, в 1965 г. была расшифрована первичная структура аланиновой тРНК, за что в 1968 г. Р.Холли совместно с М.Ниренбергом и тем же Х.Г.Кораной и получили Нобелевскую премию.

Важность же определения нуклеотидных последовательностей ДНК тем более не вызывала никаких сомнений. Однако отсутствие производительных методов секвенирования ДНК делало решение этой проблемы малореальным. Стремительное развитие молекулярной биологии привело во второй половине семидесятых годов к долгожданной возможности определения нуклеотидных последовательностей достаточно длинных фрагментов ДНК. Этим событиям предшествовал целый ряд важных открытий.

Очень большое значение для всей молекулярной биологии имело обнаружение ферментов рестрикции, позволяющих расщеплять молекулы ДНК в строго определенных для каждого фермента местах с образованием так называемых «липких» или «тупых» концов. Важность этого открытия была подчеркнута присужденной в 1978 г. Нобелевской премией сразу трем ученым: В.Арберу, Д.Натансу и Г.Смиту.

За исследования метилтрансфераз, являющихся неотъемлемой частью системы рестрикции-модификации, Нобелевская премия была присуждена Р.Робертсу, удостоенному ею вместе с двумя другими учеными в 1993 г. В настоящее время именно под его руководством поддерживается очень важная для молекулярных биологов база данных по рестриционным эндонуклеазам и метилазам.

Обнаружение в 1970 г. фермента ревертазы или обратной транскриптазы, осуществляющей синтез молекулы ДНК по матрице РНК при репликации у некоторых вирусов также вылилось для Д.Балтимора и Г.Темина в Нобелевскую премию 1975 г.

Обнаруженные в те же годы ферменты ДНК-лигазы позволили «сшивать» расщепленные рестрикционными эндонуклеазами фрагменты ДНК с векторными последовательностями бактериальных плазмид или бактериофагов и получать таким образом рекомбинантные клоны на основе клеток бактерии кишечной палочки *Escherichia coli*, являющейся «главным» микроорганизмом в арсенале молекулярного биолога.

Важность получения рекомбинантных молекул ДНК, способных к репликации в чужеродном организме, была по достоинству оценена Нобелевским комитетом, присудившим в 1980 г. американскому ученому П.Бергу Нобелевскую премию, что абсолютно не может вызывать каких-либо сомнений, поскольку этот подход оказал грандиозное воздействие на все дальнейшее течение молекулярной биологии.

Таким образом, целая череда знаменательных событий в молекулярной биологии привела к долгожданной возможности определения последовательности нуклеотидов в молекулах ДНК. Получение с помощью предложенных методов секвенирования ДНК совершенно новых сведений в виде генетических текстов, ранее недоступных, оказало настолько значительное влияние на развитие не только самой молекулярной биологии, но и общей биологии и других смежных областей знаний, что заставило по-новому взглянуть на планирование и проведение экспериментов, на адекватность получаемых результатов поставленным задачам, вызвала к жизни разработку соответствующего компьютерного обеспечения и пр. За разработку в 1977 г. методов секвенирования ДНК путем химической дегградации и ферментативного построения, соответственно, была присуждена в 1980 г. Нобелевская премия по химии У.Гилберту и Ф.Сэнгеру.

В основе метода секвенирования ДНК путем химической дегградации лежит ограниченное расщепление меченного фрагмента ДНК под действием специфических реагентов. Непременным условием проведения секвенирования этим методом является наличие фрагмента ДНК, меченного только по одному

концу. Секвенирование ДНК по Сэнгеру, называемое также методом секвенирования путем терминации цепи, основано на принципе ферментативного построения новой комплементарной цепи ДНК по существующей одноцепочечной матрице при происходящем в разных местах цепи ДНК ингибировании ее дальнейшего роста. Оба эти метода секвенирования, ставшие уже классическими, кардинально различаясь в своих подходах при подготовке меченных фрагментов ДНК, требуют разделения продуктов реакции по размеру с помощью высоковольтного электрофореза в полиакриламидном геле высокого разрешения, способного в достаточно широком диапазоне разделять молекулы ДНК, отличающиеся между собой по длине всего на один нуклеотид. Все составляющие процесса секвенирования ДНК как тем, так и другим методом, за годы, прошедшие с момента их разработки, подверглись сильной модификации и производительность сегодняшнего секвенирования просто поражает, а главным прорывом было, конечно же, применение автоматических секвенаторов ДНК, рассчитанных на детекцию флуоресцентной метки и прямое занесение получаемых результатов в компьютер.

Определяемые в ходе секвенирования нуклеотидные последовательности в виде так называемых ДНКовых текстов, повлекли за собой разработку специализированных компьютерных программ по их анализу, поскольку обращение с такими большими массивами данных без помощи компьютеров стало просто невозможным. Потребовались пакеты прикладных программ, позволяющих проводить целый ряд необходимых операций по всевозможному анализу секвенированных фрагментов ДНК, начиная от занесения последовательности нуклеотидов в компьютер до выявления особенностей кодируемых ими белков. Другим аспектом исследования секвенированных молекул ДНК стали вопросы хранения полученных данных и обеспечение широкого доступа ученых к уже известным нуклеотидным последовательностям. В результате были образованы специализированные базы

данных, ставящие главной целью сбор и хранение нуклеотидных последовательностей. Сначала – GenBank в США, потом – EMBL в Европе, а затем DDBJ – в Японии. И поскольку эти базы данных сейчас регулярно обмениваются между собой поступающей к ним информацией, то независимо от места занесения любая последовательность нуклеотидов какого-либо фрагмента ДНК становится доступной через любой из этих банков.

