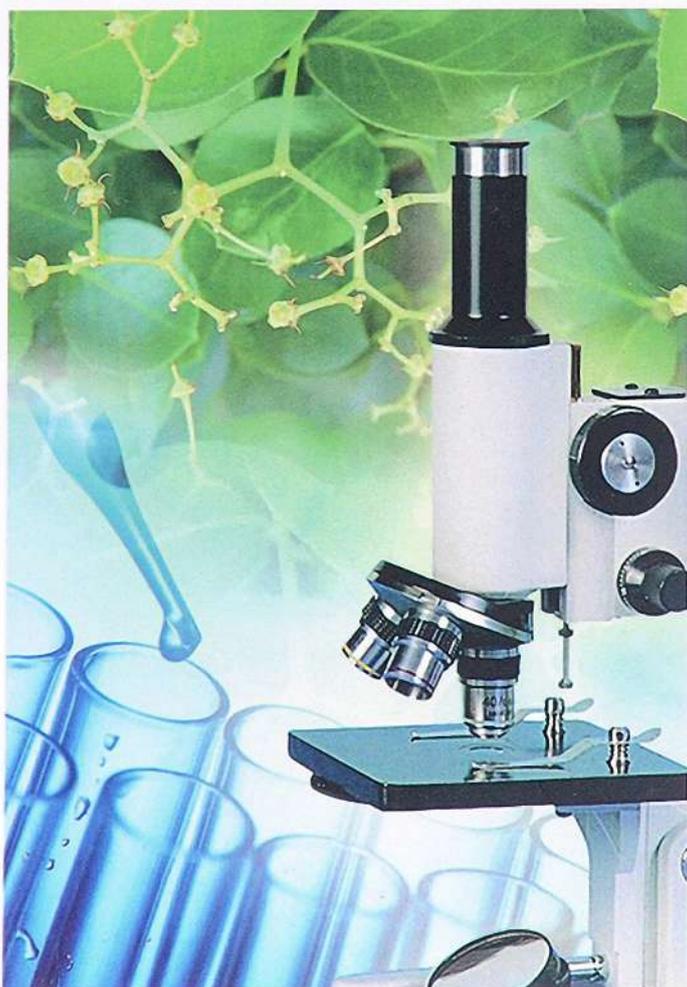


ОСНОВЫ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ БИОХИМИИ

ВЕТЕРИНАРНАЯ
МЕДИЦИНА



Ю. В. Конопатов, С. В. Васильева



Ю. В. КОНОПАТОВ,
С. В. ВАСИЛЬЕВА

ОСНОВЫ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ БИОХИМИИ

Издание третье, стереотипное

ДОПУЩЕНО

*Министерством сельского хозяйства РФ
в качестве учебного пособия для студентов вузов,
обучающихся по ветеринарным
и биологическим специальностям*



• САНКТ-ПЕТЕРБУРГ •
• МОСКВА •
• КРАСНОДАР •
2021

ББК 28.04я73

К 64

Конопатов Ю. В., Васильева С. В.

К 64 Основы экологической биохимии: Учебное пособие. — 3-е изд., стер. — СПб.: Издательство «Лань», 2021. — 136 с.: ил. — (Учебники для вузов. Специальная литература).

ISBN 978-5-8114-2489-4

В пособии рассматриваются вопросы, связанные с экологобиохимическими аспектами жизнедеятельности живой клетки у автотрофных и гетеротрофных организмов. В связи с этим детально описаны процессы фотосинтеза и энергетического метаболизма, а также синтез белка. Затронуты вопросы адаптации животных к условиям зимней спячки и аноксии, а также адаптации ферментных систем и дыхательных белков. Описана циркуляция важнейших пластических элементов, образующих живую материю всех уровней в природе — углерода и азота. Большое внимание в данном пособии уделено изучению вопроса биотрансформации ксенобиотиков в живых организмах.

Учебное пособие предназначено для студентов, обучающихся по направлениям: «Биология», «Биоэкология», «Водные биоресурсы и аквакультура», «Ветеринарно-санитарная экспертиза» и специальности «Ветеринария», а также аспирантов и специалистов в указанных научных направлениях.

ББК 28.04я73

Рецензенты:

А. А. СУХИНИН — доктор биологических наук, профессор, зав. кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии Санкт-Петербургской государственной академии ветеринарной медицины;

Д. О. ВИНОХОДОВ — доктор биологических наук, доцент, зав. кафедрой молекулярной биотехнологии Санкт-Петербургского государственного технологического института (технического университета).

Обложка

Ю. В. ГРИГОРЬЕВА

© Издательство «Лань», 2021

© Ю. В. Конопатов, С. В. Васильева, 2021

© Издательство «Лань»,

художественное оформление, 2021

ВВЕДЕНИЕ

Экология – интегральная наука, включающая вопросы различных областей физики, химии, физиологии, биохимии, генетики и других наук. Сегодня для понимания равновесия экосистемы уже недостаточно знаний традиционных дисциплин естествознания, необходима информация взаимосвязей экологии, физиологии, химии, биохимии. Многие экологические проблемы становятся более понятными на основе использования биохимической экологии.

Экология (от *греч.* oikos – жилище, местопребывание; logos – наука, учение) – наука, анализирующая отношения живых организмов (и их сообществ) с окружающей средой, в которой они живут. Термин «экология» был предложен немецким биологом Э. Геккелем (1834–1919) в 1869 г.

Совокупность растений (леса, прерии, болота, поля, торфяники и т. д.) создает растительную общность. Животные также составляют общность животных. Растения и животные, живущие в одной местности, формируют биоценоз (от *греч.* bios – жизнь, koīnos – коммуна). В системе биоценоза все формы живой материи планеты Земля имеют постоянные связи со средой обитания. Эти биотические взаимодействия относятся к компетенции экологии, изучающей взаимоотношения живых организмов со средой обитания.

Понятие «экология» предельно ясно высказал основатель отечественной биогеохимии В. И. Вернадский (1863–1945): «Ни один живой организм в свободном состоянии на земле не находится. Все организмы неразрывно и непрерывно связаны, прежде всего, питанием и дыханием, с окружающей их материально-энергетической средой. Вне ее в природных условиях они существовать не могут».

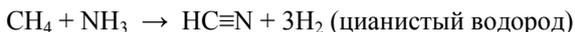
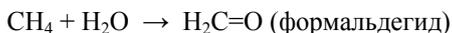
Химические вещества и реакции, обеспечивающие связи между живыми организмами в экологических условиях, являются составными компонентами экологических систем и объектами биохимической экологии. Экология представляет теоретический интерес, описывая и объясняя многие аспекты живого мира. Экология также имеет значительный практический интерес, показывая, что фауна и флора являются единой средой, которая формирует биологическое равновесие. В свою очередь, практическая ценность экологической биохимии объясняется использованием регуляторных веществ, характерных для популяций и экосистем, для координации экологических объектов.

КЛЕТКА – ОСНОВА ЖИЗНИ

Биохимия – интеллектуальная наука; она раскрывает тайны – как замечательные свойства живых организмов возникли из тысяч различных безжизненных биомолекул. Биохимия описывает структуры, механизмы, химические процессы, протекающие в клетке и составляющие молекулярную логику жизни. Полагают, что все организмы, живущие сейчас на Земле, происходят от единой зародышевой клетки, рожденной более чем 4 млрд лет назад.

Академик А. И. Опарин (1894–1980 гг.), биохимик, в 1922 г. выдвинул материалистическую теорию возникновения жизни на Земле. Он полагал, что все химические процессы, происходившие в примитивной атмосфере Земли, могли приводить к самопроизводному получению простых органических соединений, таких как аминокислоты, сахара, из аммиака, метана, воды. Эти газы могли быть активированы грозowymi разрядами или солнечными излучениями с последующими реакциями конденсаций и растворением в океане. Первые живые клетки, по мнению авторов, могли самопроизвольно возникнуть из растворов первичных органических соединений.

В дополнение к этой теории можно критически отметить, что в те времена атмосфера была богата N, H, CO, CO₂ с минимальным уровнем CH₄, NH₃ при полном отсутствии O₂. Большая часть Земли была покрыта водой. Излучение Солнца не фильтровалось слоем озона, поэтому оно включало в основном ультрафиолетовые лучи высокой энергии. В этих условиях оказались возможными следующие реакции:



Синтез формальдегида и цианистого водорода в дальнейшем способствовал появлению основных составляющих жизни – нуклеиновых кислот и белковых молекул.

С появлением кислорода и CO₂ в атмосфере и могли возникнуть первые фотосинтезирующие клетки, способные трансформировать световую энергию и CO₂ в сахара и другие клеточные соединения.

Простейшие микроорганизмы оказались способными экстрагировать энергию из органических соединений или из солнечных лучей, которую они использовали для построения комплексных биомолекул из простых элементов и соединений земной поверхности. Бактерии являются

простейшими организмами внешней среды; их размеры составляют лишь несколько микрометров. Они могут быстро делиться каждые 20 минут и давать до 5 млрд клеток менее чем за 11 ч, адаптируясь к изменениям среды. При этом каждая бактерия является точной копией оригинала.

Несмотря на большое разнообразие в формах и функциях, клетки и организмы имеют в биохимии много общего. Их общность и разнообразие объясняется нуклеотидной последовательностью внутри молекул ДНК любого организма. Это относится как к древним одноклеточным (*Mycobacterium Genitalium*, например), так и к современным представителям жизни (*Homo sapiens*) на Земле.

J. Monod (1910–1976) обобщил, что все организмы имеют общую эволюционную природу в их химических посредниках и трансформациях говоря, «что есть истина для *E. coli*, есть истина для слона».

Древние ископаемые свидетельствуют, что первые одноклеточные организмы появились на Земле около 3,5 млрд лет назад. В их структуре насчитывалось не более 30 различных органических соединений. Однако они успешно адаптировались во внешней среде и составляли более чем половину общей биомассы на Земле.

Понадобились еще более 2,5 млрд лет, чтобы появились первые многоклеточные организмы. Почему так медленно развивались многоклеточные организмы? Вероятно, возникла необходимость объединения множества клеток в единый многоклеточный организм с помощью различных сигнальных механизмов, которые могли бы координировать все функции этого организма одновременно. Важность такого контроля сегодня на уровне деления клеток становится очевидным, когда этот контроль нарушается, приводя к раку, с последующей смертью многоклеточного организма.

С развитием технических приемов исследований клеток стали более понятными сигнальные системы многоклеточных организмов. Эти системы включают поверхностные и внутриклеточные белки-рецепторы, протеин-киназы, протеин-фосфатазы, ГТФ-связанные белки и многие другие внутриклеточные белки.

Для построения первых клеток было достаточно иметь 20 аминокислот, 5 пуриновых и пиримидиновых оснований, одной жирной кислоты, глюкозы. Сегодня в составе одноклеточных простейших организмов выявлено большое разнообразие органических молекул. Например, *E. coli* содержит около 3 тыс. различных белков, 5 тыс. других органических соединений. При этом каждая простая молекула выполняет в клетке несколько функций. Поэтому в этом проявляется изначальная простота организации живой клетки с принципом молекулярной экономии.

У многоклеточных организмов появилась возможность использовать ресурсы питания, которые одноклеточные организмы не были способны эффективно использовать. Многоклеточные растения стали физически

большими, появились их корни в Земле, откуда клетки могли извлекать воду и питательные вещества, а из воздуха эффективно улавливать солнечную энергию. Другие специализированные клетки растения формировали слой эпидермиса, чтобы предупредить потери воды. При этом растения не конкурировали прямо с одноклеточными организмами за их экологические ниши. Вероятно, что первыми шагами в эволюции многоклеточных организмов были ассоциации одноклеточных организмов для формирования колоний. Простейший путь к этому состоял в том, что дочерние клетки оставались вместе после каждого клеточного деления. Для формирования многоклеточного организма клетки должны были иметь различные связи (цитоплазматические мосты), что, в конечном счете, привело к формированию многоклеточного покрывала, или эпителия. Формирование эпителия имело огромное значение в эволюции многоклеточных организмов; появились слои эпителия – эктодерма и энтодерма. Клетки почти каждого многоклеточного организма порождались повторяющимися делениями от одной клетки – прекурсора, и составляли клон.

Можно утверждать, что живая клетка – это изотермическая система, обладающая способностью к самосборке, саморегуляции и самовоспроизведению (D. L. Nelson, M. M. Cox, 2005). Следует указать, что мельчайшие объекты, которые могут быть видны в современный световой микроскоп, имеют размер около 0,5 мкм (1 микрометр = 1000 нанометров (нм)). Размер молекулы глюкозы составляет 0,7 нм, гепатоцита – 20 000 нм.

Клетки-прокариоты имеют только одну плазматическую или клеточную мембрану. Не имея других мембран, прокариоты не содержат ядро или органеллы. На месте ядра у них расположена единственная круглая хромосома и мембраноподобные структуры – мезосомы, где происходят реакции клеточного дыхания.

Важнейшими мембранами в животных клетках являются: плазматическая мембрана, внутренняя и внешняя ядерные и митохондриальные мембраны, мембраны эндоплазматического ретикулума и аппарата Гольджи, мембраны лизосом и пероксисом. Клетки растений имеют дополнительно мембраны хлоропластов, лейкопластов. Все мембраны клеток имеют полярный характер.

Плазматическая мембрана устанавливает периферию клетки, ограничивая ее содержимое от окружающей среды. Несмотря на функциональные различия, все биологические мембраны имеют общую основную структуру: она включает молекулы белков и липидов, которые формируют тонкий, гибкий, гидрофобный барьер вокруг клетки. Молекулы липидов организованы в бислой толщиной около 5 нм, который сохраняет основную структуру мембраны и служит сравнительно непроницаемым барьером в движении многих водорастворимых молекул.

Молекулы липидов мембран составляют около 50% массы большинства мембран животных клеток. Большинство этих мембран изобилует фосфолипидами, в которых различают полярный головной участок (содержит фосфат) и гидрофобные хвосты жирных кислот, которые имеют различную длину (14–24 углеродных атомов). Отдельные хвосты могут иметь одну или больше цис-двойных связей (ненасыщенные связи). Многие жирные кислоты имеют двойную связь между 9 и 10 атомами углерода. Практически все жирные кислоты содержат четное число атомов углерода (часто 16 или 18). Длина и насыщенность хвостов жирных кислот важны, потому что они влияют на способность молекул фосфолипидов располагать одну молекулу против другой и таким образом обеспечивать текучесть мембран.

Бислоем липидов многих клеточных мембран помимо фосфолипидов содержит холестерол (только в эукариотических клетках) и гликолипиды. Холестерол изменяет барьерные свойства бислоев липидов мембран. Молекулы этого спирта, комплексуя с полярными головными участками фосфолипидов, делают бислои липидов более устойчивыми и снижают проницаемость бислоев к мелким водорастворимым молекулам.

Однако бактериальные плазматические мембраны часто представлены одним основным типом фосфолипидов и не содержат холестерина. Напротив, плазматические мембраны многих клеток-эукариотов являются более разнообразными, так как помимо большого количества холестерола они содержат различные фосфолипиды – фосфатидилхолин, фосфатидилэтаноламин, фосфатидилсерин, сфингомиелин. Инозитол-фосфолипид играет важную роль в качестве сигнального вещества клетки. Триглицериды в мембранах отсутствуют.

Многие комплексы гликолипидов – ганглиозиды – имеют место во всех плазматических мембранах животных клеток и составляют 5% липидов клетки. Часто ганглиозиды содержат олигосахариды с остатками молекул сиаловых кислот. Ганглиозиды изобилуют в плазматических мембранах нервных клеток (5–10% массы всех липидов). Идентифицировано свыше 40 различных ганглиозидов. Ганглиозиды важны в процессах передачи электрических импульсов сквозь мембраны и в изменениях концентраций ионов, особенно ионов Ca^{+2} , на внешней поверхности.

Хотя основная структура биологических мембран обеспечена липидными бислоями, но многие специфические функции мембран определяются белками. Обычная плазматическая мембрана содержит около 50% массы белков. На одну молекулу белков в мембране приходится свыше 50 молекул липидов. Часто молекулы белков мембран связаны с олигосахаридными цепями. Многие мембранные белки располагаются сквозь бислои липидов (трансмембранные белки), имея гидрофобные и гидрофильные участки. Их гидрофобные участки проходят сквозь мембрану и взаимодействуют с гидрофобными хвостами молекул липидов внутри бислоев.

Мембрана обладает высокой избирательностью, являясь барьером со свободным транзитом неорганических ионов и других заряженных или полярных компонентов. Три основных класса мембранных белков – каналы, помпы и рецепторы – контролируют поток веществ и информацию между внешней средой и внутренним содержимым клетки. Транспортные белки в плазматической мембране обеспечивают пассаж отдельных ионов и молекул, белки-рецепторы передают сигналы в клетку. Поскольку индивидуальные белки и липиды плазматической мембраны не связаны ковалентно, ее структура представляется податливой, допускает изменения размеров и формы клетки.