Необходимость хранения очень больших массивов данных, увеличивающихся с огромной быстротой, а также насущная потребность в их постоянном просмотре и анализе, привели к тому, что именно молекулярные биологи в числе первых стали эксплуатировать возможности, предоставляемые интернетом. Так, в настоящее время, кроме вышеупомянутых трех основных первичных банков по нуклеотидным последовательностям существует еще множество различных баз данных, преследующих какую-либо конкретную цель, включая тематические подборки журналов по так называемым наукам о Жизни с полнотекстовым доступом ко многим статьям, аналогов которых практически не имеется в других дисциплинах. Причем весьма важно то, что почти все эти базы данных свободны для просмотра всеми желающими.

В годы бурного развития методов секвенирования ДНК в 1985 г. произошло еще одно чрезвычайно важное событие, за которое в 1993 г. К.Мюллис получил Нобелевскую премию по химии. Им был разработан метод амплификации фрагментов ДНК с помощью, так называемой полимеразной цепной реакции или сокращенно ПЦР.

Нобелевскую премию 1993 г. по химии вместе К.Мюллисом получил и М.Смит за разработку метода сайт-направленного мутагенеза. Сайт-направленный мутагенез позволил целенаправленно изменять различные гены и через это оказал самое серьезное влияние на современную молекулярную биологию. Так, например, несмотря на то, что этот метод не имеет прямого отношения к определению последовательностей нуклеотидов в ДНК, его появление способствовало, в том числе, и заметному прогрессу в этой области

путем создания новых улучшенных векторов и ферментов (ДНК полимераз). Благодаря появлению этого метода произошел кардинальный пересмотр стратегий мутагенеза, поскольку ранее исследователям приходилось тратить уйму времени на поиск среди мутагенизированных химическими агентами рекомбинантных клонов тех, что содержали именно нужный вариант.

Американский химик, профессор медицины Медицинской школы Стэндфордского университета (США) Роджер Корнберг "сфотографировал" процесс копирования генетической информации в клетке, за что удостоен Нобелевской премии по химии 2006 года. В конце 1980-х годов Роджер Корнберг решил воспроизвести систему транскрипции в пробирке и смоделировать ее пространственную структуру. В качестве объекта исследований он выбрал дрожжи. Однако система из РНК-полимеразы и факторов транскрипции синтезировала информационную РНК, но не реагировала на добавление веществ, активирующих определенные гены. Оказалось, что в системе не хватает еще одного важного элемента – комплекса из нескольких белковых молекул, который Корнберг назвал медиатором. Теперь, когда все компоненты системы были собраны воедино, оставалось "всего лишь" воссоздать пространственную структуру системы транскрипции. На это у исследовательской группы Корнберга ушло десять лет. Роджеру Корнбергу удалось заставить бактерии синтезировать белки, участвующие в транскрипции. После процедур выделения, очистки и наработки больших количеств белков ученым удалось самое сложное – вырастить из них плоские белковые кристаллы, а затем получить электронные и рентгеновские дифракционные изображения кристаллических структур. На основании снимков с помощью компьютерной программы ученые рассчитали пространственное расположение атомов в молекулах и смоделировали детальную пространственную картину синтеза РНК. Прорыв произошел в 2001 году. Тогда в журнале "Science" была опубликована пространственная структура РНК-полимеразы из дрожжей, а также структура ее комплекса с ДНК

и продуктом реакции – информационной РНК. Дальнейшие работы Корнберга были посвящены расшифровке структуры "копировального устройства" на различных стадиях процесса с "участием" пяти факторов транскрипции. В результате получилась целостная динамическая картина копирования генетической информации. Теперь осталось только получить кристаллы медиатора и дополнить структуру этим необходимым компонентом. Только тогда сверхзадачу – получить фотографию "копировального устройства клетки" можно будет считать выполненной. Интересно, что отец Роджера Артур Корнберг также был удостоен Нобелевской премии (по физиологии и медицине) в 1959 году за открытие механизма передачи генетической информации от материнской клетки к дочерней.

В 2006 году за открытие РНК-интерференции — эффекта гашения активности определенных генов Нобелевской премии по физиологии и медицине были удостоены Эндрю Файер, Крейг Мело. РНК-интерференция (англ. RNA interference, RNAi) — это опосредованный малыми молекулами РНК процесс подавления экспрессии гена на стадии транскрипции, трансляции, деаденилирования или деградации мРНК. В системе РНК-интерференции принимают участие два типа малых молекул РНК — микроРНК и малые интерферирующие РНК (small interfering RNA, siRNA). siRNA связываются со специфическими последовательностями мРНК (обычно в кодирующей области), приводя к деградации мРНК. МикроРНК также связываются со специфическими последовательностями мРНК (обычно в 3' нетранслируемой области), приводя к ингибированию трансляции и/или деаденилированию (удалению поли(А)-хвоста) мРНК. Система РНК-интерференции играет важную роль в защите клеток от паразитирующих генов — транспозонов и вирусов, а также в регуляции развития, дифференцировки и экспрессии генов организма.