Белки каналов имеют преимущество перед белками помпы в том, что более чем 1 млн ионов могут проходить сквозь один канал в секунду, что в тысячу раз больше, чем транспорт ионов с участием белков помпы. Таким образом функция ионных каналов позволяет специфическим неорганическим ионам, таким как Na^+ , K^+ , Ca^{2+} или Cl^- быстро проходить за счет своего электрохимического градиента сквозь бислои липидов.

Мелкие молекулы и растворимые в маслах (неполярные) более быстро проходят сквозь бислои липидов. Так молекулы O_2 (32 Да) и CO_2 (44 Да) активно проникают сквозь бислои. Это же относится и к мелким молекулам, таким как вода (18 Да), этанол (46 Да), мочевины (60 Да). Меньшей диффузией обладает глицерол (92 Да), а еще меньшей – глюкоза (180 Да) (В. Alberts et al., 1994).

Активный транспорт идет против градиента концентрации или заряда, при этом необходим приток дополнительной энергии, как правило, за счет гидролиза АТФ.

Открытие в 1957 г. фермента $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-АТФ-азы}$ позволило выяснить механизм $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-помпы}$. Установлено, что при гидролизе каждой молекулы АТФ (100 молекул АТФ могут быть гидролизованы каждой молекулой АТФ-азы в одну секунду) 3 иона Na^+ выходят наружу и 2 иона K^+ входят внутрь сквозь мембрану. $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-АТФ-аза}$ содержит около 1000 аминокислотных остатков, связанных с небольшим гликопротеином.

Фермент, который обычно синтезирует АТФ, назван АТФ-синтазой. Молекулы воды и неполярные молекулы проходят мембраны путем простой диффузии. Это же относится и к различным полярным молекулам, таким как ионы, сахара, аминокислоты, нуклеотиды. При этом специальные мембранные белки осуществляют этот трансфер сквозь клеточные мембраны. Эти белки являются транспортными мембранными белками. Каждый такой белок транспортирует определенный класс молекул.

Бактерии имеют одну сложную клеточную стенку, включающую пептидогликаны. Для обеспечения транзита метаболитов у бактерий есть трансмембранные каналообразующие белки – порины, которые образуют поры, проницаемые для молекул массой до 600 Да.

Большинство мембран клеток-эукариотов, включая плазматические мембраны, синтезируются в эндоплазматическом ретикулуме. Внутреннее пространство клетки, ограниченное плазматической мембраной, составляет цитоплазму, представленную водным раствором – цитоплазмой, и разнообразными растворенными частицами со специфическими функциями.

Цитоплазма содержит свыше 70% воды, в которой растворены различные ферменты, молекулы РНК, аминокислоты, нуклеотиды, глюкоза, АТФ, различные белки, сотни мелких органических молекул (метаболиты), посредники в биосинтетических и деградтивных процессах, коферменты, необходимые компоненты во многих фермент-катализируемых реакциях, рибосомы (комплексы молекул белка и РНК, размером 18–22 нм), митохондрии (энергетические станции).

Клетки могут быть разделены на две категории: прокариоты и эукариоты (от *греч.* eu – истинные, кауон – ядро). Клетки-прокариоты (бактерии и сине-зеленые водоросли) сравнительно мелкие (1–10 мкм в длину). В процессе эволюции прокариоты были первыми клетками, возникшими на Земле; возраст таких клеток, обнаруженных в древних сланцах Австралии и Африки, составляет свыше 3 млрд лет (А. Ленинджер, 1985).

По месту нахождения в природе прокариоты группируют на две группы – эубактерии, которые присутствуют в почве, воде, в больших животных, и архебактерии, которые находят в болотах, в глубинах океанов, в соленых водах, в горячих кислых источниках. К архебактериям относятся и метаногены, бактерии, способные генерировать метан из CO_2 и H_2 . Прокариоты являются типично очень мелкими, порядка нескольких микрон в длину, и обычно окруженными прочной клеточной стенкой, которая защищает клетку и сохраняет ее форму.

Существуют виды бактерий, которые могут использовать различные органические молекулы в качестве пищи, включая простые сахара, аминокислоты, жиры, полипептиды, полисахара. Некоторые из них получают углеродные атомы из CO_2 , а азот из N_2 . Несмотря на сравнительную простоту, по сравнению с другими организмами, бактерии составляют наибольший в количественном плане тип клеток на Земле.

Клетки-эукариоты включают: простейшие, грибы, растения, животных; их размеры значительно превышают размеры клеток прокариотов и составляют 10–100 мкм. Поэтому они содержат большее количество клеточного материала. Например, клетки человека содержат в 1000 раз больше ДНК, чем типичная бактерия. В отличие от животных у прокариотов и у представителей многоклеточных эукариотов – грибов и растений, рецепторные органы и нервная система не развиты; в клетках этих организмов имеются лишь отдельные рецепторные элементы, которые, однако, способны отличать свое от чужого.

Все клетки, имеющие ядро (эукариоты), в котором геном – полный набор генов, составляющий ДНК, запасается и копируется. Клетки-

эукариоты содержат большое количество ДНК, но только примерно 1% этой кислоты кодирует белки. Оставшаяся часть ДНК выполняет структурные или регуляторные функции. Клетки животных обычно имеют 5–100 мкм в диаметре (многие бактерии имеют 1–2 мкм в длину). Отличительными характеристиками клеток-эукариотов являются ядра и разнообразие мембрано-связанных органелл со специфическими функциями: ядро, пероксисомы, митохондрии, эндоплазматический ретикулум, аппарат Гольджи и лизосомы.

У клеток-аэробов с интенсивным снабжением кислородом получение энергии обеспечивается трансфером электронов от молекул топлива на кислород. Следует сказать, что микроорганизмы-анаэробы избегают кислорода и они в этих условиях адаптированы к получению энергии за счет переносимых электронов на нитраты (формируя N_2), сульфаты (формируя H_2S) или CO_2 (формируя CH_4). Многие микроорганизмы, которые эволюционируют в анаэробных условиях, являются облигатными (обязательными) анаэробами; они погибают в присутствии кислорода.

Макромолекулы клеток и их субъединицы значительно варьируют в размерах. Так, молекула аланина имеет 0,5 нм в длину, тогда как структура гемоглобина, включающая около 600 аминокислот, имеет 5,5 нм в диаметре. Мономерные субъединицы белков, нуклеиновых кислот, полисахаридов объединены ковалентными связями. В супрамолекулярных комплексах, однако, макромолекулы удерживаются вместе нековалентными связями, которые индивидуально слабее, чем ковалентные связи. В водной среде каждая нековалентная связь в 30–300 раз слабее, чем типичная ковалентная связь, удерживающая молекулы вместе.

Основными нековалентными связями являются: электростатические связи, водородные связи, связи Ван-дер-Ваальса. Все они различаются по геометрии, прочности и специфичности. Как известно, прочность химической связи характеризуется ее энергией. Чем она выше, тем прочнее связь и тем труднее ее разорвать. Энергия самой прочной – ковалентной связи колеблется в пределах 50–200 ккал/моль. В органических молекулах одной из наиболее распространенных ковалентных связей является углерод-углеродная (C–C) в состоянии sp^3 -гибридизации, и ее энергия составляет 83 ккал/моль. В структуре макромолекул, особенно белков и нуклеиновых кислот, чрезвычайно важную роль играют слабые связи, которые стабилизируют пространственную конформацию этих молекул. К ним относятся водородные, ионные и Ван-дер-Ваальсовы связи. Энергия отдельной связи сравнительно невелика и составляет порядка 0,5–6 ккал/моль, но их суммарное воздействие оказывается достаточно весомым. Напомним, что 1 ккал – это количество энергии, необходимое для подъема температуры 1 г воды на 1°C. Нековалентные связи образуются между различными частями одной макромолекулы и между различными макромолекулами.

Электростатические (ионные) связи возникают между противоположно заряженными группами субстрата и фермента. Поэтому ионные взаимосвязи отражают высокую степень структурной специфичности. При этом расстояние между противоположно заряженными атомами составляет 2,8 Å. Водородные связи формируются между атомом водорода и двумя другими атомами (например, $-N-H...O-$). Связи Ван-дер-Ваальса обусловлены электростатическим взаимодействием диполей и квантово-механическим притяжением движущихся электронов. Они являются неспецифическими силами притяжения, которые возникают, когда расстояние между двумя атомами составляет 3–4 Å. Эти связи быстро исчезают, когда расстояние между парами атомов увеличивается на 1 Å.

Все нековалентные связи имеют меньшую энергию, чем ковалентные (например, энергия разрыва ковалентной связи C–C равна 83 ккал/моль), но большое количество этих связей между макромолекулами стабилизирует их комплексы, сохраняя уникальность структур. Наибольшей количественной субстанцией живых клеток является вода, которая составляет около 70% клеточной массы, и большинство внутриклеточных реакций происходит в водной среде. Жизнь на нашей планете началась в океане на основе специальных свойств воды (полярный характер, способность формировать водородные связи).

Многие реакции в синтезе белка катализируются рибосомами, которые являются большими комплексами РНК и молекул белков. Рибосомы – органеллы размером 20 нм, состоящие из двух (60S и 40S) субъединиц, представляют собой комплекс белка (35%) и рибосомальной РНК (75%). Меньшие субъединицы связывают мРНК и тРНК, тогда как большие субъединицы катализируют образование пептидных связей. Каждая рибосома имеет три участка для связывания молекул РНК: один для мРНК и два для тРНК. Рибосомальные белки в основном усиливают функцию рибосомальной РНК, катализирующей многие реакции на рибосоме (B. Alberts et al., 1994).

Число рибосом в одной животной клетке достигает 10^5 . Количество рибосом *E. coli* составляет 15 тыс. Множество рибосом, связанных с одной молекулой иРНК, образует полирибосомы (полисомы). Максимум рибосом на иРНК составляет 1 рибосому на 80 нуклеотидов. Наличие полисом повышает эффективность использования иРНК. На рибосомах осуществляется биосинтез белков. Таким образом, на рибосомах происходит перевод информации с «языка» нуклеиновых кислот на «язык» белков.

Следующим витком иерархической лестницы являются органеллы клеток-эукариотов, имеющие значительные размеры по сравнению с самой клеткой. Органеллы включают: ядро, митохондрии, хлоропласты, эндоплазматический ретикулум, аппарат Гольджи, вакуоли, а также другие сравнительно мелкие клеточные включения, такие как пероксисомы, лизосомы, хромопласты.

Ядро – наиболее крупная органелла эукариотической клетки, видимая в оптический микроскоп. Ядро имеет внешнюю и внутреннюю мембраны. Внешняя мембрана наполнена рибосомами, участвующими в синтезе белков. Последние транспортируются в пространство между внутренней и внешней мембранами (перинуклеарное пространство). Внешняя ядерная мембрана соприкасается с мембраной эндоплазматического ретикула. Рибосомы, активно участвующие в синтезе трансмембранных белков, часто связаны с внешней ядерной мембраной. Поэтому внешняя ядерная мембрана может рассматриваться как специализированный участок эндоплазматического ретикула. Бимембранная поверхность каждого ядра клеток всех эукариотов пронизана ядерными порами. Каждая ядерная пора образует структуру, называемую комплексом ядерной поры (диаметр около 7 нм), с молекулярной массой около 125 млн, включая более 100 различных белков. Каждый такой комплекс содержит каналы, через которые мигрируют водорастворимые молекулы. Ядерный транспорт является высокоселективным, а поэтому только определенные молекулы проходят из ядра в цитозоль. Например, комплекс ядерной поры обеспечивает транспорт РНК из ядра в цитозоль. Этот транспорт рассматривается как энергозависимый процесс.

Матрикс ядра представляет структуру, содержащую 10% всего белка ядра, 30% РНК, 1–3% ДНК и 3% фосфолипидов ядра. Вероятно, что матрикс выполняет важную роль в организации компартаментов ядра (S. R. Goodman, 1998). Ядро включает хроматин, содержащий ДНК, РНК и многочисленные функционально активные белки (ферменты), белки гистоны, вместе составляющие хромосомы. Гистоны – основные белки небольшой молекулярной массы (10–25 тыс. Да); они обеспечивают упаковку молекул ДНК. Важность этих белков отражена в их сохранности в эволюции: гистоны гороха имеют почти точный состав аминокислот как гистоны клеток коровы. В хроматине есть и ядерные белки-рецепторы, связывающие гормоны. Интересно, что длина единственной молекулы ДНК в *E. coli* почти в 1000 раз превышает размеры самой клетки (около 2 мкм). Гены, как и другие клеточные компоненты, а также и сами клетки, живут, распадаются и заменяются новыми. Так, период полураспада белков плазмы крови составляет около 7 суток, белки-трансаминазы печени живут 80–90 ч. Клетки печени живут около одного года, синтезируя за этот период массу альбумина, в 60 раз превышающую массу самой клетки. Однако «долгожителями» считаются мышечные клетки.

Ядро является депо генетической информации, сохраняя линейную последовательность нуклеотидов ДНК в хромосомах. В хромосомах ядра находится почти все количество ДНК клетки, тогда как свыше 90% всего клеточного количества РНК содержится в цитозоле. Внутри ядра находится ядрышко, в котором осуществляется синтез РНК (транскрипция) на основе хранящейся в ДНК информации. Процесс удвоения ДНК

(репликация) также локализован в ядре. Образовавшиеся в ядре иРНК и тРНК поступают в цитоплазму для участия в синтезе белков (трансляция). Специфической функцией ядра является синтез НАД (никотинамиддинуклеотид).

ДНК – полимер дезоксирибонуклеотидов, содержащих тысячи и даже миллионы мономеров. Дезоксирибонуклеотиды включают пуриновые основания (аденин и гуанин) или пиримидины (цитозин и тимин), ковалентно связанные с первым углеродным атомом дезоксирибозы. Фосфодиэфирная связь связывает 5-й гидроксил дезоксирибозы с 3-м гидроксилом дезоксирибозы следующего нуклеотида, образуя, таким образом, нуклеотидную цепь. ДНК существует в виде двух полидезоксирибонуклеиновых цепей. Обе нуклеотидные цепи представлены комплементарными основаниями. Цитозин формирует всегда три водородные связи с гуанином, а тимин формирует две водородные связи с аденином. Комплементарные цепи двойной спирали являются антипараллельными: одна цепь продвигается в направлении 5→3, а противоположная – в направлении 3→5.

При делении клеток структура ядра разрушается, и хроматин организуется в хромосомы – конденсированные формы молекул ДНК, видимые в оптический микроскоп. В результате митоза образовавшиеся дочерние хромосомы расходятся и поступают в дочерние клетки. Клетки человека содержат в 600 раз больше ДНК по сравнению с *E. coli*. Соматические клетки человека содержат 46 хромосом. Каждая хромосома содержит одну молекулу ДНК. Размеры молекул ДНК зависят от каждой хромосомы. Первая хромосома человека содержит наибольшую молекулу ДНК, тогда как 23 хромосома имеет в 5 раз меньший размер. Функции только 10% ДНК известны в геноме человека (R. Roskoski, 1996).

Ген – это не просто участок ДНК, который осуществляет свои функции независимо от клетки и организма. В геноме содержатся помимо структурных генов, кодирующих порядок чередования аминокислот в полипептидных цепях определенных белков, регуляторные гены, отвечающие за синтез регуляторных белков (репрессоров), а также гены-операторы, контролирующие активность структурных генов.

Совокупность гена-оператора и структурных генов получила название оперона. Поэтому гены функционируют в постоянном взаимодействии с белками, с различными низкомолекулярными веществами. Таким образом, гены в клетке объединены в единую генную регуляторную систему, которая обеспечивает передачу генетической информации потомству (Б. Ф. Ванюшин, Г. Д. Бердышев, 1977).

Одноклеточные организмы, вероятно, имеют лишь одну генную регуляторную систему, тогда как функционирование многоклеточных организмов возможно при наличии трех регуляторных систем – генной,

нервной и эндокринной. Две последние являются эволюционной «надстройкой» над древней генной системой управления клеток.

Митохондрии – «силовые станции», реализующие аэробный метаболизм углеводов, жиров и белков и сохраняющие энергию в метаболически используемой форме, такой как АТФ. Длина митохондрий составляет от 1 до 10 мкм. Митохондрии имеют две мембраны: наружная регулирует поступление и выделение различных веществ, тогда как внутренняя мембрана образует множество складок – крист, на которых фиксируются окислительно-восстановительные ферменты дыхательной цепи, синтеза АТФ. Внутренняя мембрана содержит до 75% белка и является функционально чрезвычайно активной. Внешняя мембрана включает важный интегральный белок – порин. Порин может формировать каналы внутри внешней мембраны, обеспечивающие свободный проход молекул молекулярной массы менее 10 тыс.

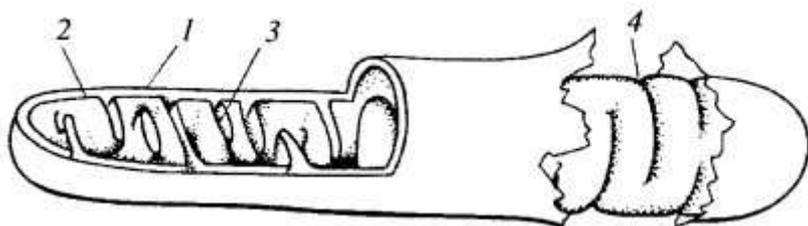


Рис. 1. Строение митохондрии:

1 – внешняя мембрана; 2 – внутренняя мембрана; 3 – впячивания внутренней мембраны – кристы; 4 – места впячиваний, вид с поверхности внутренней мембраны.

Внутреннее пространство митохондрий заполнено гелем – матриксом, в котором находятся все ферменты, осуществляющие синтез АТФ. В матриксе находятся рибосомы, свою собственную автономную ДНК, РНК, которые осуществляют митохондриальный синтез белка. Однако эта ДНК составляет менее чем 1% общей клеточной ДНК. Число митохондрий в печени млекопитающих составляет около 1000 в каждой клетке. Все митохондрии занимают около 20% объема клетки.

Эндоплазматический ретикулум – это система мембранных каналов, по которым осуществляется транспорт различных веществ из клетки в клетку. На мембранах шероховатой эндоплазматической сети локализуются рибосомы, участвующие в биосинтезе белков, которые затем поступают во внеклеточное пространство. На мембранах гладкой эндоплазматической сети находятся ферменты обмена липидов и углево-

дов. В этом и заключается основное морфологическое различие между шероховатой и гладкой эндоплазматической сетью.

Шероховатый эндоплазматический ретикулум является местом синтеза белков для аппарата Гольджи, лизосом, плазматической мембраны. Синтез липидов мембран (фосфолипиды, стероиды, триацилглицериды) имеет место как в шероховатом, так и в гладком эндоплазматическом ретикулуме. В скелетных и сердечных мышечных клетках эндоплазматический ретикулум рассматривается как саркоплазматический ретикулум (СР).

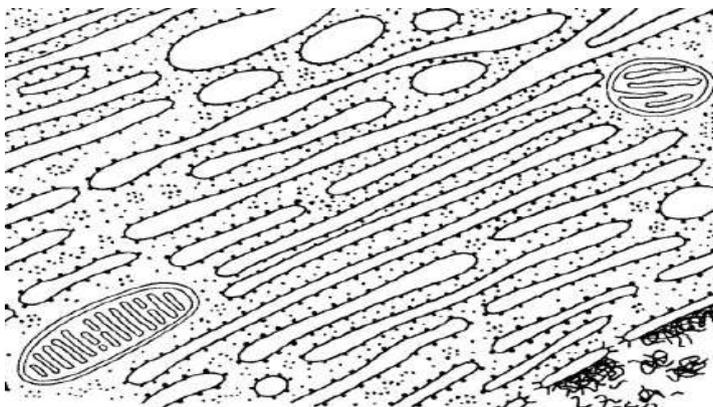


Рис. 2. Схематическое изображение шероховатого (гранулярного) эндоплазматического ретикулума

Саркоплазматический ретикулум имеет специализированную функцию депонирования ионов Ca^{+2} , необходимого для инициации сокращения мышечного волокна. При этом общая концентрация кальция в саркоплазматическом ретикулуме может превышать 10 мМ/кг (R. Roskoski, 1996). Для транспорта кальция саркоплазматический ретикулум содержит различные белки, включая Ca^{+2} -АТФ-азу, который по типу помпы повышает концентрацию кальция в ретикулуме покоящейся мышцы до 10^{-3} и выше. Этот белок составляет около 80% всех мембранных белков саркоплазматического ретикулума. Саркоплазматический ретикулум также вовлекается в детоксикацию лекарственных веществ за счет участия цитохрома P_{450} (S. R. Goodman, 1998).

Аппарат Гольджи – это органеллы клеток, представляющие собой стопки пузырьков или цистерны, окруженные одиночными мембранами, богатыми гликозилтрансферазами и сульфаттрансферазами. В цистернах 1 мкм в диаметре хранятся клеточные вещества, поступающие из эндоплазматического ретикулума. Эти вещества затем могут разрываться с выходом содержимого в межклеточное пространство (экзоцитоз). Морфологически различают пять функциональных компартаментов аппарата

Гольджи с собственными специфическими функциями. В частности, из транс-цистерны белки и липиды поступают в транс-Гольджи сеть, где они рассортировываются в различные транспортные цистерны, предназначенные для лизосом, плазматической мембраны или секреции.

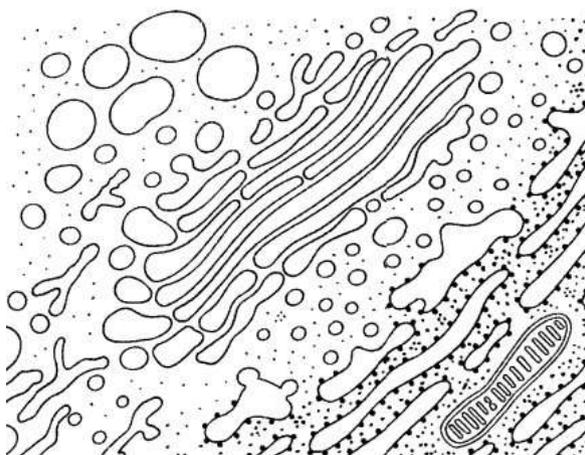


Рис. 3. Схематическое изображение сечения аппарата Гольджи

Лизосомы – это ограниченные одиночной мембраной сферические пузырьки в цитозоле клеток растений, животных, в микроорганизмах. Их размер в диаметре составляет 0,2–0,5 мкм. Лизосомы (т. е. «пищеварительная» система клетки) содержат различные гидролитические ферменты (известно свыше 60 лизосомальных ферментов) для гидролиза белков, жиров, углеводов, предназначенных для распада на более мелкие водорастворимые продукты, которые поступают затем в цитозоль для дальнейшего метаболизма. В их числе экзо- и эндопептидазы, нуклеазы, фосфатазы, сульфатазы, экзо- и эндогликозидазы, липазы. Ферменты лизосом, как нативные белки, синтезируются в рибосомах, находящихся в складчатых мембранах эндоплазматической сети. Вначале они упаковываются в виде незрелых гранул, которые развиваются в первичные лизосомы, а затем во вторичные лизосомы, в которых и происходит переваривание инородных частиц, попадающих в клетку в результате эндоцитоза. Продукты гидролиза поступают в цитоплазму клетки. Лизосомы постоянно обнаруживаются в цитоплазме лейкоцитов (нейтрофилов), но они есть и в других клетках, за исключением эритроцитов. Сходные органеллы обнаружены и у растений, в том числе у грибов и дрожжей.

Отметим, что защита организма против бактериальных инфекций осуществляется с участием нейтрофилов, которые фагоцитируют бактерии. Однако возбудители туберкулеза и проказы не разрушаются этими

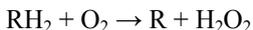
лейкоцитами, так как они не имеют липаз, способных лизировать стенки этих бактерий.

Лизосомы помимо уникальной коллекции ферментов обладают также уникальными мембранами. Мембраны лизосом проницаемы для воды и мелких частиц, молекулярная масса которых не превышает 200 Да (аминокислоты, простые сахара, жирные кислоты); вероятно, они обладают помпами для потоков протонов для обеспечения низкой величины рН внутри лизосом. Транспортные белки в этих мембранах позволяют конечным продуктам переваривания макромолекул, таким как аминокислоты, сахара, нуклеотиды, поступать в цитозоль, где они могут быть экскретированы или реутилизированы клеткой. При сильных стрессовых ситуациях количество и размеры лизосом быстро увеличиваются, повышается проницаемость их мембран. Следствием этих изменений является либо адаптивная перестройка метаболизма и ультраструктур клеток, либо их дегенерация с развитием цепного цитолитического процесса (Л. Е. Панин, 1983).

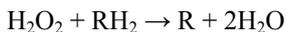
Пероксисомы находятся во всех клетках эукариотов. Это органеллы – пузырьки (0,1–0,5 мкм в диаметре), окруженные одиночной мембраной, происходят от гладкого эндоплазматического ретикулума. Пероксисомы – важнейшее место утилизации кислорода. В древние времена, когда кислород, продуцируемый фотосинтезирующими бактериями, вначале начинал аккумулироваться в атмосфере, и он являлся высокотоксичным для многих клеток. Поэтому вначале пероксисомы были призваны для снижения внутриклеточной концентрации кислорода.

Сегодня известно, что пероксисомы имеют ферменты, которые используют молекулярный кислород для удаления атомов водорода из специфических органических субстратов в окислительно-восстановительных реакциях с образованием перекиси водорода.

Внутри пероксисом находятся ферменты, образующие и использующие H_2O_2 , отсюда и происходит их название – пероксисомы. Эти ферменты способны отрывать атомы водорода от органических субстратов и передавать их на O_2 с образованием H_2O_2 :

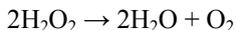


Каталаза, составляя около 40% всех белков пероксисом, использует пероксид водорода для окисления таких субстратов, как алкоголь, формальдегид, муравьиная кислота, защищая, таким образом, клетку от этих ядов в реакции:



Этот тип окислительной реакции очень важен в клетках печени и почек, пероксисомы которых нейтрализуют различные токсические молекулы, поступающие из крови. Около четверти алкоголя, который выпивает человек, окисляется в ацетальдегид таким путем.

При избытке пероксида водорода каталаза может конвертировать его в воду:



Пероксисомы не имеют собственного генома или рибосом, а поэтому все их белки должны быть импортированы. Важнейшей функцией пероксисом является их участие в окислении жирных кислот по типу бета-окисления. Бета-окисление в клетках млекопитающих имеет место, как в митохондриях, так и в пероксисомах. В растительных клетках эти реакции окисления протекают исключительно в пероксисомах.

Биологические системы от макромолекулярного уровня до клеточного оперируют через специфические молекулярные механизмы узнавания, основанные на структурной комплементарности: белок узнает его специфический метаболит, нуклеотидная нить ДНК узнает свою комплементарную нить, спермий узнает яйцеклетку. Все эти взаимосвязи вовлекают структурную комплементарность между молекулами.

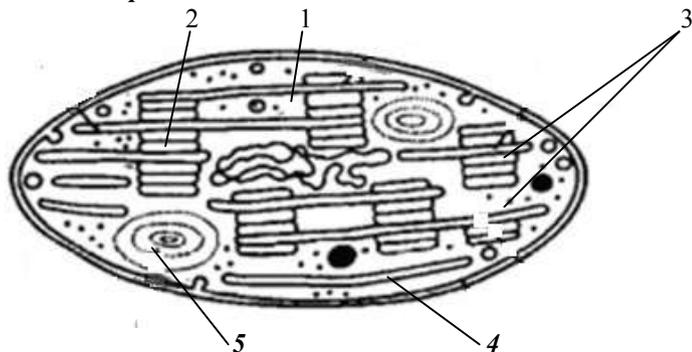
Хлоропласты (в фотосинтезирующих клетках) имеют двойную мембрану, внутренний объем которой называется стромой, в которой заключена мембранная система, богатая тилакоидными мембранами. Хлоропласты высших растений имеют форму двояковыпуклой линзы, имея в длину 5–10 мкм. Их число в клетке насчитывает одну тысячу. Хлоропласты значительно крупнее, чем митохондрии. Хлоропласты имеют обычно округлые формы; у отдельных водорослей они могут достигать больших размеров. В клетках коллоиды хлоропласта тесно связаны с хлорофиллом, защищая его против воздействия различных факторов среды. Внутренняя мембрана хлоропластов включает специальные белки-транспортеры. Она окружает большое пространство, называемое стромой, которое является аналогом митохондриального матрикса и содержит различные ферменты, рибосомы, РНК и ДНК.

Хлоропласты являются местами фотосинтеза, в реакциях которого световая энергия трансформируется в метаболически используемую химическую энергию в форме АТФ. Эти реакции протекают на тилакоидных мембранах. Синтез углеводов из CO_2 протекает в строме. Хлоропласты являются основным источником энергии на свету.

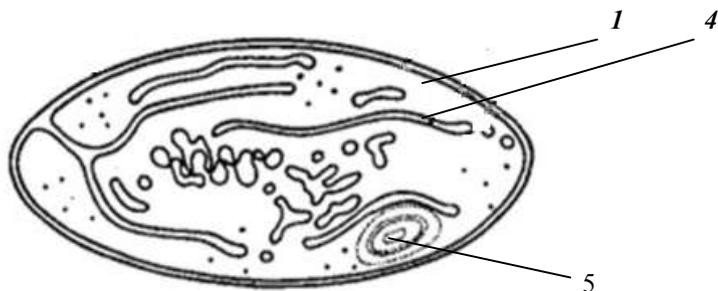
Лейкопласты – бесцветные органеллы растительных клеток различной формы (шаровидные, округлые, чашевидные и др.). Лейкопласты ограничены двумя мембранами. Наружная мембрана гладкая, внутренняя образует тилакоиды. В строме имеются кольцевая «голая» ДНК, рибосомы 70S-типа, ферменты синтеза и гидролиза запасных питательных веществ. Лейкопласты являются пластидами, которые присутствуют во многих эпидермальных и внутренних тканях и не становятся зелеными и фотосинтезирующими. Сравнительно много лейкопластов имеют клетки подземных органов растений (корни, клубни, корневища). Функция лейкопластов – синтез, накопление и депонирование запасных питательных

веществ. В некоторых растениях, таких как картофель, амилопласты могут иметь размеры средней клетки животного.

Хлоропласт



Лейкопласт



Хромопласт

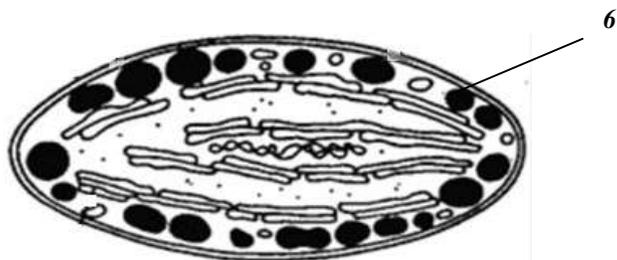


Рис. 4. Строение пластид:

*1 – строма; 2 – тилакоид; 3 – граны; 4 – ламеллы; 5 – зерна крахмала;
6 – липидные капли.*

В зависимости от функциональной специализации лейкопласты подразделяют на следующие виды:

- амилопласты (синтезируют и накапливают крахмал);
- элайопласты (синтезируют и накапливают жиры);
- протеинопласты (синтезируют и накапливают белки).

Хромопласты – бимембранные органоиды, содержащие пигменты. Наружная мембрана гладкая, внутренняя может быть гладкой, или образует единичные тилакоиды. В строении имеются кольцевая ДНК и пигменты – каротиноиды, придающие хромопластам желтую, красную или оранжевую окраску. Форма накопления пигментов различная: в виде кристаллов, растворены в липидных каплях и др. Эти органеллы содержатся в клетках зрелых плодов, лепестков, осенних листьев. Хромопласты считаются конечной стадией развития пластид.

Функция хромопластов: окрашивание цветов и плодов и тем самым привлечение опылителей и распространителей семян. Все виды пластид могут образовываться из пропластид. Поскольку пластиды имеют общее происхождение, между ними возможны взаимопревращения. Лейкопласты могут превращаться в хлоропласты (позеленение клубней картофеля на свету), хлоропласты – в хромопласты (пожелтение листьев и покраснение плодов). Превращение хромопластов в лейкопласты или хлоропласты считается невозможным.

Хлорофиллы и каротины широко распространены в пигментах, называемых каротиноидами. Каротиноиды всегда присутствуют в хлоропластах, но отдельно они находятся в хромопластах, окрашивающих отдельные плоды (мандарины, лимоны, томаты) и цветы (нарциссы, ноготки). Цвет морских водорослей зависит от наличия в них натурального хлорофилла (0,8%) – $C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$, желтого ксантофилла – $C_{40}H_{56}O_2$, каротинов – $C_{40}H_{56}$. В отличие от хлорофиллов каротиноиды способны поглощать свет в ином диапазоне длин волн, а поэтому они являются световыми рецепторами, дополняющими функции хлорофиллов.