Нобелевской премии по физиологии и медицине за 2009 год удостоились трое американских ученых - Элизабет Блэкбёрн (Elizabeth H. Blackburn), Кэрол

Грейдер (Carol W. Greider) и Джек Шостак (Jack W. Szostak). Согласно формулировке Нобелевского комитета, их заслуга состоит в открытии того, "как теломеры и фермент теломеразы защищают хромосомы".

Лауреатом Нобелевской премии по химии 2009 года стали Ада Йонат, Венки Рамакришнан, Томас Стайц. Премия присуждена за исследования структуры и функций рибосомы - сложного комплекса молекул, который обеспечивает трансляцию генетической информации из молекул ДНК. На основе открытий, сделанных нобелевским лауреатом, создаются новые антибиотики, к которым бактерии не могут привыкнуть, генно-инженерный инсулин, а в будущем - и новые методы лечения некоторых видов рака.

Современные теоретические и практические задачи молекулярной биологии

К современным теоретическим и практическим задачам молекулярной биологии можно отнести расшифровку структуры геномов, создание банков генов, геномную дактилоскопию, изучение молекулярных основ эволюции, адаптации, биоразнообразия, канцерогенеза и др.

С недавних пор в нашей стране действует закон о геномной регистрации. С помощью специального исследования ДНК получают картинку, напоминающую штрихкод. По количеству и расположению полосок можно однозначно (кроме идентичных близнецов) идентифицировать обладателя данной ДНК-информации. Во многих странах такая регистрация применяется давно, а в России все только начинается. Однако уже ясно: ДНК-идентификация неоценима в криминалистике, применима в профессиях, связанных с риском.

Всем известен международный научно-исследовательский ***проект по расшифровке генома человека*** (The Human Genome Project, HGP), главной целью которого было определить последовательность нуклеотидов, которые составляют ДНК и идентифицировать 20,000-25,000 генов в человеческом геноме. Проект начался в 1990 году, под руководством Джеймса Уотсона под

эгидой Национальной организации здравоохранения США (англ.). В 2000 году был выпущен рабочий черновик структуры генома, полный геном — в 2003, однако и сегодня дополнительный анализ некоторых участков ещё не закончен. Частной компанией Celera Genomics (англ.) был запущен аналогичный параллельный проект, завершённый несколько ранее международного. Основной объём секвенирования был выполнен в университетах и исследовательских центрах США, Канады и Великобритании. Кроме очевидной фундаментальной значимости, определение структуры человеческих генов является важным шагом для разработки новых медикаментов и развития других аспектов здравоохранения.

Хотя целью проекта по расшифровке генома человека является понимание строения генома человеческого вида, проект также фокусировался и на нескольких других организмах, среди которых бактерии, в частности, *Escherichia coli*, насекомые, такие как мушка дрозофила, и млекопитающие, например, мышь.

Изначально планировалось определение последовательности более трёх миллиардов нуклеотидов, содержащихся в гаплоидном человеческом геноме. Затем несколько групп объявили о попытке расширить задачу до секвенирования диплоидного генома человека, среди них международный проект MapMap (англ.), Applied Biosystems, Perlegen, Illumina, JCVI, Personal Genome Project и Roche-454.

Геном любого отдельно взятого организма (исключая однояйцевых близнецов и клонированных животных) уникален, поэтому определение последовательности человеческого генома в принципе должно включать в себя и секвенирование многочисленных вариаций каждого гена.

Существуют многочисленные определения «полной последовательности человеческого генома». Согласно некоторым из них, геном уже полностью секвенирован, а согласно другим, этого ещё предстоит добиться. В популярной прессе было множество статей, сообщающих о «завершении» генома. Согласно

определению, которое использует Международный проект по расшифровке генома человека, геном расшифрован полностью. График истории расшифровки проекта показывает, что большая часть человеческого генома была закончена в конце 2003 года. Однако ещё остаётся несколько регионов, которые считаются незаконченными:

Прежде всего, центральные регионы каждой хромосомы, известные как центромеры, которые содержат большое количество повторяющихся последовательностей ДНК; их сложно секвенировать при помощи современных технологий. Центромеры имеют длину миллионы (возможно десятки миллионов) пар нуклеотидов, и, по большому счёту, остаются несеквенированными.

Во-вторых, концы хромосом, называемые теломерами, также состоящие из повторяющихся последовательностей, и по этой причине в большинстве из 46 хромосом их расшифровка не завершена. Точно не известно, какая часть последовательности остаётся не расшифрованной до теломер, но, как и с центромерами, существующие технологические ограничения препятствуют их секвенированию.

В-третьих, в геноме каждого индивидуума есть несколько локусов, которые содержат членов мультигенных семейств, которые также сложно расшифровать с помощью основного на сегодняшний день метода фрагментирования ДНК. В частности, эти семейства кодируют белки, важные для иммунной системы.

Кроме перечисленных регионов, остаётся ещё несколько брешей, разбросанных по всему геному, некоторые из которых довольно крупные, но есть надежда, что все они будут закрыты в ближайшие годы.

Большая часть остающейся ДНК сильно повторяющаяся, и маловероятно, что она содержит гены, однако это останется неизвестным, пока они не будут полностью секвенированы. Понимание функций всех генов и их регуляции далека от завершения. Роль мусорной ДНК, эволюция генома, различия между

индивидуумами, и многие другие вопросы по-прежнему являются предметом интенсивных исследований в лабораториях всего мира.

Последовательность человеческой ДНК сохраняется в базах данных, доступных любому пользователю через Интернет. Национальный центр биотехнологической информации США (и его партнёрские организации в Европе и Японии) хранят геномные последовательности в базе данных известной как GenBank, вместе с последовательностями известных и гипотетических генов и белков. Другие организации, к примеру Калифорнийский Университет в Санта-Круз и Ensembl поддерживают дополнительные данные и аннотации, а также мощные инструменты для визуализации и поиска в этих базах. Были разработаны компьютерные программы для анализа данных, потому что сами данные без таких программ интерпретировать практически невозможно.

Процесс идентификации границ генов и других мотивов в необработанных последовательностях ДНК называется аннотацией генома и относится к области биоинформатики. Эту работу при помощи компьютеров выполняют люди, но они делают её медленно и, чтобы удовлетворять требованиями высокой пропускной способности проектов секвенирования геномов, здесь также всё шире используют специальные компьютерные программы. Лучшие на сегодняшний день технологии аннотации используют статистические модели, основанные на параллелях между последовательностями ДНК и человеческим языком, пользуясь такими концепциями информатики как формальные грамматики.

Важно исследовать этические, правовые и социальные последствия расшифровки генома и найти наиболее подходящие решения до того, как они станут почвой для разногласий и политических проблем. Все люди имеют в той или иной степени уникальные геномные последовательности. Поэтому данные, опубликованные проектом «Геном человека», не содержат точной последовательности геномов каждого отдельного человека. Это

комбинированный геном небольшого количества анонимных доноров. Полученная геномная последовательность является основой для будущей работы по идентификации разницы между индивидуумами. Основные усилия здесь сосредоточены на выявлении однонуклеотидного полиморфизма.

Почти все цели, которые ставил перед собой проект, были достигнуты быстрее, чем предполагалось. Проект по расшифровке генома человека был закончен на два года раньше, чем планировалось. Проект поставил разумную, достижимую цель секвенирования 95% ДНК. Исследователи не только достигли её, но и превзошли собственные предсказания, и смогли секвенировать 99,99% человеческой ДНК. Проект не только превзошёл все цели и выработанные ранее стандарты, но и продолжает улучшать уже достигнутые результаты.

Эти исследования выполняли следующим образом. Геном был разбит на небольшие участки, примерно по 150 000 пар нуклеотидов в длину. Эти куски затем встраивали в вектор, известный как Искусственная бактериальная хромосома или ВАС. Эти векторы созданы из бактериальных хромосом, измененных методами генной инженерии. Векторы, содержащие гены, затем можно вставлять в бактерии, где они копируются бактериальными механизмами репликации. Каждый из кусочков генома потом секвенировали отдельно методом «фрагментирования», и затем все полученные последовательности собирали воедино уже в виде компьютерного текста. Размеры полученных больших кусков ДНК, собираемых для воссоздания структуры целой хромосомы, составляли около 150 000 пар нуклеотидов. Такая система известна под именем «иерархического метода фрагментирования», потому что вначале геном разбивается на куски разного размера, положение которых в хромосоме должно быть заранее известно.

Работа над интерпретацией данных генома находится всё ещё в своей начальной стадии. Ожидается что детальное знание человеческого генома откроет новые пути к успехам в медицине и биотехнологии. Ясные

практические результаты проекта появились ещё до завершения работы. Несколько компаний, например, Myriad Genetics, начали предлагать простые способы проведения генетических тестов, которые могут показать предрасположенность к различным заболеваниям, включая рак груди, нарушения свёртываемости крови, кистозный фиброз, заболевания печени и многим другим. Также ожидается, что информация о геноме человека поможет поиску причин возникновения рака, болезни Альцгеймера и другим областям клинического значения и, вероятно, в будущем может привести к значительным успехам в их лечении.

Также ожидается множество полезных для биологов результатов. Например, исследователь, изучающий определённую форму рака может сузить свой поиск до одного гена. Посетив базу данных человеческого генома в сети, этот исследователь может проверить что другие учёные написали об этом гене включая (потенциально) трёхмерную структуру его производного белка, его функции, его эволюционную связь с другими человеческими генами или с генами в мышцах или дрожжах, или дрозофиле, возможные пагубные мутации, взаимосвязь с другими генами, тканями тела в которых ген активируется, заболеваниями, связанными с этим геном или другие данные.