Ученые полагают, что хлорофилл существует в живых системах уже более 550 млн лет (Л. А. Николаев, 1973). Древние бактерии-автотрофы содержали восстановленную форму порфирина, а последующая эволюция привела к внедрению магния в структуру порфирина, который укрепил связи хлорофилла с белком. Световая энергия, удерживаемая хлорофиллом, не полностью трансформируется в потенциальную химическую энергию синтезируемых органических соединений. Организмы с активным фотосинтезом (одноклеточные зеленые растения) способны трансформировать 30% световой энергии в химическую энергию, тогда как в природе этот показатель составляет лишь 1–2%. Однако, несмотря на низкий показатель фотосинтеза (1–2%) и содержание CO_2 в атмосфере (0,03%), 35 млрд тонн углерода ежегодно фиксируются зелеными растениями на поверхности Земли, 80–100 млрд тонн органических

соединений производятся благодаря световой энергии и хлорофиллу, из которых половина приходится на земную поверхность и половина – на поверхностные воды морей и океанов. Благодаря фотосинтезу вся наземная и водная растительность в течение года производят свыше 300 млрд тонн кислорода.

Растения без хлорофилла (грибы, например), а также многие бактерии, животные, не способны синтезировать органические соединения исключительно из минеральных компонентов, не могут использовать атмосферный CO_2 и должны получать углерод из окружения в форме сравнительно сложных органических соединений, таких как глюкоза. Они обязаны поглощать одновременно органические соединения и минералы: это гетеротрофы (от *греч.* heteros – другой, trophe – пища), в отличие от автотрофов. Человек, как и все многоклеточные животные, многие бактерии, вирусы, грибы, некоторые растения являются гетеротрофами. Они представлены плотоядными (зоофаги), растительноядными (фитофаги) и всеядными (эврифаги) формами.

Гетеротрофные организмы существуют за счет использования энергии и веществ, являющихся продуктами авто- или гетеротрофного биосинтеза. Среди гетеротрофов выделяются биофаги и сапрофиты. Биофаги используют необходимые им вещества из тел живых организмов, тогда как сапрофиты используют продукты биосинтезов, содержащиеся в телах погибших организмов.

Автотрофы (как фотосинтезирующие бактерии) могут использовать CO_2 из атмосферы как единственный источник углерода, из которого они создают все свои углеродсодержащие биомолекулы. Такие автотрофы, как цианобактерии (сине-зеленые водоросли), также могут использовать азот для синтеза своих азотсодержащих веществ. Фотосинтезирующие автотрофы получают свою энергию из солнечных лучей, тогда как гетеротрофы получают всю энергию за счет разложения органических веществ, продуцируемых автотрофами. В нашей биосфере авто- и гетеротрофы живут совместно в зависимом цикле, в котором автотрофы используют CO_2 атмосферы для строительства своих органических биомолекул.

Напротив, гетеротрофы используют органические продукты автотрофов как нутриенты и возвращают CO_2 в атмосферу. Отдельные окислительные реакции, продуцирующие CO_2 , также потребляют кислород, конвертируя его в молекулы воды. Таким образом, углерод, кислород и вода постоянно обмениваются между гетеро- и автотрофами с участием солнечной энергии, как главенствующей силой в данном круговороте. В метаболических процессах и во всех трансформациях энергии имеется потеря используемой (свободной) энергии и неизбежное увеличение неиспользованной энергии (тепло). Углерод, кислород и азот ре-

циклируют постоянно, при этом энергия постоянно трансформируется в неиспользуемую форму, такую как тепло.

Отдельные растения без хлорофилла и многие бактерии живут в зависимости от других организмов: они являются паразитами (грибы, повилика, патогенные бактерии). Другие организмы используют мертвые органические вещества – сапрофиты (от *греч.* *sapros* – гнилой, *phuton* – растение). К ним относятся плесени, бактерии; они разлагают растительные трупы, трипаномы. Следовательно, в природе существуют настоящие пищевые цепи. В частности, высшие животные, растения без хлорофилла, многие бактерии зависят прямо или косвенно от растений с хлорофиллом.

Единицы длины, используемые в биологии клетки и биохимии

1 нм (нанометр) = 10^{-9} м = 10^{-6} мм = 10^{-3} мкм

1 мкм (микрометр) = 10^{-6} м = 10^{-3} мм = 1000 нм

1 микрон = 1 мкм

Контрольные вопросы

1. Что такое живая клетка?
2. Организмы: прокариоты и эукариоты.
3. Роль ядра в клетке.
4. Структура плазматических мембран.
5. Опишите органеллы эукариотов.
6. Митохондрии, их функции.
7. Функции лизосом в клетке.
8. Охарактеризуйте хромосомы.
9. Основные химические связи в клетках.
10. Структура ДНК.

ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ОБМЕН ЖИВОГО ОРГАНИЗМА

Способность обуздать энергию нутриентов и направить ее на осуществление физиологических функций является фундаментальным свойством живых организмов; это было достигнуто в период очень ранней эволюции.

Главная функция организмов, участвующих в создании и утилизации живой части биомассы, состоит в получении каждым вышестоящим звеном в цепях питания от нижестоящего необходимого вещественно-энергетического и информационного обеспечения. При этом эволюция животных организмов связана с совершенствованием пластического обеспечения в направлении повышения коэффициента полезного действия используемой энергии пищевых субстратов (И. А. Болотников, С. Н. Румянцев, 1991).

Слово метаболизм происходит от греческого языка, что означает «обмен». Метаболизм представляет сумму химических обменов, которые превращают нутриенты (сырой материал), необходимые для питания живых организмов, в энергию и конечные продукты клеток. Метаболизм включает тысячи ферментативных реакций, превращая нутриенты в конечные продукты через множество специфических химических посредников.

Современные организмы выполняют замечательное разнообразие трансдукций, превращений одной формы энергии в другую. Они используют химическую энергию в качестве топлива для синтеза высокоорганизованных макромолекул из простых прекурсоров. Они также превращают химическую энергию топлива в электрический градиент, в движение, тепло. Фотосинтезирующие организмы (фотоавтотрофы и фотогетеротрофы) трансформируют световую энергию в другие формы энергии.

Термодинамика свидетельствует, что жизненные процессы – рост, развитие, механическая работа, транспорт веществ и другие, должны осуществляться при участии энергии извне. Сформулированный в середине XIX в. первый закон термодинамики, который называют еще законом сохранения энергии, вполне объясняет: «Энергия не появляется и не исчезает. Всегда, когда энергия используется для выполнения работы или же переходит от одной формы в другую, общее количество энергии системы и окружающей среды остается неизменным».

В процессе жизнедеятельности организм животного поглощает кислород и выделяет двуокись углерода. Еще в XVIII столетии Антуан Лоран Лавуазье (1743–1794 гг.), один из основателей термохимии, показал, что количество выдыхаемого организмом CO_2 и количество образовавшегося при этом тепла – величины примерно того же порядка, что и в случае сгорания продуктов питания вне организма.

Энергия, используемая всеми живыми организмами, в конечном счете, является энергией Солнца. Человек и животные не способны на-

прямо использовать солнечную энергию для реализации биохимических процессов, однако они извлекают ее из органических веществ нутриентов. Если автотрофы (фотоавтотрофы) способны использовать простые углеродсодержащие вещества для синтеза сложных соединений, утилизируя для этой цели солнечную энергию или энергию окисления неорганических веществ, то гетеротрофы вырабатывают необходимую им энергию путем окисления сложных органических соединений (углеводы, жиры, белки), содержащихся в питательных веществах.

Фотоавтотрофы (растения, водоросли, некоторые бактерии), являясь единственными биологическими генераторами энергии Солнца для обеспечения синтетических процессов, занимают важное место среди живых организмов планеты. Благодаря их деятельности становится возможным существование гетеротрофов (животных), продуктами питания которых являются сложные органические вещества. Хемотрофы используют органические компоненты, такие как глюкоза или неорганические субстанции, такие как Fe^{2+} , NO_2^- , NH_4^+ , как источники энергии.

Сложные органические вещества (белки, жиры и углеводы) в условиях Земли являются термодинамически нестабильными: они самопроизвольно распадаются. Самопроизвольные процессы – это процессы, идущие с уменьшением свободной энергии, и поэтому могут служить источниками энергии для существования живой клетки. В результате самопроизвольного распада образуются термодинамически стабильные продукты. В организмах-гетеротрофах такими конечными продуктами распада пищевых веществ являются CO_2 и H_2O .

Таким образом существует следующая цепь – растения с использованием CO_2 и H_2O под влиянием солнечной энергии синтезируют органические вещества – углеводы, жиры, белки. Животные, в свою очередь, потребляя в пищу растения, получают уже готовые макромолекулы, которые подвергаются последовательному окислению, деградируя, в конечном счете, до тех же простых веществ – воды и углекислого газа.

Жизнь организма невозможна без получения энергии, источниками которой являются углеводы, жиры и белки. Метаболизм осуществляет две основные противоположные цели: генерация энергии для осуществления жизненных функций и синтез различных молекул. Для достижения этих целей метаболизм включает два процесса – катаболизм и анаболизм. Катаболический путь направлен на получение энергии, тогда как анаболический путь потребляет эту энергию.

Катаболизм использует окислительный распад сложных органических молекул (углеводы, липиды, белки), получаемые из внешней среды или из клеточных запасов. Распад этих молекул приводит к образованию простых молекул, таких как CO_2 , H_2O , NH_3 , мочевины, молочной кислоты. При этом часто получаемая химическая энергия существует в форме АТФ.

Так как катаболизм имеет окислительный характер, то часть химической энергии может быть представлена как трансфер богатых энергией электронов на коферменты НАД⁺ и НАДФ⁺. Эти два восстановленных кофермента имеют очень различные метаболические роли: восстановление НАДН+Н⁺ является частью катаболизма, а окисление НАДФН+Н⁺ является важным аспектом анаболизма. Энергия, реализованная при окислении НАДН+Н⁺, используется для фосфорилирования АДФ в аэробных клетках и получения АТФ. Напротив, НАДФН+Н⁺ является источником восстанавливающих потенциалов, необходимых для различных биосинтезов (например, для жирных кислот, холестерина).

Анаболизм представляет собой процессы синтеза различных сложных биомолекул (полисахариды, липиды, белки, нуклеиновые кислоты) из простых предшественников. Эти синтезы вовлекают образование новых ковалентных связей, и затраты энергии являются необходимыми для осуществления этих эндергонических процессов. Эту энергию обеспечивает АТФ. Более того, НАДФН+Н⁺ является прекрасным донором богатых энергией электронов для восстановительных реакций анаболизма. Несмотря на расхождение ролей, катаболизм и анаболизм являются взаимосвязанными и продукты одного процесса являются субстратами для другого.

Катаболизм нутриентов (углеводы, жиры, белки) можно представить в виде трех стадий. Первая стадия протекает в пищеварительном тракте, где большие молекулы-полимеры при участии ферментов распадаются до простых субъединиц: белки до аминокислот, полисахара до простых сахаров, жиры до жирных кислот и глицерина. Во второй стадии эти простые субъединицы в клетках различных тканей претерпевают дальнейшую деградацию, когда атомы водорода и углерода сахаров конвертируются в общий конечный продукт – ацетил-КоА. Большие количества молекул ацетил-КоА образуются также при окислении жирных кислот. В третьей стадии молекулы ацетил-КоА в цикле лимонной кислоты полностью распадаются до СО₂ и Н₂О в митохондриях клеток. В этой финальной стадии реакции окислительного фосфорилирования фиксируют в форме АТФ (аккумулятор энергии) теоретически 50% энергии при окислении углеводов и жиров до СО₂ и Н₂О. Другая часть энергии рассеивается в виде тепла в соответствии со вторым законом термодинамики.

Окислительные реакции – экзэргонические, и энергия выделяется с образованием АТФ в процессе окислительного фосфорилирования. Система НАД⁺ – НАДН+Н⁺ может рассматриваться как шунт, который переносит электроны от катаболизируемых субстратов в митохондрии, где они переносятся на О₂, конечный акцептор электронов в процессе катаболизма. Цикл НАД является важным участником в трансформации энергии органических соединений в химическую энергию ангидридных фосфорных связей. Подобная трансформация энергии из одной формы в

другую рассматривается как энергия трансдукции. Окислительное фосфорилирование является одним клеточным механизмом для энергии трансдукции.

Если катаболизм является в целом окислительным процессом, то анаболизм носит восстановительный характер. Биосинтезы сложных соединений клеток начинаются на уровне реакций катаболизма или, можно сказать, на уровне CO_2 . В частности, активные ионы водорода необходимы для восстановления карбонильного углерода ($\text{C}=\text{O}$) ацетил-КоА в $-\text{CH}_2-$ углеродной цепи при синтезе жирной кислоты. При синтезе глюкозы из CO_2 в течение фотосинтеза в растениях требуются восстановительные эквиваленты, которые происходят из НАДФН+ H^+ . У гетеротрофных организмов эти электроны передаются от молекул-нутриентов с участием НАДФ $^+$ -специфических дегидрогеназ. У этих организмов НАДФН+ H^+ может рассматриваться как переносчик электронов от катаболических реакций в реакции анаболизма. У фотосинтетических организмов энергия света используется для передачи электронов от воды и трансфер затем на НАДФ $^+$.

Следует указать, что все живые организмы (животные и растения), в определенной мере условно, можно разделить на группы:

- организмы-производители (продуценты), синтезирующие органические вещества из неорганических. В их числе растения – важнейшие продуценты в биосфере;
- организмы-потребители (консументы), усваивающие органические вещества. В эту группу входят растительоядные, плотоядные, всеядные животные, включая человека;
- организмы-редуценты, способствующие превращению органических веществ (белки, жиры, углеводы) погибших организмов в неорганические (CO_2 , NH_3 , H_2O , минеральные вещества), вновь вовлекая их в биосферу.

Все ткани организма постоянно нуждаются в энергии для поддержания своих функций, однако они будут удовлетворены в энергии только тогда, если пищевые продукты вступают в процесс переваривания. У типичных плотоядных многие часы и даже дни проходят между приемами пищи, тогда как типичные травоядные тратят примерно одну треть своей жизни на руминацию. Лошади, например, при свободном выпасе на поедание травы затрачивают 10–12 часов в сутки. Всеядные (свиньи) едят 3–5 раз в день, затрачивая на каждый прием пищи 10–20 минут.

У домашних плотоядных и всеядных пищеварение и абсорбция пищи занимают около 4-х часов. Если животное принимает пищу 3 раза в день, клетки организма получают энергию в форме нутриентов из кишечника в течение 12 часов в сутки. В течение оставшихся 12 часов желудок и тонкая кишка существенно опустошаются. Поэтому у плотояд-

ных и всеядных организм должен запастись энергией в период усвоения нутриентов и мобилизовать ее в периоды, когда экзогенные энергетические субстраты не поступают. Без альтернативных запасов и мобилизации питательных веществ могут быть большие колебания в экстраклеточной концентрации глюкозы и других богатых энергией веществ.

У травоядных животных, и, в частности, у жвачных, пищеварение является более длительным процессом, в котором не существует большого различия между абсорбционным и постабсорбционным периодами. В процессе пищеварения органические нутриенты распадаются до мелких молекул, которые могут быть абсорбированы из кишечника. Поступая в клетки, эти молекулы распадаются в конечном счете до CO_2 и H_2O . При этом энергия нутриентов в окислительных реакциях трансформируется в АТФ. Энергия АТФ может быть использована на мышечные сокращения, на трансмембранный перенос веществ, на синтетические процессы. Если организм не использует полностью нутриенты, поступающие из кишечника, их избыток депонируется в форме гликогена и липидов. Большинство резервов энергии организма представлено триглицеридами, запасаемых в жировой ткани.

Печень играет ключевую роль в метаболизме и конверсии нутриентов. Например, аминокислоты могут быть конвертированы в глюкозу и жирные кислоты. Так как один вид нутриентов может быть трансформирован в другой, то количества углеводов, белков и липидов в кормах могут значительно варьировать без негативных последствий. У жвачных большое количество аминокислот являются результатом синтеза микробияльного белка в преджелудках. Поэтому аминокислотный состав кормов рациона менее важен у жвачных, чем у моногастричных животных.

В период абсорбции у плотоядных и всеядных углеводы усваиваются в форме глюкозы, а у всех млекопитающих белки абсорбируются в виде аминокислот. Глюкоза и аминокислоты транспортируются из просвета тонкого кишечника в кишечные капилляры, а затем через портальную вену в капилляры печени. Напротив, липиды транспортируются из кишечника в лимфу, и таким образом, легочные капилляры являются первой сетью, через которую проходят липиды кормов.

Корма обычно содержат небольшие углеводы, такие как глюкоза, лактоза, сахароза, и большие молекулы – крахмал, гликоген, клетчатка. Глюкоза – основной углевод, абсорбируемый из кишечника, а галактоза и фруктоза способны конвертироваться в глюкозу. У жвачных большинство углеводов трансформируются в летучие жирные кислоты (ЛЖК) ферментами микрофлоры в преджелудках. У моногастричных травоядных подобный метаболизм клетчатки имеет место в толстом кишечнике.