Более того, глубокое понимание процесса заболевания на уровне молекулярной биологии может предложить новые терапевтические процедуры. Учитывая установленную огромную роль ДНК в молекулярной биологии и её центральную роль в определении фундаментальных принципов работы клеточных процессов, вероятно, что расширение знаний в данной области будет способствовать успехам медицины в различных областях клинического значения, которые без них были бы невозможны.

Анализ сходства в последовательностях ДНК различных организмов также открывает новые пути в исследовании теории эволюции. Во многих случаях вопросы эволюции теперь можно ставить в терминах молекулярной биологии. И в самом деле, многие важнейшие вехи в истории эволюции

(появление рибосомы и органелл, развитие эмбриона, иммунной системы позвоночных) можно проследить на молекулярном уровне. Ожидается что этот проект прольёт свет на многие вопросы о сходстве и различиях между людьми и нашими ближайшими сородичами (приматами, а на деле и всеми млекопитающими).

Проект определения разнообразия человеческого генома (HGDP), отдельное исследование, нацеленно на картирование участков ДНК, которые различаются между этническими группами. В будущем HGDP, вероятно, сможет получить новые данные в области контроля заболеваний, развития человека и антропологии. HGDP может открыть секреты уязвимости этнических групп к отдельным заболеваниям и подсказать новые стратегии для их преодоления. Он может также показать, как человеческие популяции адаптировались к этим заболеваниям.

2. Повторить и разобрать следующие вопросы:

1. Молекулярная биология как новое научное направление, её становление и основные этапы развития.
2. Новые научные направления.
3. Методы молекулярной биологии.

17.3. Задания по теме «Основы молекулярной биотехнологии».

1. Составьте схему взаимосвязи молекулярной биологии как науки с другими науками.

2. Продолжите заполнение таблицы «Основополагающие открытия биологии»

Год	Описание открытия
1866	Г.Мендель опубликовал работы по наследованию окраски цветков садового гороха, где им была высказана мысль, что за наследование физических свойств организма отвечают некие «элементы»
1869	Ф.Мишер впервые выделил ДНК из лейкоцитов и молок

	лосося
1909 - 1933	Т.Морган выполнял исследования по генетики и открыл функции хромосом как носителей информации (Нобелевская премия)
1928	Ф.Гриффит показал, что экстракт убитых нагреванием болезнетворных бактерий может передавать признак патогенности
20-е годы XX	Биохимик П.Левен идентифицировал 4 типа структурных единиц ДНК, названных им нуклеотидами
1935	А.Н.Белозерский выделил ДНК из растений
1940	У. Эстрбюри получил первую рентгенограмму ДНК
1944-1944	О.Т. Эвери установил, что носителем информации является ДНК, а не белок (Нобелевская премия)
середина 40-х	А.Херши было показано участие ДНК в передаче наследственной информации на бактериофаге T2.

ТЕМА 16 – БАЗЫ ДАННЫХ И СЕРВЕРОВ ПО МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ И БИОХИМИИ

Национальный центр биотехнологической информации (National Center for Biotechnology Information)

NCBI организован в 1988 как отделение National Library of Medicine (NLM) в National Institutes of Health (NIH). В настоящее время это крупнейшая биологическая база данных (молекулярная биология, биохимия и генетика). NCBI имеет мощные системы обработки и представления этих данных. По адресу (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Sitemap/>) имеется очень толковое описание ресурсов сайта. Ниже представлено описание некоторых ресурсов:

GenBank

База данных нуклеотидных последовательностей из более чем 70,000 организмов (для кодирующих последовательностей приведена трансляция). GenBank-участник (вместе с EMBL и DDBJ) консорциума баз данных (базы данных обмениваются данными ежедневно и потому эквивалентны; описания и номера всех последовательностей одинаковы).

Доступ (получение последовательностей) через Entrez (поиск по названию, номеру, организму, автору и т.п.). Поиск по подобию осуществляется с помощью BLAST. Можно получить весь GenBank.

Для представления последовательностей в GenBank предложено два инструмента (перед отправкой полезно провести поиск векторных последовательностей с помощью VecScreen - инструмента, позволяющего идентифицировать в предложенной последовательности компоненты векторов, линкеров или адаптеров. Разработан для предотвращения загрязнения публичных баз данных векторами и т.п.):

1. BankIt – www.ncbi.nlm.nih.gov/submit/blast/bankit/ представление одной или нескольких последовательностей.

2. Sequin - www представление для длинных последовательностей, полных геномов, результатов популяционных и филогенетических исследований.

Разделы GenBank:

- ESTs - expressed sequence tags; короткие (300-500), просиквенированные один раз cDNA последовательности. Также включают последовательности cDNA из RACE и differential display экспериментов.
- GSSs - genome survey sequences; короткие, просиквенированные один раз геномные последовательности, exon trapped последовательности, cosmid/BAC/YAC концы и т.п.
- HTGs - high throughput genome sequences от крупных сиквенсовых центров. Незавершенные и завершенные последовательности.
- STSs - sequence tagged sites; короткие (200-500) последовательности, уникальные для данного генома. Используются для картирования геномов

RefSeq

Reference Sequences база данных. Неповторяющиеся последовательности геномной DNA, mRNA и известных белков (в будущем - хромосом).