В печени часть глюкозы запасается в форме гликогена, а часть превращается в липиды. Глюкоза также важна для мышечных клеток, где она депонируется в форме гликогена. Концентрация глюкозы в циркуля-

ции крови никогда не бывает высокой, так как ее избыток трансформируется в гликоген или поступает в жировую ткань, где конвертируется в триглицериды. Гликоген составляет примерно 5% массы печени. Если поступления глюкозы продолжаются, тогда печеночные клетки у моногастрических животных синтезируют триглицериды из глюкозы. У жвачных меньшие количества глюкозы доступны для синтеза липидов в печени.

Небольшая часть липидов, синтезируемых в печени из глюкозы, остается в печени, но основная часть поступает в кровь в форме комплексов триглицеридов, фосфолипидов, холестерина и белков. Эти комплексы названы липопротеинами очень низкой плотности (ЛПОНП). Они подобны хиломикронам, синтезируемым в эпителии тонкого кишечника. ЛПОНП – водорастворимые крупные комплексы не проникают сквозь капиллярные стенки. При участии липопротеин-липазы они распадаются на эндотелии капилляров жировой ткани и в меньшей мере в скелетной и сердечной мышце, конвертируются в моноглицериды, свободные жирные кислоты и глицерин.

Свободные жирные кислоты затем либо проникают в клетки, где они взаимодействуют с глицерофосфатом в синтезе вновь триглицеридов, либо транспортируются в плазму в связи с альбумином. Из плазмы кислоты поступают в различные ткани, где используются как источники энергии.

Избыток жиров пищи запасается в форме триглицеридов в жировой ткани, а в случае высокого уровня жиров пищи может увеличить риск возникновения атеросклероза. При низком содержании жиров в рационе возможен риск дефицита незаменимых жирных кислот, таких как линолевая, линоленовая. Арахидоновая кислота может быть синтезирована из линолевой, а поэтому она также рассматривается как незаменимая. Незаменимые жирные кислоты являются ключевыми компонентами биологических мембран. Арахидоновая кислота является прекурсором простагландинов, обеспечивающих разнообразие химических процессов в организме.

Таким образом, в фазу абсорбции глюкоза используется как источник энергии, запасается как гликоген в печени и скелетных мышцах и трансформируется в триглицериды в печени. Триглицериды выходят из печени как компонент ЛПОНП, направляемых в жировую ткань. Глюкоза также поступает в жировую ткань, где используется на синтез триглицеридов.

Липиды кормов транспортируются из эпителиальных клеток кишечника в форме хиломикронов и запасаются в жировой ткани как триглицериды. После приема пищи содержание липидов в крови повышается. При этом липиды крови представляют хиломикроны, поступающие в кровь из лимфы, и липиды, синтезируемые в печени. Хиломикроны живут около 10 минут и быстро выходят из крови. Однако после приема

жирной пищи лишь спустя 4–5 ч все абсорбированные липиды удаляются из плазмы. В течение этого периода плазма может иметь молочный оттенок, что объясняется большой концентрацией в ней липидов.

Липопротеин-липаза гидролизует триглицериды хиломикрон, прочно фиксированных на капиллярной стенке, что приводит к получению моноглицеридов, свободных жирных кислот и глицерина. Жирные кислоты, проходя сквозь эндотелиальные клетки, используются на синтез триглицеридов в жировой ткани, молочной железе, в других органах.

Оставшиеся частицы, названные остаточными хиломикронами, содержат меньше глицеридов, чем оригинальные хиломикроны, связываются с холестерином. Поступая в печень, они распадаются на свободные жирные кислоты, глицерин, свободный холестерин и аминокислоты. Таким образом, хиломикроны транспортируют большинство триглицеридов в жировую ткань и доставляют холестерин пищи в печень. При нормальной концентрации глюкозы в крови только глицерин, как компонент триглицеридов в жировой ткани, является производным глюкозы.

Если свободные жирные кислоты связываются с альбуминами, то все другие липиды транспортируются в форме липопротеинов, большинство из которых синтезируются в печени, за исключением хиломикрон из кишечника. Основная функция липопротеинов – транспорт липидов в кровь.

Липопротеины включают триглицериды, фосфолипиды, холестерин и специфические белки. Белки, связанные с комплексами липопротеинов, называются апопротеинами. Апопротеины опознаются специфическими мембранными рецепторами и функционируют как регуляторы входа и выхода липидов на клетках-мишенях.

Липопротеины плазмы классифицируются согласно их плотности. Триглицериды имеют наименьшую плотность по сравнению с белками. Поэтому липопротеиновый комплекс будет иметь наибольшую плотность, если в нем больше белка и меньше липидов.

Различают четыре основных класса липопротеинов в крови:

- хиломикроны;
- липопротеины очень низкой плотности (ЛПОНП);
- липопротеины низкой плотности (ЛПНП);
- липопротеины высокой плотности (ЛПВП).

Хиломикроны, которые формируются исключительно эпителиальными клетками в тонком кишечнике, содержат в основном триглицериды (свыше 90%) и являются наиболее легкими и крупными.

ЛПОНП и ЛПНП содержат около 60% триглицеридов, они формируются в печени, особенно в постабсорбционный период. ЛПОНП транспортируют триглицериды в основном в клетки жировой ткани. Освобождаясь от триглицеридов, ЛПОНП трансформируются в ЛПНП. В отличие от ЛПОНП ЛПНП не формируются в печени. ЛПНП богаты

холестерином; они транспортируют холестерин в клетки. Под влиянием лизосомальных ферментов ЛПНП распадаются, и холестерин поступает на синтез мембран клеток, стероидных гормонов в надпочечниках, плаценте, семенниках, на синтез желчных кислот в печени, на синтез витамина D. Клетки получают постоянно холестерин из ЛПНП в крови. Холестерин выводится из организма в основном в форме желчных солей.

ЛПВП, синтезированные в печени, собирают избыток холестерина из клеток и транспортируют его в печень, где он поступает в желчь в свободном состоянии и в виде желчных солей. ЛПВП рассматривают часто как «хорошую» форму холестерина, так как он снижает отложение этого в стенках артерий. Напротив, ЛПНП, транспортирующий холестерин в клетки, называют «плохим» холестерином. В медицинской клинической лабораторной диагностике широко используется отношение ЛПВП/ЛПНП. Данный показатель будет служить индикатором риска сердечно-сосудистой патологии. При высоком отношении снижается риск возникновения атеросклероза.

Белки абсорбируются из тонкого кишечника исключительно в форме свободных аминокислот. Аминокислоты поступают в печень, где используются на синтез различных белков, таких как альбумины, фибриноген, факторы свертывания крови, различные ферменты, гормоны, белки системы комплемента. Часть этих аминокислот трансформируется в кетокислоты. Кето-кислоты могут быть превращены в глюкозу, гликоген или жирные кислоты. Часть аминокислот из тонкого кишечника поступает в циркуляцию крови, а затем распределяется по всем клеткам и тканям организма для синтеза уникальных белков. Аминокислоты могут использоваться как «топливо» в случаях низкой концентрации глюкозы в крови. Избыток аминокислот в организме может поступить на синтез жиров или гликогена. Однако в экстремальных условиях (при голодании, например) белки различных тканей могут оказаться даже единственным источником энергии для организма животного. Деградация белков приводит к образованию аммиака. Печень трансформирует NH_3 в мочевины – метаболитически инертную молекулу. У моногастрических животных почки экскретируют почти всю мочевины. У жвачных мочевины из плазмы и со слюной поступает в рубец, где может быть использована микрофлорой на синтез белков. У птиц аминокислоты идут на синтез мочевой кислоты, которая, подобно мочевины, метаболитически инертна и поступает в мочу.

Таким образом, углеводы, жиры и белки являются для организма источниками энергии. Углеводы, жиры и белки, поступающие в организм в избытке, запасаются в форме гликогена и жировой ткани.

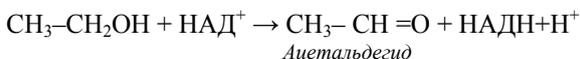
Говоря об энергетических субстратах, следует напомнить о роли алкоголя в жизни человека. В экономически развитых странах существенный вклад в суммарную калорийность рационов вносят спиртные напитки, которые могут составлять до 12% общей калорийности пищи.

Действительно, окисление 1 г этилового спирта приводит к выделению 7 ккал энергии (А. Ленинджер, 1985).

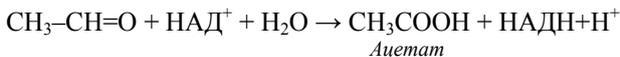
Вино практически не содержит жиров, содержание белков небольшое (1–2 г/л). Спиртовое брожение под действием дрожжей превращает сахара виноградного сока в этанол. Содержание этанола в вине крепостью 9 об% составляет 75 г/л, в сладком вине крепостью 12 об% – 160 г/л. Основные макроэлементы вина – калий, кальций и магний, которые ионизированы и хорошо абсорбируются в тонком кишечнике.

История вина (вино по-санскритски – «любимый») – это история человечества. Тысячелетиями, сопровождая человека, вино имело две ипостаси: священную и вульгарную. Вино – достояние культуры и фактор общественной жизни. Благодаря своим достоинствам вино упоминается в Библии 450 раз. Вавилонский Талмуд также считает вино одним из самых эффективных лечебных средств (М. Монтиньяк, 1999).

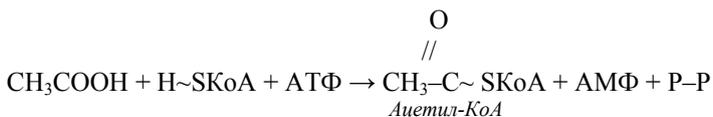
Катаболизм этанола представляется следующим образом: в печени человека под влиянием фермента цитозоля алкоголь-дегидрогеназы (КФ 1.1.1.1) этанол окисляется до ацетальдегида:



Под влиянием митохондриального фермента альдегид-дегидрогеназы (КФ 1.2.1.3) ацетальдегид окисляется до ацетата:



В свою очередь, ацетат при участии фермента ацетил-КоА-лигазы (КФ 6.2.1.1) образует ацетил-КоА:



Полученный избыток ацетил-КоА частично окисляется в цикле трикарбоновых кислот или поступает на синтез жирных кислот, кетонových тел. При этом повышение количества НАДН+H⁺ снижает окисление лактата и степень глюконеогенеза. Поэтому длительное неумеренное потребление спиртных напитков, как правило, приводит, в конечном счете, к жировой дистрофии.

Концентрация глюкозы в крови несколько снижается в постабсорбционный период, но не падает ниже физиологической нормы. Головной мозг не имеет запасов глюкозы, но в первую очередь использует глюкозу как источник энергии. Эритроциты и мозговой слой почек пол-

ностью зависят от глюкозы как источника энергии, как и скелетные мышцы, функционирующие в анаэробных условиях.

Концентрация глюкозы в крови сохраняется постоянной тремя факторами:

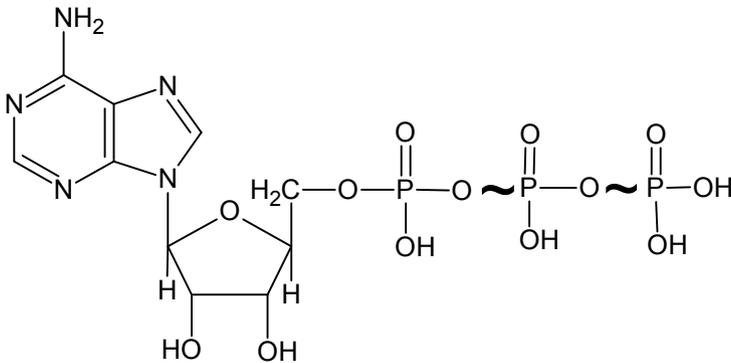
- мобилизация гликогена из запасов печени;
- глюконеогенез;
- использование жиров как источников энергии.

Реакции окисления углеводов, жиров и белков являются экзэргоническими, то есть протекают с высвобождением энергии. Чтобы рассеять выделение энергии, в живых системах процесс окисления разбит на несколько реакций, каждая из которых протекает с выделением определенной порции энергии. Это позволяет осуществлять регуляторный контроль над различными этапами процесса.

Итак, преодоление энергетического барьера в любой биохимической реакции организма требует определенного усилия извне, которое, как уже было отмечено выше, обеспечивается энергией Солнца. Встает вопрос: каков механизм этого процесса, то есть каким образом совершается эта работа по преодолению энтропии?

Известно, что существуют несколько видов энергии – тепловая, электрическая, химическая. Если энергия не имеет приложения, то она рассеивается в виде тепла. Но какой вид энергии используется в живых системах? В клетках животных и растений используются унифицированные носители энергии, которыми являются так называемые макроэргические соединения, содержащие особую химическую связь, заключающую в себе химическую энергию. При гидролизе этой макроэргической связи и происходит выделение энергии, направляемой на выполнение механической работы.

Главенствующим макроэргическим соединением в живой клетке является молекула аденозинтрифосфорная кислота (АТФ).



АТФ

Большинство процессов в живом организме, сопровождающихся освобождением свободной энергии, сопряжено с одним и тем же процессом – синтезом АТФ. Расщепление АТФ – высоко экзэргическая реакция. В молекуле АТФ атомы кислорода всех трех фосфатных остатков несут примерно одинаковый отрицательный заряд, тогда как атомы фосфора заряжены положительно. Одной из причин относительной нестабильности фосфоангидридных связей является сильное отталкивание отрицательно заряженных атомов кислорода, которое ослабевает при гидролитическом отщеплении концевой фосфатной группы. Поэтому такие реакции являются высоко экзэргоническими. Кроме того, при гидролизе АТФ возникает свободный фосфат-анион, который лучше гидратирован и более эффективно стабилизирован за счет сопряжения, чем соответствующий остаток в АТФ.

В физиологических условиях энергия гидролиза АТФ до АДФ и неорганического фосфата составляет 50 кДж/моль:



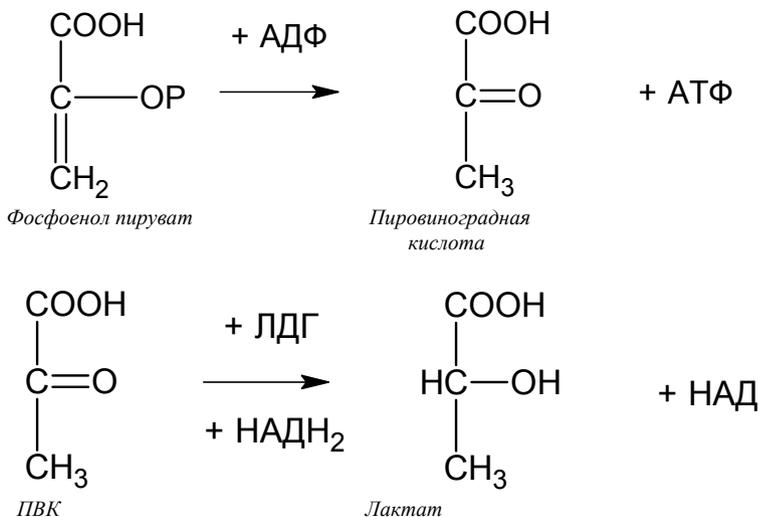
В клетках живого организма непрерывно происходит как гидролиз молекул АТФ, так и их регенерация. Так как синтез АТФ является высоко эндэргонической реакцией, он должен сопрягаться с другим высоко экзэргоническим процессом. В ходе эволюции сформировались два важных способа синтеза АТФ, которые реализуются во всех живых клетках.

Наиболее эффективный механизм синтеза АТФ из АДФ и неорганического фосфата использует энергию градиента электрохимического потенциала в митохондриях. Энергия для создания такого градиента возникает в результате окислительно-восстановительного процесса. Этот механизм, сопряженный с реакциями цепи биологического окисления, носит название окислительного фосфорилирования. Окислительное фосфорилирование происходит только в присутствии кислорода (в аэробных условиях).

Если митохондрии конвертируют энергию, извлекаемую из пищевых продуктов (углеводы, жиры, белки), то хлоропласты конвертируют энергию солнечных лучей. Оба эти пути используют энергию для биологических целей посредством процесса хемиосмотического спаривания. Эта энергия направлена на трансфер ионов H^+ с одной стороны мембраны на другую, что генерирует электрохимический протонный градиент, который используется затем на осуществление различных энерготребуемых реакций в митохондриях, хлоропластах и для бактерий. В первую очередь энергия потока H^+ используется АТФ-азой на синтез АТФ из АДФ и неорганического фосфата.