DbSNP

База данных single nucleotide polymorphisms, небольших делеций/инсерций, полиморфных повторяющихся элементов и microsatellite variation (как клинические, так и нейтральные). Содержит популяционные частоты распространённости.

UniGene

В этой базе данных ESTs и полноразмерные mRNA последовательности организованы в уникальные кластеры, представляющие известные или предполагаемые гены. Для кластеров представлена информация по картированию, экспрессии и другие ресурсы.

В настоящее время для четырёх организмов: Homo sapiens, Mus musculus, Rattus norvegicus, Danio rerio.

OMIM

Online Mendelian Inheritance in Man – база данных человеческих генов и генетических заболеваний под редакцией Dr. Victor A. McKusick. Имеются ссылки на Entrez базу данных.

The OMIM Morbid Map – алфавитный каталог генетических заболеваний и их цитологической локализации.

Genomic Biology

Представлены геномные карты (с Entrez связями) для Fruit fly, Human, Malaria parasite, Mouse, Rat, Retroviruses, Zebrafish. По возможности суммированы данные UniGene, сиквенс, имеющиеся мутанты, гомологи из других организмов

Entrez

Обеспечивает доступ к нуклеотидным и белковым последовательностям (GenBank, EMBL, DDBJ, PIR-International, PRF, Swiss-Prot/PDB, GenPept, RPF), 3-х мерным структурам и популяционным данным. Практически для каждой последовательности можно затребовать подобные последовательности или структуры (заранее вычисленные) и MEDLINE ссылки, относящиеся к последовательности. Относительно большие запросы можно организовывать с помощью Batch Entrez. Запрос можно организовывать с помощью разного рода текстовой информации: имя автора, организм, название гена или белка, уникальный идентификатор (accession number, sequence ID, PubMed ID, MEDLINE UID).

Можно использовать Entrez через E-mail (Query E-mail Server); чтобы узнать правила работы достаточно послать письмо с текстом HELP.

Entrez Genomes

Обеспечивает доступ к полным сиквенированным геномам (более 800; >500 вирусов, >25 бактерий, *Saccharomyces cerevisiae*, *Drosophila melanogaster*; включает незаконченные геномы: human, mouse, *Caenorhabditis elegans*, *Plasmodium falciparum*, *Leishmania major*, rice, and corn). Графическое

представление геномов. Интегрированные хромосомные карты дрозофилы и человека.

Литература

PubMed организован National Center for Biotechnology Information (NCBI) National Institutes of Health (NIH). PubMed содержит полное содержание MEDLINE и PREMEDLINE баз данных и некоторые статьи, не входящие в них. Очень удобно доверить регулярный просмотр ссылок на PubMed программе BioMail.

Citation Matcher позволяет найти статью по библиографическим данным. Возможен поиск сразу же большого количества статей. Можно использовать Citation Matcher через E-mail (E-Mail Citation Matcher); чтобы узнать правила работы достаточно послать письмо с текстом HELP.

Книги на сайте NCBI (читать подряд неудобно, но зато есть возможность поиска):

- ***C.elegans* II.** Riddle, Donald L.; Blumenthal, Thomas; Meyer, Barbara J.; Priess, James R., editors. Plainview (NY): Cold Spring Harbor Laboratory Press; c1997.
- **Introduction to Genetic Analysis.** 7th ed. Griffiths, Anthony J.F.; Gelbart, William M.; Miller, Jeffrey H.; Lewontin, Richard C. New York: W H Freeman & Co; c1999.
- **Modern Genetic Analysis.** Griffiths, Anthony J.F.; Gelbart, William M.; Miller, Jeffrey H.; Lewontin, Richard C. New York: W H Freeman & Co; c1999.
- **Molecular Biology of the Cell.** 3rd ed. Alberts, Bruce; Bray, Dennis; Lewis, Julian; Raff, Martin; Roberts, Keith; Watson, James D. New York and London: Garland Publishing; c1994
- **Molecular Cell Biology.** 4th ed. Lodish, Harvey; Berk, Arnold; Zipursky, S. Lawrence; Matsudaira, Paul; Baltimore, David; Darnell, James E. New York: W H Freeman & Co; c2000.

▪ **Retroviruses.** Coffin, John M.; Hughes, Stephen H.; Varmus, Harold E. Plainview (NY): Cold Spring Harbor Laboratory Press; c1997.

BLAST

Сравнение представленной последовательности с последовательностями в базе данных для выбора подобных последовательностей. В настоящее время реализована версия Gapped QBLAST (2.0). QBLAST позволяет получать результаты BLAST по номеру запроса известному только Вам (можно несколько раз, результаты не слишком больших поисков хранятся в течении 24h). При повторных запросах есть возможность слегка менять форму представления результата. Эта версия:

- ❖)(x)(f) разрешает пробелы при сравнении последовательностей (так что результат не разбивается на несколько последовательностей);
- ❖)(x)(x)(f) позволяет выполнять поиск по специфическим организмам;
-)(x)(f) реализует PSI-BLAST (Position-specific-iterated search), при котором статистически значимые выравнивания преобразуются во множественное выравнивание всех белков. По этому выравниванию генерируется матрица, которая может быть использована для следующих итераций.
 - PHI-BLAST - Pattern Hit Initiated BLAST – задаётся белок и мотив; ищутся подобные белки содержащие данный мотив.
 - BLAST 2 Sequences - инструмент для выравнивания двух заданных аминокислотных или нуклеотидных последовательностей.
 - IgBLAST - инструмент, облегчающий анализ последовательностей иммуноглобулинов. Даёт возможность проводить поиск в базе данных переменных областей иммуноглобулинов.
 - Можно использовать BLAST через E-mail (BLAST E-mail server); чтобы узнать правила работы достаточно послать письмо с текстом HELP.
 - Stand-alone BLAST – есть возможность загрузить BLAST программу на собственную машину и проводить поиски локально. Имеются

программы для следующих платформ: IRIX 6.2, Solaris 2.6, DEC OSF1 (ver. 4.0d), LINUX и Win32 systems. Так же имеются BLAST базы данных.

- **Программы BLAST поиска:**

blastp	сравнение заданной аминокислотной последовательности с базой данных белковых последовательностей.
blastn	сравнение заданной нуклеотидной последовательности с базой данных нуклеотидных последовательностей.
blastx	сравнение заданной нуклеотидной последовательности транслированной в 6 рамках считывания с базой данных белковых последовательностей.
tblastn	сравнение заданной аминокислотной последовательности с базой данных нуклеотидных последовательностей транслированных в 6 рамках считывания.
tblastx	сравнение заданной нуклеотидной последовательности транслированной в 6 рамках считывания с базой данных нуклеотидных последовательностей транслированных в 6 рамках считывания. tblastx не может быть использована при сравнении с nr базой данных на BLAST Web сервере.

- **Базы данных для BLAST поиска.**

- Базы аминокислотных последовательностей:

nr	трансляция всех неповторяющихся кодирующих последовательностей из GenBank+PDB+SwissProt+PIR+PRF
month	все новые или исправленные nr-последовательности за последние 30 дней.
swissprot	последний выпуск SWISS-PROT базы данных.
Drosophila genome	белки генома дрозофилы, представленные Celera и Berkeley Drosophila Genome Project (BDGP).

yeast	дрожжевые(<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) белки.
<i>E. coli</i>	трансляция кодирующих последовательностей генома <i>E.coli</i> .
pdb	последовательности 3-х мерных структур Brookhaven Protein Data Bank.
kabat [kabatpro]	последовательности, имеющие отношение к иммунологии.
alu	трансляция Alu повторов.

- Базы нуклеотидных последовательностей.

nr	все неповторяющиеся последовательности из GenBank+EMBL+DDBJ+PDB(но не входят EST, STS, GSS, или фазы 0, 1 или 2HTGS последовательности)
month	все новые или исправленные GenBank+EMBL+DDBJ+PDB - последовательности за последние 30 дней.
dbest	EST - отдел GenBank+EMBL+DDBJ.
dbsts	STS - отдел GenBank+EMBL+DDBJ.
htgs	High Throughput Genomic Sequences: фазы 0, 1и 2 (оконченные, фаза 3HTG последовательности находятся в nr).
Drosophila genome	геном дрозофилы, представленный Celera и Berkeley Drosophila Genome Project (BDGP).
yeast	дрожжевой(<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) геном.
<i>E. coli</i>	геном <i>E. coli</i> .
pdb	последовательности 3-х мерных структур Brookhaven Protein Data Bank.
kabat [kabatnuc]	последовательности, имеющие отношение к иммунологии.
vector	векторные последовательности GenBank(R), NCBI.

mito	База данных митохондриальных последовательностей.
alu	Alu повторы из REPBASE.
epd	база данных эукариотических промоторов.
gss	Genome Survey Sequence, одократно прочитанные геномные последовательности, exon-trapped и Alu PCR последовательности.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК РЕКОМЕНДОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ И ДРУГИЕ ИСТОЧНИКИ ИНФОРМАЦИИ

1. Основная литература

1. Биохимия: Учеб. для вузов / В.П. Комов, В.Н. Шведова. – М.: Дрофа, 2004. - 640с.
2. Молекулярная биология: учебник для студ.пед.вузов / А.С. Коничев, Г.А.Севастьянова. – 3-е изд., стер. - М.: Издательский центр «Академия», 2008. – 400с.
3. Эллиот В. Биохимия и молекулярная биология : Учебное пособие для вузов / Пер.с англ.:О.В.Добрыниной и др.; Под ред.:А.И.Арчакова и др. — М. : Изд-во НИИ биомедицинской химии РАМН;ООО "Материк-Альфа", 2000 .— 372с. : ил. — Библиогр.в конце гл.
4. Спирин, А. С. Молекулярная биология. Рибосомы и биосинтез белка : учебник для вузов / А. С. Спирин .— М. : Академия, 2011 .— 496 с. : ил
5. Сборник задач по биологической химии: Учеб. пособие / В.В.Строителей, О.Н.Понаморева; ТулГУ. – Тула, 2003. – 127 с.
6. Бабкина Е.Е., Понаморева О.Н., Арляпов В.А., Алферов В.А. Методические указания для студентов очной формы обучения по выполнению лабораторных по дисциплинам «Биохимия» и «Химические основы жизни»/ составители: Е.Е.Бабкина, О.Н.Понаморева, В.А.Арляпов, В.А.Алферов. – Тула: Изд-во ТулГУ, 2012. – 107 с.