Второй эволюционно более ранний механизм синтеза АТФ осуществляется в цитоплазме клеток в анаэробных условиях. Он основан на переносе фосфатных остатков на АДФ через метаболит с высоким потен-

циалом переноса фосфатных групп (способ субстратного фосфорилирования).



Реакция имеет окислительно-восстановительный характер и катализируется сложным ферментом лактатдегидрогеназой (ЛДГ). Эта последняя реакция в цепи анаэробного гликолиза возможна потому, что в анаэробных условиях водород не переносится по цепи реакций биологического окисления на конечный акцептор – кислород, а поступает на неопредельную пировиноградную кислоту, образуя молочную кислоту.

Гликолиз превращает глюкозу в пируват с получением из нее двух молекул АТФ – только малое количество потенциальной энергии из молекулы глюкозы. В анаэробных условиях пируват восстанавливается в молочную кислоту в организме животного, и в этанол в дрожжах, и таким образом, большая часть потенциальной энергии молекулы глюкозы остается не востребованной.

Процесс фотосинтеза сделал доступным кислород для живых организмов. Кислород – высокотоксичный элемент, а поэтому окислительные реакции способны изменять биологические молекулы. Многие существующие сегодня анаэробные бактерии быстро разрушаются под влиянием кислорода воздуха. Поэтому первые живые организмы Земли должны были вырабатывать защитные механизмы против возрастания уровня кислорода в окружающей среде. Увеличение кислорода в атмосфере происходило очень медленно вначале. Ранние моря содержали большие количества Fe^{2+} и почти все количество O_2 , производимое ранними фотосинтезирующими бактериями, было использовано для превращения ионов Fe^{2+} в Fe^{3+} . Со временем уровень O_2 в атмосфере стал возрастать;

потребовалось более одного миллиарда лет между развитием цианобактерий – первых организмов, использующих кислород, и периодом времени, когда наступила аккумуляция O_2 в атмосфере.

Появление биодоступности O_2 привело к развитию бактерий, живущих в условиях аэробноза. Электрон-транспортующие цепи стали приобретать адаптацию для трансфера электронов от НАДН+ H^+ на кислород с развитием аэробного метаболизма у многих видов бактерий.

Таким образом, наличие кислорода в атмосфере привело дополнительно к гликолизу, к возникновению аэробного метаболизма. Реакции аэробного метаболизма возникают в клетке после получения конечного продукта гликолиза – пирувата. В аэробных условиях пируват конвертируется в ацетил-КоА и окисляется до CO_2 в цикле трикарбоновых кислот (в цикле Кребса). Освобождающиеся электроны за счет окислительных процессов проходят через НАДН+ H^+ и ФАДН $_2$ на кислород – конечный акцептор электронов. Транспорт электронов сопряжен с созданием протонного градиента через мембраны. Этот градиент представляет энергетическое состояние, и эта энергия поступает на синтез АТФ. Синтез АТФ как результат трансфера электронов назван окислительным фосфорилированием. В цикле трикарбоновых кислот продукция АТФ составляет 30 молекул из 38 молекул в расчете на окисляемую молекулу глюкозы. При этом восстановительные эквиваленты, возникающие в окислительных реакциях гликолиза, окисления пирувата и цикла трикарбоновых кислот находятся в форме коферментов НАДН+ H^+ , ФАДН $_2$.

Химическая логика цикла трикарбоновых кислот состоит в том, что атомы углерода поступают в цикл в форме ацетил-КоА, а покидают этот цикл в виде CO_2 . При этом метаболическая энергия находится в форме АТФ, НАДН и ФАДН $_2$.

Цикл трикарбоновых кислот является центральным звеном метаболизма клетки, так как в его реакции происходит полное окисление углеводов, жиров, белков с высокой степенью эффективности. Действительно, при аэробном окислении глюкозы до CO_2 и H_2O освобождающаяся энергия составляет 688 ккал/моль. Из них в 38 молекулах АТФ энергия составляет 380 ккал. Следовательно, эффективность окисления глюкозы в аэробных условиях с получением АТФ превышает 40%, что значительно превышает эффективность (КПД) большинства механических производимых энергию машин.

В анаэробных условиях клетка получает лишь две молекулы АТФ. Следовательно, эффективность использования глюкозы в аэробных условиях выше, чем в анаэробных условиях, в 19 раз.

Следует отметить, что все реакции окисления: окисление триофосфата, пирувата, реакции цикла трикарбоновых кислот – конкурируют в синтезе АТФ из АДФ и неорганического фосфата (эффект Пастера). На ранних стадиях цикла трикарбоновых кислот его кислоты могут

выходить из цикла для участия в синтезе других соединений клетки, хотя и без нарушения функционирования самого цикла. Различные факторы клетки вовлекаются в регуляцию активности цикла трикарбоновых кислот. Среди них – поступление молекул ацетил-КоА, активность пируватдегидразного комплекса, наличие НАД, ФАД, активность дыхательной цепи и сопряженным с ней окислительным фосфорилированием.

Пищевые молекулы белков, жиров, углеводов обладают значительным запасом потенциальной энергии в силу сложности своей структуры. При распаде этих молекул (глюкоза, жирные кислоты, аминокислоты) выделяется значительное количество свободной энергии. Свободная энергия является формой энергии, которая может быть использована для выполнения работы при постоянной температуре и постоянном давлении. Если свободная энергия не будет аккумулирована каким-либо способом, то она перейдет в тепло. Однако тепловая энергия необходима организму животного или человека лишь для поддержания температуры тела и не может использоваться для механической работы или химической работы биосинтезов.

В живом организме значительная доля свободной энергии, выделяющейся при катаболизме глюкозы, жирной кислоты и других источников клеточного топлива, сохраняется за счет сопряженного с реакциями биологического окисления окислительного фосфорилирования с получением высокоэнергетического соединения – аденозинтрифосфата (АТФ). В процессе окислительного фосфорилирования в митохондриях клетки получают 95% всего количества АТФ в организме.

Отметим, что меньшая часть свободной энергии запасается также в богатых энергией атомах водорода восстановленной формы кофермента никотинамидадениндинуклеотидфосфата (НАДН+Н⁺).

Химическая энергия АТФ может быть направлена на выполнение четырех видов работы:

- различные виды синтеза в клетке;
- процессы движения и мышечного сокращения;
- транспорт питательных веществ через мембраны против градиента концентрации;
- передача генетической информации в обменах белков и нуклеиновых кислот.

Таким образом, для клеток живого организма пригодна свободная энергия, способная выполнять различные работы при постоянной температуре и давлении. В свою очередь, свободная энергия переводится в химическую энергию.

В международной системе (SI) единицей энергии является «Джоуль» (Дж. Джоуль – англ. физик, 1818–1889 гг.), тогда как в биологии за единицу энергии принята «калория». 1,0 калория = 4,18 Джоуля.

Впервые в 1941 г. биохимик Ф. Липман (род. в 1899 г. в Германии, Нобел. премия, 1953 г.) показал универсальную роль АТФ как переносчика химической энергии в организме.

АТФ – нуклеотид, состоящий из пуринового основания аденина, сахара рибозы и трех фосфатных групп. АТФ находится как в цитозоле, так и в ядре, митохондриях клеток. Распадаясь на АДФ и фосфат, АТФ отдает значительное количество своей химической энергии процессам, нуждающимся в энергии. Поэтому, АТФ выполняет роль переносчика химической энергии, связывая реакции, идущие с выделением и с потреблением энергии.

При гидролизе АТФ выделяется количество свободной энергии – 7,3 ккал/моль (при гидролизе глюкозо-6-фосфата – 3,3 ккал/моль), поэтому АТФ был отнесен к высокоэнергетическим соединениям. Продукты гидролиза АТФ – АДФ³⁻ и HPO_4^{2-} – переходят на более низкие энергетические уровни, чем в нативной молекуле АТФ. Отделение этих двух анионов друг от друга сопровождается снижением запаса свободной энергии. Следовательно, свободная энергия гидролиза АТФ своим происхождением обязана не разрыву специфической фосфатной связи, а тому, что продукты этого гидролиза содержат меньше свободной энергии, по сравнению с цельной молекулой АТФ.

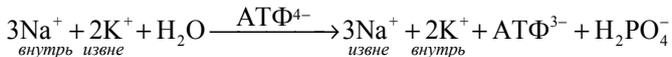
Следует отметить, что в клетках имеются соединения (фосфоенолпируват, карбамоилфосфат, креатинфосфат), аккумулирующие в себе значительно большее количество энергии по сравнению с АТФ (14,8; 12,3 и 10,3 ккал/моль, соответственно).

Какое количество АТФ синтезируется в течение суток в организме человека? Представим следующий расчет: в среднем взрослый человек в сутки затрачивает 1800 ккал. При гидролизе 1 моля АТФ при стандартных условиях затрачивается энергия 7,3 ккал. Это значит, что для синтеза (или для гидролиза) необходимо иметь 246 молей АТФ. Масса одного моля АТФ составляет 506 г, отсюда: $506 \text{ г} \cdot 246 = 120\,000 \text{ г}$. Если КПД использования энергии принять за 50% (из курса биологической химии), то фактически в организме человека в течение суток будет синтезировано и одновременно разрушено около 60 кг АТФ. Подобный расчет можно выполнить и для организма животного.

АТФ в организме расходуется на различные цели: на мембранный транспорт, секрецию различных веществ, биосинтезы, регенерации, физические работы, теплопродукцию. Все клетки животных активно экспортируют ионы Na^+ и аккумулируют ионы K^+ . Эти два транспортных процесса обеспечиваются $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{АТФ-азой}$, интегральным белком плазматической мембраны. Межклеточная среда обычно содержит около 100–140 мМ ионов Na^+ и 5–10 мМ ионов K^+ . Калий необходим внутри клеток для активирования различных процессов, тогда как высокие кон-

центрации натрия угнетают эти процессы. Животные клетки также зависят от градиента Na^+ и K^+ для осуществления транспортных процессов, вовлекающих аминокислоты, сахара, нуклеотиды.

В частности, одна молекула АТФ затрачивается для удаления из клетки сквозь мембрану трех ионов Na^+ и двух ионов K^+ внутрь клетки.

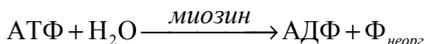


Для поддержания градиентов ионов натрия и калия затрачивается свыше 20% общей метаболической энергии животных клеток и свыше 70% – в нервной ткани. Поэтому в организме функционирует система восстановления количества АТФ – энергетический гомеостаз. Для углеводов – это путь гликолиза (гликогенолиза), цикла лимонной кислоты. Для жиров – путь бета-окисления жирных кислот. В условиях кратковременного стресса в тканях окисляются преимущественно углеводы. При хроническом стрессе – одни ткани (мозг, эритроциты) продолжают окислять углеводы, другие ткани (мышцы, сердце) переключаются на использование жирных кислот. На окисление липидов (кетоновых тел) может переключаться даже мозг (Л. Е. Панин, 1983).

Энергия АТФ служит для активизации молекул, участвующих в многочисленных синтезах. Так, при участии специфических киназ фосфатные группировки высокоэнергетических соединений могут поступать на АДФ, и тем самым осуществлять синтез АТФ. Другие специфические киназы обеспечивают перенос крайней фосфатной группировки АТФ на молекулы – рецепторы, превращая их в фосфорилированные (низкоэнергетические) активные соединения, легко вступающие в реакции синтезов. Поэтому логично считать, что АТФ в метаболизме выступает как универсальный переносчик фосфатных группировок.

Энергия АТФ также используется для функционирования сократительных скелетных мышц – актиновых и миозиновых нитей, как для сокращения мышц, так и для их расслабления. Поперечнополосатая мышца позвоночных включает белковые толстые и тонкие нити.

Миозин – сравнительно большой белок (500 кДа) толстых нитей. Актин – основной компонент тонких нитей (42 кДа). Эти белки взаимно перекрываются и скользят относительно друг друга. Миозин, обладая ферментативной активностью, гидролизует АТФ, что и обеспечивает выход свободной энергии для сокращения мышцы:

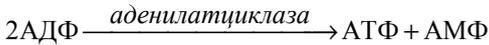


Сокращение мышцы регулируется концентрацией Ca^{2+} саркоплазматического ретикулума клетки. Нервный импульс освобождает Ca^{2+}

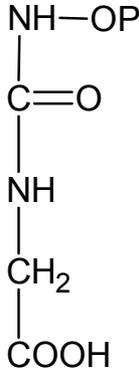
из ретикулума, под влиянием которого активируется система: тропонин – тропомиозин – актин – миозин, приводя к мышечному сокращению.

После прекращения нервного импульса кальций из саркоплазмы переходит в саркоплазматический ретикулум, активность тропонина прекращается и происходит расслабление мышцы. Таким образом, указанная система является уникальным типом химического двигателя, который осуществляет преобразование химической энергии в механическую в условиях живого организма.

В интенсивно работающей мышце количество АТФ может обеспечить сократительную активность лишь на протяжении доли секунды, но при этом повышается концентрация АДФ. В этих условиях повышение концентрации АТФ обеспечивается за счет обратимой аденилатциклязной реакции:

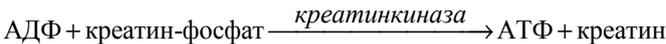


Однако в мышцах с более высоким потенциалом переноса высокоэнергетических фосфатных группировок обладает креатин-фосфат (фосфаген):



Креатин-фосфат

Креатин-фосфат, или фосфо-креатин, служит готовым источником фосфатной группировки для осуществления быстрого синтеза АТФ из АДФ. Концентрация креатин-фосфата в скелетных мышцах около 30 мМ, что примерно в 10 раз выше, чем концентрация АТФ. Фермент креатинкиназа катализирует обратимую реакцию:



При неожиданной потребности в энергии АТФ креатин-фосфат служит резервуаром, используемым для повышения концентрации АТФ

значительно быстрее, по сравнению с получением АТФ обычными катаболическими путями. При отсутствии такой потребности уровень креатин-фосфата восстанавливается за счет обратимости креатинкиназной реакции.

АТФ является также поставщиком энергии для переноса ионов или молекул через мембраны в другую среду с их большей концентрацией, против градиента концентрации. Процессы транспорта являются основными потребителями энергии в почках и головном мозгу, которые потребляют две трети общей энергии, используемой в этих тканях для переноса Na^+ и K^+ сквозь плазматические мембраны с участием Na^+/K^+ -АТФ-азы.

Следует напомнить, что помимо АТФ отдельные реакции в клетках используют аналоги АТФ как источники энергии: гуанозинтрифосфат (ГТФ), уридинтрифосфат (УТФ), цитидинтрифосфат (ЦТФ).

Наземные растения осуществляют свои обмены всеми проникаемыми частями своей поверхности: корнями в почве, стеблем, листьями, цветами и фруктами. В обмене веществ листья в силу их большой поверхности и числа устьиц являются главенствующими.

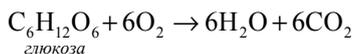
Простейшие одноклеточные организмы осуществляют обмен кислорода и углекислого газа непосредственно в среде, в которой они живут. У большинства многоклеточных организмов кровь наделена функцией транспорта газов и питательных веществ по всем органам и тканям. В частности, у человека этот обмен осуществляется на общей площади около 200 м^2 .

Эволюция всегда имеет консервативный характер, что-то удаляя, и на этом месте строя что-то новое. Так трансфер электронов, который служил анаэробным бактериям 3–4 млрд лет назад, вероятно в альтернативной форме имеет место сегодня в митохондриях и хлоропластах эукариотов.

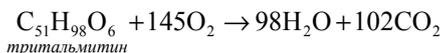
В медицинской практике используется метод измерения метаболизма на основе непрямой калориметрии, который позволяет определить потребление кислорода организмом. При этом количество теплопродукции вычисляют на основе дыхательного коэффициента или молярного отношения объема выделенного CO_2 к объему потребленного животным O_2 .

Известно, что одна грамм-молекула любого газа при определенных условиях имеет определенный объем.

Например:



Следовательно, дыхательный коэффициент при окислении углеводов равен 1,0.



триглицериды



белок

Представленные уравнения показывают, что дыхательный коэффициент при окислении жиров – 0,71, при окислении белков – 0,81.

Контрольные вопросы

1. Что такое метаболизм?
2. Автотрофы и гетеротрофы.
3. Катаболизм основных нутриентов.
4. Роль основных макроэргов в организме.
5. В чем заключается сущность гликолиза?
6. В чем заключается молекулярная логика аэробного катаболизма нутриентов?
7. Фундаментальная роль цикла трикарбоновых кислот (ЦТК).
8. Связь ЦТК с реакциями биологического окисления.
9. Объясните роль фермента креатинкиназы в энергетике организма.

ФОТОСИНТЕЗ

Фотосинтез – это процесс превращения растениями и фотосинтезирующими микроорганизмами солнечной энергии в энергию химических связей органических веществ. Фотосинтез характерен не только знакомым зеленым растениям, но и эукариотам, таким как микроскопические водоросли, а также фотосинтезирующие прокариоты – цианобактерии. Около половины всего фотосинтеза на нашей планете происходит в водной среде (океаны, моря, озера, реки) с участием микроорганизмов (фитопланктона) (А. Ленинджер, 1985). Благодаря фотосинтезу первых зеленых организмов в первичной атмосфере Земли появился кислород, возник озоновый экран, возникли условия для биологической эволюции. В 1966 г. был организован институт фотосинтеза АН СССР. Первым источником энергии для всех живых организмов Земли являются различные солнечные излучения и аккумуляция их в молекулах хлорофилла – основа всей потенциальной энергии, которую растительный мир дарит животному миру. Следует сказать, что объем Солнца в миллион раз превышает объем земного шара. Ученые полагают, что формирование Солнца произошло около 5 млрд 400 млн лет назад. Приятно сознавать, что по расчетам ученых Солнце будет еще существовать 5 млрд лет, отдавая свою энергию планете Земля. Энергия солнечных лучей запасается в виде химических связей фотосинтезирующими организмами, а остальные «жители» Земли используют энергию этих связей для получения макроэргов.

Фотосинтезирующие растения запасают солнечную энергию в форме АТФ и НАДФН₂, которые необходимы для синтеза глюкозы и других углеводов из воды и двуокиси углерода. При этом в атмосферу выделяется кислород. В свою очередь аэробные гетеротрофы используют кислород для окисления органических продуктов фотосинтеза до воды и двуокиси углерода, вновь необходимых для фотосинтезирующих клеток. Следовательно, солнечная энергия является движущей силой для круговорота СО₂ и Н₂О в атмосфере. В этом проявляется сбалансированность функций фотосинтезирующих и гетеротрофных клеток.

Энергия, используемая всеми живыми организмами, в конечном счете является энергией Солнца. Полное количество энергии, излучаемое Солнцем, составляет 9·10²² ккал/с. Однако поверхности Земли достигает лишь небольшая ее часть. Но и достигнувшая нашей планеты энергия включается путем фотосинтеза в вещества растений, которые фиксируют порядка 1% поступающей лучистой энергии в виде химических связей органических веществ. Организмы животных и человека не способны напрямую использовать солнечную энергию для своих нужд, но они извлекают ее из органических веществ нутриентов.

Излучение Солнца, поступающее на земную поверхность, находится в диапазоне длины волны от 400 до 700 нм. Это излучение, или

белый свет, и несет энергию всему живому. Энергия солнечного света обеспечивает процесс фотосинтеза.

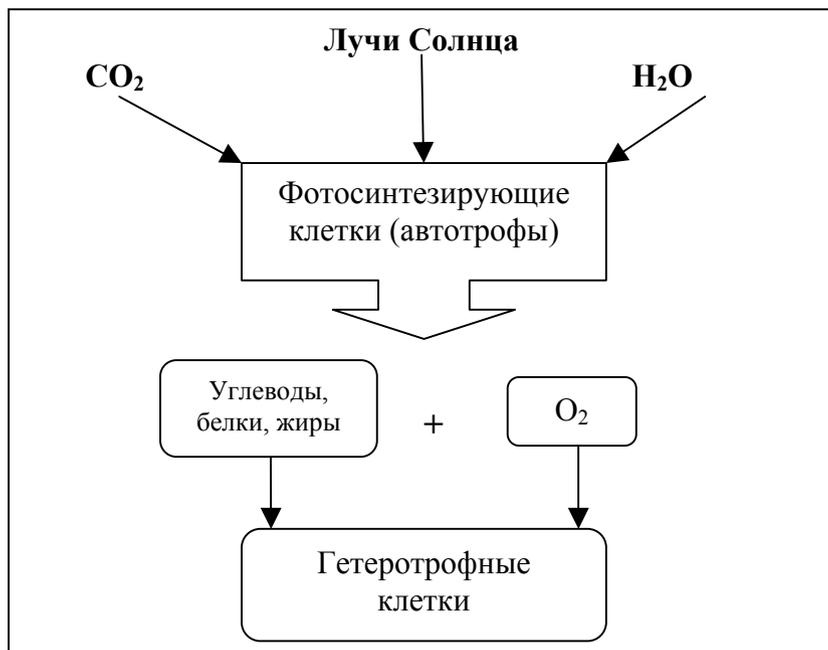
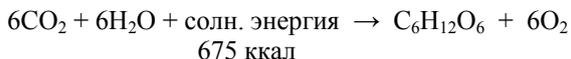


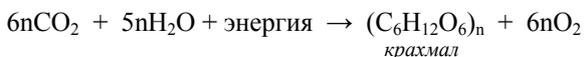
Рис. 5. Схема взаимодействия автотрофных и гетеротрофных организмов

Фотосинтез – это запасание энергии света и превращение ее в энергию химических связей различных молекул. Этот процесс осуществляется фотосинтезирующими организмами (водоросли, растения, фототрофные бактерии). За счет фотосинтеза как простые клетки прокариоты, так и огромные организмы, такие как *Sequoia gigantea* в Калифорнии, обеспечивают энергией, как себя, так и все аэробные нефотосинтезирующие организмы. Так, 1 м² поверхности листьев продуцирует примерно 1 г углеводов в час (G. Vogel, H. Angermann, 1994).

Принципиальное уравнение реакции фотосинтеза:



или



В этой реакции фотохимические превращения молекул хлорофиллов приводят к получению молекулярного кислорода; именно эта реакция является единственным источником кислорода на Земле. Именно в результате процесса фотосинтеза стало возможным использование кислорода в новой стадии жизни на нашей планете – в аэробном метаболизме. Отдельные растения (злаковые, ирис, тюльпан, лук-порей) синтезируют не крахмал, а простые сахара, такие как глюкоза, фруктоза, сахароза. Цианобактерии, серо-зеленые и пурпурные бактерии наделены фотосинтетической активностью. Эти прокариоты живут в водной среде. Цианобактерии используют H_2O для получения электронов и протонов.

Для серо-зеленых и пурпурных растений источниками электронов и протонов могут быть минералы: H_2S , H_2 , тиосульфат ($S_2O_3^{2-}$) и органические соединения (лактат, например). Процесс фотосинтеза у них происходит в хроматофорах. Градиент концентрации протонов между внешней и внутренней поверхностью мембран тилакоидов обеспечивает фотофосфорилирование. Энергия градиента обеспечивает образование АТФ, эту реакцию катализирует АТФ-синтаза мембран тилакоидов. Бактериальная АТФ-синтаза структурирована по модели синтазы хлоропластов.

Фотосинтезирующие бактерии не образуют и не используют молекулярный кислород; при этом многие из них являются облигатными анаэробами, и кислород для них представляет яд. В качестве доноров водорода для них может служить сероводород.

Лист осуществляет три важных процесса – фотосинтез, испарение воды и газообмен. В процессе фотосинтеза в листьях из H_2O и CO_2 под действием солнечных лучей синтезируются органические вещества. В дневное время в результате фотосинтеза и дыхания растение выделяет O_2 и CO_2 , а в ночное время – только CO_2 , как продукт тканевого дыхания. Большинство растений способно синтезировать хлорофилл при слабом освещении. При прямом солнечном освещении хлорофилл синтезируется активнее. Необходимая для фотосинтеза световая энергия в известных пределах поглощается тем больше, чем меньше затемнен лист. Поэтому у растений в процессе эволюции выработалась способность поворачивать пластину листа к свету таким образом, чтобы на нее падало больше солнечных лучей. Листья на растениях располагаются так, чтобы не притенять друг друга.

Миллионы лет назад органические соединения, необходимые для живых клеток, были продуцированы фотосинтезирующими организмами, включая многие типы фотосинтезирующих бактерий, такие как цианобактерии, которые имели минимальные пищевые потребности. Вероятно, что эволюция примитивных фотосинтезирующих бактерий и привела к

аэробным формам жизни. В растениях, которые развивались позднее, процесс фотосинтеза происходит в специализированных внутриклеточных органеллах – хлоропластах. Хлоропласты осуществляют фотосинтез в течение дневного времени. Продукты фотосинтеза используются непосредственно для биосинтезов и также конвертируются в низкомолекулярные сахара (обычно сахароза), которые необходимы для многих нефотосинтезирующих клеток растений. Альтернативно, продукты могут запасаться в форме осмотически инертных полисахаридов (обычно крахмал) для будущего использования.

Хлоропласты являются представителями семейства органелл растительных клеток, названных пластидами. Пластиды присутствуют во всех клетках растений, имея свои характерные особенности. Все пластиды развиваются из пропластидов – сравнительно мелких органелл, присутствующих в незрелых клетках растений. В условиях темноты пропластиды увеличиваются и развиваются в этиопласты, содержащие желтый хлорофилл, предшественник хлорофилла. На свету этиопласты быстро развиваются в хлоропласты, конвертируя этот предшественник в хлорофилл с синтезом новой мембраны, пигментов, фотосинтезирующих ферментов и компонентов цепи транспорта электронов.

Важно отметить, что пластиды являются не только местами фотосинтеза и депонирования запасных веществ. Пластиды принимают участие и в промежуточном метаболизме. Пластиды продуцируют энергию (АТФ) и восстановительные эквиваленты ($\text{НАДФН} + \text{H}^+$), которые используются в биосинтетических реакциях. Пурины и пиримидины, большинство аминокислот, а также синтезы жирных кислот растений имеют место в пластидах, тогда как в животных клетках эти компоненты продуцируются в цитозоле клеток.

Мы уже обращали внимание на сходство хлоропластов и митохондрий. Однако имеется важное различие между организацией митохондрии и таковой хлоропласта. Внутренняя мембрана хлоропласта (тилакоидная мембрана) не имеет крист и не содержит компонентов транспорта электронов. Эти компоненты и компоненты синтеза АТФ находятся на внутренней мембране в складчатой структуре, называемой тилакоидом (от *греч.* *thylakos* – мешок). В мембраны тилакоидов встроены фотосинтезирующие пигменты и ферменты, обеспечивающие синтез АТФ.

Жирные кислоты тилакоидной мембраны имеют много двойных связей, обеспечивающих большую текучесть этих мембран. Подобно внутренней мембране митохондрий тилакоидная мембрана непроницаема для многих ионов и молекул. Хлоропласты, как и митохондрии, имеют все компоненты синтеза белков (РНК, ДНК, рибосомы) и обладают

определенной автономией. Главным фотосинтезирующим пигментом является хлорофилл, который и обуславливает зеленый цвет хлоропластов. Расчеты показали, что в одном хлоропласте до 1 млрд молекул хлорофилла. Хлоропласты низших растений называют хроматофорами. Впервые в 1954 г. Д. Арнон и сотрудники установили способность хлоропластов растений фиксировать O_2 и выделять CO_2 . Процесс фотосинтеза уже многие годы привлекает к себе внимание ученых. Наука близка к разрешению важнейшего вопроса – искусственного создания при помощи световой энергии ценных органических веществ из широко распространенных неорганических веществ. Удалось искусственно осуществить синтез формальдегида и сахаристых веществ из водных растворов карбонатной кислоты; при этом роль поглотителя световой энергии вместо хлорофилла играли карбонаты кобальта и никеля. Недавно синтезирована молекула хлорофилла.

Фотосинтез включает две фазы:

1. Реакции световой фазы – световая (преобразование энергии), осуществляемая на тилакоидной мембране с продукцией НАДФН+ H^+ и АТФ.

2. Реакции темновой фазы (превращение вещества), совершаемые в строме хлоропласта, используют НАДФН+ H^+ и АТФ для синтеза 3-фосфо-глицеральдегида, прекурсора различных углеводов растений. Пути трансформации углерода в процессе фотосинтеза впервые показал профессор М. Кальвин (Нобел. премия, 1961 г.).

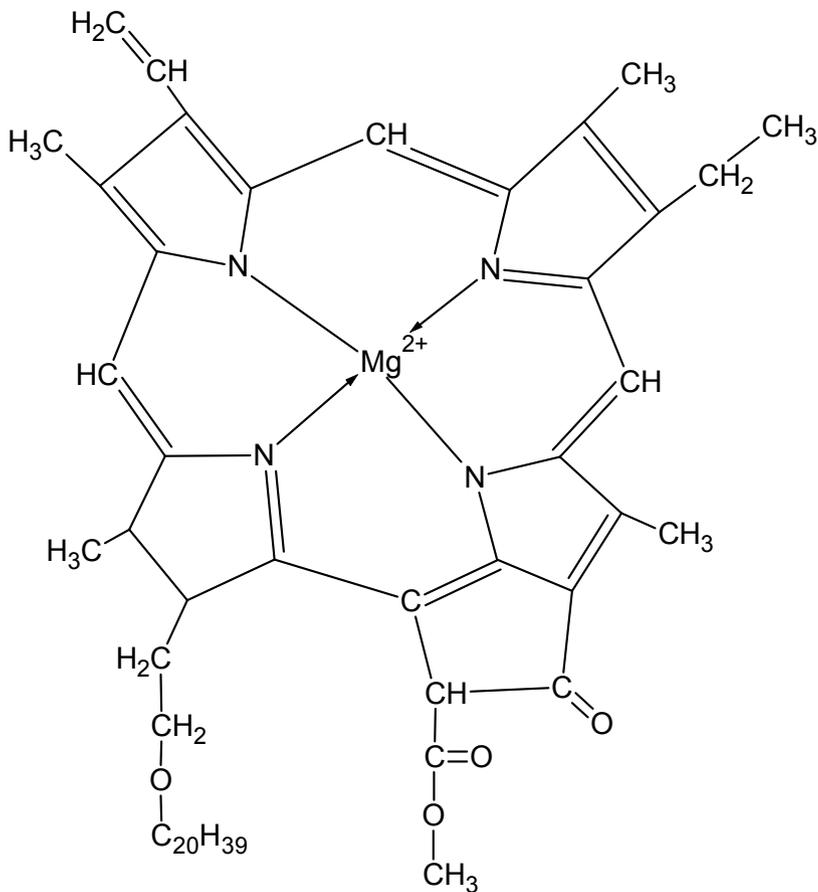
Световая фаза, протекающая на тилакоидной мембране, начинается с поглощения фотонов света молекулами хлорофилла, находящихся в низкоэнергетическом состоянии. Хлорофиллы являются фоторецепторами всех фотосинтезирующих клеток. Это зеленые пигменты, производные протопорфирина с атомом Mg в центре структуры. Хлорофиллы *a* и *b* являются преобладающими у эукариотов и цианобактерий, тогда как фотосинтезирующие пурпурные и зеленые бактерии содержат бактериохлорофиллы *a* и *b*.

Хлорофиллы организованы в фотосистемы, в которых пигменты играют роль антенн, которые передают энергию фотонов (световую энергию) с одной молекулы на другую. По химическому строению хлорофиллы – сложные эфиры дикарбоновой органической кислоты – хлорофиллина и двух остатков спиртов – фитола ($C_{20}H_{39}OH$) и метилового (CH_3OH). Эмпирическая формула – $C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$. Хлорофиллин представляет собой азотсодержащее металлоорганическое соединение, относящееся к магнийпорфиринам.

Ниже показана структурная формула хлорофилла *a*. Хлорофилл *b* отличается тем, что содержит на два атома водорода меньше и на один

атом кислорода больше (вместо группы CH_3 группа CHO). Ниже приведены молекулярные массы различных пигментов растительных клеток:

- хлорофилл *a* ($\text{C}_{55}\text{H}_{72}\text{O}_5\text{N}_4\text{Mg}$) – 893 Да;
- хлорофилл *b* ($\text{C}_{55}\text{H}_{70}\text{O}_6\text{N}_4\text{Mg}$) – 907 Да;
- ксантофилл ($\text{C}_{40}\text{H}_{56}\text{O}_2$) – 568 Да;
- каротин ($\text{C}_{40}\text{H}_{56}$) – 536 Да.