2. Дополнительная литература

7. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение / Б. Глик, Дж. Пастернак. - М.: Мир, 2002. - 589 с.
8. Биохимия : учебник для вузов / Алейникова Т.Л. [и др.];под ред.Е.С.Северина .— 3-е изд.,испр. — М. : ГЭОТАР-МЕД, 2006 .— 784с. : ил
9. Щербаков, В.Г. Биохимия : учебник для вузов / В.Г.Щербаков;под ред.В.Г.Щербакова .— 3-е изд.,испр.и доп. — СПб. : ГИОРД, 2005 .— 472с. : ил.

10. Биохимия: Учебник / Под ред. Е.С.Северина, 2-изд. испр. – М.:ГЭОТАР-МЕД, 2004. – 784 с.: ил. (Серия «XXI век»).

11. Тюкавкина, Н. А. Биорганическая химия : учебник для мед. вузов / Н. А. Тюкавкина, Ю. И. Бауков, С. Э. Зурабян .— М. : ГЭОТАР-Медиа, 2011 .— 416 с. : ил.

3. Периодические издания

1. Молекулярная генетика, микробиология и вирусология: научно-теоретический журнал .— М. : Медицина, 2009- .— ISSN 0208-0613.

2. Биотехнология: Теоретический и научно-практический журнал [Электронный ресурс]/ Биотехнологическая Академия РФ .— Биотехнологическая Академия РФ. - (Электронная библиотека). – 10 точек доступа

3. Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова: Научно-практический журнал. -М.: изд-во Информационно-аналитический центр медико-социальных проблем. - ISSN 1996-4741.

4. Прикладная биохимия и микробиология: журнал Российской академии наук .— М. : Наука.

5. Успехи биологической химии. / РАН;О-во биохимиков и молекулярных биологов;Ин-т биохимии им.А.Н.Баха;отв.ред.Л.П.Овчинников ISSN: 0006-2979

6. Биофизика / РАН .— М. : Наука

Интернет-ресурсы:

- Общие поисковые системы: Google (www.google.com), Яндекс (www.yandex.ru), Рамблер (www.rambler.ru)
- Специализированные поисковые системы: CAS On-line (<http://info.cas.org>),
- ChemFinder (<http://chemfinder.com>)
- Scirus - forscientificinformation (<http://www.scirus.com>)

- ChemWeb (<http://www.chemweb.com>)
- Всероссийский институт научной и технической информации (ВИНИТИ) (<http://www2.viniti.ru>)
- Базы данных: The Patent Office (<http://gb.espacenet.com>)
- US Patent & Trademark Office, Patent Full Text and Image Database (<http://www.uspto.gov>)
- База данных о химических веществах (<http://webbook.nist.gov/chemistry/form-ser.html>)
- База данных о вредных веществах- Hazardous Chemical Database (<http://ull.chemistry.uakron.edu/erd>)
- Центр биотехнологической информации - The National Center for Biotechnology Information (NCBI) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/guide/>)
- Электронные образовательные ресурсы по молекулярной биологии – Практическая молекулярная биология (<http://molbiol.edu.ru/>)
- База данных о ферментах - The Comprehensive Enzyme Information System BRENDA (<http://www.brenda-enzymes.info/>)
- База данных по биокатализу и биодegradации (Университет Миннесоты) - Microbial biocatalytic reactions and biodegradation pathways (<http://umbbd.msi.umn.edu/>)
- **Электронные библиотеки:**
- Научная электронная библиотека (<http://elibrary.ru/defaultx.asp>)
- Электронная библиотека Имперского колледжа (<http://www.imperial.ac.uk/library/ejournals/a1.html>).
- Перечень зарубежных библиотек, специализированных химических или имеющих литературу по химии и биохимии. (<http://www.liv.ac.uk/Chemistry/Links/libraries.html>)
- Электронная библиотека российских периодических изданий - с 1990 года по настоящее время - около 500 наименований газет и журналов. [Public.ru](http://www.public.ru) (<http://www.public.ru>)

- Электронная библиотека. Области знания - биология, биотехнология, медицина, химия, математика, физика, астрономия, науки о Земле, экология, информатика, экономика, право. Springer LINK. (<http://www.springerlink.com/home/main.mpx>)
- Электронная библиотека. Области знания - физика, математика, информационные науки, химия, науки о жизни, науки о Земле, экология, инженерные науки, экономика, социальные и гуманитарные науки. IDEALibrary. (<http://www.idealibrary.com>).
- Научная электронная библиотека Тульского государственного университета (<http://library.tsu.tula.ru/news/news.htm>) с предоставлением доступа к электронным ресурсам, в том числе:
 - Электронная база данных: Электронные журналы Американского химического общества (American Chemical Society)
 - Электронная библиотека. Архивы Oxford University Press
 - Электронная библиотека. Архивы Cambridge University Press