Структура хлорофилла а

В 1960 г. Г. Б. Вудворд осуществил полный синтез хлорофилла. В центре молекулы хлорофилла расположен атом магния, который соединен четырьмя атомами азота пиррольных группировок. В пиррольных группировках хлорофилла имеется система чередующихся двойных и

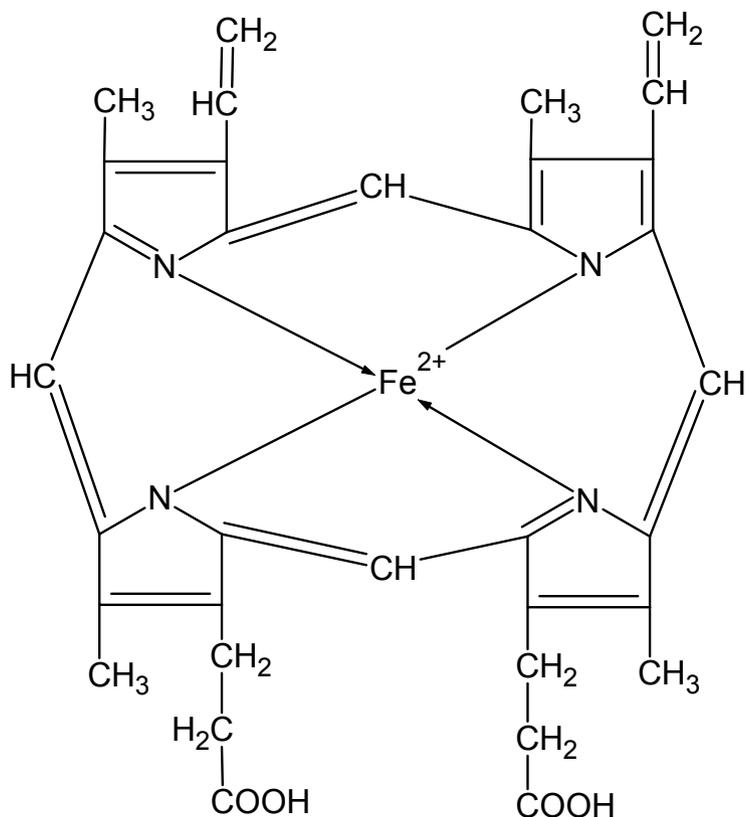
простых связей. Это и есть хромофорная группа хлорофилла, обуславливающая поглощение определенных лучей солнечного спектра и его окраску. Диаметр порфиринового ядра составляет 10 нм, а длина фитольного остатка – 2 нм. Расстояние между атомами азота пиррольных группировок в ядре хлорофилла составляет 0,25 нм. Порфириновая часть представляет собой плоскую структуру и является гидрофильной, а поэтому лежит на той поверхности мембраны, которая обращена к водной среде стромы. Фитольная часть имеет гидрофобный характер и за счет этого удерживает молекулу хлорофилла в мембране.

Интересно, что диаметр атома магния равен 0,24 нм. Таким образом, магний почти полностью заполняет пространство между атомами азота пиррольных группировок. Это придает ядру молекулы хлорофилла дополнительную прочность.

Еще К. А. Тимирязев обратил внимание на близость химического строения двух важнейших пигментов: зеленого – хлорофилла листьев, и красного – гемина крови.

Действительно, если хлорофилл относится к магнипорфиринам, то гемин – к железопорфиринам. Сходство это не случайно и служит еще одним доказательством единства всего органического мира. Одной из специфических черт строения хлорофилла является наличие в его молекуле помимо четырех гетероциклов еще одной циклической группировки из пяти углеродных атомов – циклопентанона. В циклопентановом кольце содержится кетогруппа, обладающая большой реакционной способностью. Есть данные, что в результате процесса энолизации по месту этой кетогруппы к молекуле хлорофилла присоединяется вода. Молекула хлорофилла полярна, ее порфириновое ядро обладает гидрофильными свойствами, а фитольный конец – гидрофобными. Это свойство молекулы хлорофилла обуславливает определенное расположение ее в мембранах хлоропластов. Порфириновая часть молекулы связана с белком, а фитольная цепь погружена в липидный слой.

Следует отметить, что хотя крупный русский ученый В. Н. Любименко и предлагал этот комплекс назвать хлороглобином, по аналогии с гемоглобином, связь между хлорофиллом и белком иного характера, чем между геминем и белком. Для гемоглобина характерно постоянное соотношение – на 1 молекулу белка приходится 4 молекулы гемина. Между тем соотношение между хлорофиллом и белком различно и претерпевает изменения в зависимости от типа растений, фазы их развития, условий среды (от 3 до 10 молекул хлорофилла на 1 молекулу белка).



Структура гема

Связь между молекулами белка и хлорофиллом осуществляется путем нестойких комплексов, образующихся при взаимодействии кислотных групп белковых молекул и азота пиррольных колец. Чем выше содержание дикарбоновых аминокислот в белке, тем лучше идет их комплексообразование с хлорофиллом. Белки, связанные с хлорофиллом, характеризуются низкой изоэлектрической точкой (3,7–4,9). Молекулярная масса этих белков порядка 68 кДа. Вместе с тем хлорофилл может взаимодействовать и с липидами мембран. Важным свойством молекул хлорофилла является их способность к взаимодействию друг с другом. Переход из мономерной в агрегированную форму возник в результате взаимодействия двух и более молекул при их близком расположении друг к другу. В процессе образования хлорофилла его состояние в живой клетке закономерно меняется. При

этом и происходит его агрегация. В настоящее время показано, что хлорофилл в мембранах пластид находится в виде пигментлипопротеидных комплексов с различной степенью агрегации.

Синтез хлорофилла происходит в две фазы: темновую – до протохлорофиллида, и световую – образование из протохлорофиллида хлорофиллида. Синтез начинается с превращения глутаминовой кислоты в 5-аминолевулиновую кислоту. Две молекулы 5-аминолевулиновой кислоты конденсируются в порфобилиноген. Далее 4 молекулы порфобилиногена превращаются в протопорфирин IX. После этого в кольцо встраивается магний и получается протохлорофиллид. На свету и в присутствии НАДН+Н⁺ образуется хлорофиллид:



Протоны присоединяются к четвертому пиррольному кольцу в молекуле пигмента. На последнем этапе происходит взаимодействие хлорофиллида со спиртом фитолом:



Поскольку синтез хлорофилла – процесс многоэтапный, в нем участвуют различные ферменты, составляющие, по-видимому, полиферментный комплекс. Интересно заметить, что образование многих из этих белков-ферментов ускоряется на свету. Свет косвенно ускоряет образование предшественников хлорофилла. Одним из наиболее важных ферментов является фермент, катализирующий синтез 5-аминолевулиновой кислоты (аминолевулинатсинтаза). Важно отметить, что активность этого фермента также повышается на свету. Содержание хлорофилла в листе колеблется незначительно. Это связано с тем, что идет непрерывный процесс разрушения старых молекул и образование новых молекул хлорофилла. Причем эти два процесса уравнивают друг друга. При этом предполагается, что вновь образовавшиеся молекулы хлорофилла не смешиваются со старыми и имеют несколько иные свойства.

Фотосистемы помимо хлорофиллов содержат дополнительные пигменты – каротиноиды. Их функция состоит в расширении спектров абсорбции световых лучей. Если хлорофиллы абсорбируют красные и голубые спектры, то каротиноиды абсорбируют голубой и фиолетовый свет. Каротиноиды имеют место в различных фотосинтезирующих красных или пурпурных бактериях.

Кроме хлорофилла хлоропласты содержат и другие вспомогательные пигменты, поглощающие лучи Солнца в диапазоне 400–700 нм: каротиноиды и ксантофиллы. Эти пигменты увеличивают спектр поглощаемой организмом энергии; они воспринимают световую энергию и передают ее в фотореактивные участки за счет возбуждения для ее по-

следующей трансформации в химическую энергию. Каротины также нейтрализуют реактивные формы кислорода, возникаемые как побочные продукты при фотовозбуждении. При этих окислительно-восстановительных реакциях ион магния не изменяет валентность. Каротиноиды присутствуют только в хромопластах, которые окрашивают определенные фрукты (апельсины, лимоны, помидоры) и цветы (нарцисс, ноготки и др.).

Наиболее активной структурой для организма животного и человека является бета-каротин. Красные водоросли и пурпурные бактерии содержат другие дополнительные пигменты – фикоэритробилин и фикоцианобилин в комплексе с белками, находящимися на внешней поверхности тилакоидных мембран.

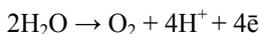
Световая фаза фотосинтеза

Фотохимические реакции фотосинтеза – это реакции, в которых энергия света преобразуется в энергию химических связей, и в первую очередь в энергию фосфоэфирных связей АТФ. Именно АТФ является энергетической валютой клетки, обеспечивающей течение всех процессов. Одновременно под действием света происходит разложение воды, образуется восстановленная форма НАДФ и выделяется кислород. Энергия поглощенных квантов света стекается от сотен молекул пигментов светособирающего комплекса (ССК) к фотохимическому реакционному центру. Реакционный центр содержит особую пару (димер) молекул хлорофилла *a*, которые характеризуются поглощением в наиболее длинноволновой части солнечного спектра и выполняют роль ловушки энергии возбуждения, блуждающего по пигментам ССК. Фотосистемы различаются по составу белков, пигментов и оптическим свойствам. Установлено, что фотосистема I включает светособирающий комплекс и фотохимический реакционный центр I, в состав которого входит димер хлорофилла, поглощающий свет с длиной волны 700 нм (P_{700}). Фотосистема II включает светособирающий комплекс и фотохимический реакционный центр II, в состав которого входит димер хлорофилла, поглощающий свет с длиной волны 680 нм (P_{680}). Свет поглощается двумя фотосистемами раздельно, и нормальное осуществление фотосинтеза требует их одновременного участия.

При освещении растения солнечными лучами энергия квантов света стекается к молекуле пигмента P_{700} , который входит в состав реакционного центра ФС I (фотосистема I). Электрон в молекуле P_{700} переходит на более высокий энергетический уровень. Энергия света изменяет распределение электронов в кольце молекулы хлорофилла P_{700} и делает один электрон доступным для переноса. Поэтому в возбужденном состоянии молекула P_{700} легко отдает электрон первичному акцептору, которым является мономерная форма хлорофилла *a*. В дальнейшем, с первичного ак-

цептора электрон передвигается через вторичный акцептор – филлохинон, и передается на белок ферредоксин, содержащий два атома негеминового железа. С ферредоксина под влиянием фермента ферредоксин-НАДФ-редуктазы (К.Ф.1.18.1.2) электрон акцептируется НАДФ⁺. Ниже будет показана полная реакция восстановления НАДФ⁺ с участием электронов и протонов, полученных в результате разложения молекулы воды.

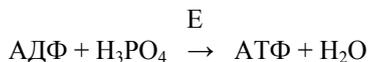
Отдав электрон, P₇₀₀ остается в виде ионизированной молекулы. Благодаря этому он является прекрасным акцептором электронов. Источником электрона, заполняющего эту вакансию, является фотосистема II. Под влиянием поглощенного кванта света возбужденный электрон от P₆₈₀ воспринимается первичным акцептором, которым является феофитин (хлорофилл, лишенный иона магния) и передается дальше по цепи переносчиков (пластохиноны, *b/f*-комплекс, пластоцианин) на окисленный хлорофилл фотосистемы I. Образовавшаяся электронная вакансия в молекуле P₆₈₀ действует как сильный окислитель, и через ряд переносчиков при участии ионов марганца и хлора отнимает электрон от воды. Этот процесс получил название фотохимического разложения воды (фотолиз). Суммарное его уравнение выглядит следующим образом:



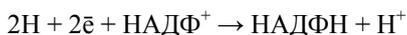
Молекулярный кислород легко диффундирует через мембраны и выходит в атмосферу. Подчеркиваем, что кислород является побочным продуктом световой фазы фотосинтеза.

Один из электронов, полученных в результате фотохимического разложения воды, заполняет электронную «дыру» в молекуле P₆₈₀. Остальные электроны посредством мобильных переносчиков – пластохинона, пластоцианина и ферредоксина, передаются на восстановление НАДФ⁺. Напомним, что поток электронов выбрасывается с наружной поверхности тилакоидной мембраны.

Протоны, полученные в результате фотолиза воды, накапливаются внутри тилакоида в «протонном резервуаре». В результате мембрана тилакоида с одной стороны за счет H⁺ заряжается положительно, с другой за счет электронов – отрицательно. Когда разность потенциалов между наружной и внутренней сторонами мембраны тилакоида достигает 200 мВ, протоны проталкиваются силой электрического поля через каналы фермента АТФ-синтетазы, встроенного в мембрану тилакоидов. Таким образом, начинает работать протонная помпа. На выходе из протонного канала создается высокий уровень энергии, которая используется для фосфорилирования имеющихся в матриксе хлоропластов молекул АДФ:



Перенесенные в строму протоны взаимодействуют с электронами и молекулой НАДФ⁺, образуя комплекс НАДФН + Н⁺:



Эксперименты с изотопной меткой ¹⁸O подтвердили мнение К. ван Хилла о том, что источником молекулярного кислорода, образующегося в процессе фотосинтеза, является молекула Н₂O, но не СО₂.

Отметим, что в обычных условиях вода является очень плохим донором электронов и различные окислители организма не способны отщепить атомы водорода от молекулы воды.

Энергия световой фазы хлорофилла не полностью трансформируется в потенциальную химическую энергию при синтезе органических соединений. В экспериментальных условиях наиболее активные организмы (одноклеточные зеленые водоросли) в фотосинтезе способны трансформировать 30% энергии световой фазы в потенциальную химическую энергию. В природе этот показатель составляет лишь 1–2%.

Относительно механизма фосфорилирования существуют две гипотезы. Согласно первой гипотезе, фосфатная группа и АДФ связываются с ферментом синтазой. При этом два протона перемещаются через канал по градиенту концентрации и соединяются с кислородом фосфата, образуя молекулу воды. Это делает фосфатную группу весьма реакционноспособной, и она присоединяется к АДФ с образованием АТФ.

Согласно второй гипотезе, которая в последние годы получила экспериментальные подтверждения (косвенный механизм), АДФ и неорганический фосфат соединяются в активном центре фермента спонтанно. При этом образовавшаяся молекула АТФ остается прочно связанной с ферментом и для ее освобождения требуется затратить энергию. Энергия доставляется протонами, которые, реагируя с ферментом (протонирование), изменяют его конформацию, что приводит к освобождению АТФ.

Подводя итог, хочется сделать выводы о значении световой фазы фотосинтеза. В результате вышеописанных реакций происходит образование следующих молекул:

- АТФ (универсальный энергоноситель, потребуется в темновой фазе для синтеза высокомолекулярных органических веществ).
- НАДФН+Н⁺ (восстановленный эквивалент, потребуется для синтеза органических молекул в темновой фазе).
- Молекулярный кислород (является побочным продуктом световой фазы фотосинтеза, жизненно необходим для существования аэробных организмов – гетеротрофов).

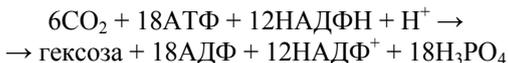
Таким образом, реакции световой фазы продуцируют О₂ и генерируют АТФ и НАДФН+Н⁺. Реакции темновой фазы используют эти источники энергии для биосинтезов, потребляющих СО₂ и продуцирующих органические молекулы в реакциях цикла Кальвина.

Темновая фаза фотосинтеза

Темновая фаза фотосинтеза – это совокупность биохимических реакций, в результате которых происходит усвоение растениями углекислого газа атмосферы (CO₂) и образование углеводов. Ферменты, катализирующие темновые реакции, растворены в строме. Если оболочки хлоропласта разрушить, то эти ферменты из стромы вымываются, в результате чего хлоропласты теряют способность усваивать CO₂. Сущность темновых реакций процесса фотосинтеза была раскрыта благодаря исследованиям американского ученого Мелвина Кальвина. За эту работу в 1961 г. Кальвину с сотрудниками была присуждена Нобелевская премия.

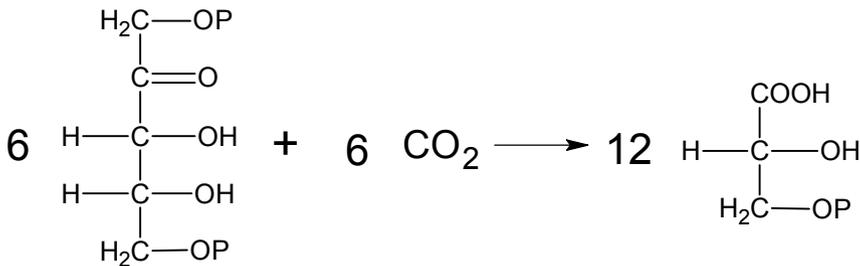
Сущность темновой фазы состоит в ферментативной утилизации CO₂ и превращению его в 3-фосфо-глицеральдегид, основу синтеза различных углеводов растений. В ночное время клетки не получают солнечной энергии и митохондрии клеток растений генерируют АТФ, используя кислород для окисления углеводов хлоропластов, образовавшихся в дневное время.

В этой фазе, протекающей в строме хлоропластов, участвуют многие ферментативные реакции с использованием НАДФН+Н⁺ и АТФ, как восстановитель и источник энергии, соответственно. В целом, затраты энергии в цикле составляют:



Начальная ключевая реакция цикла Кальвина, включающего 13 реакций с использованием CO₂, представляет фиксацию CO₂ с молекулой рибулоза-1,5-дифосфата, которая протекает с участием активного фермента рибулоза-дифосфо-карбоксилазы (М. м. = 500 тыс.).

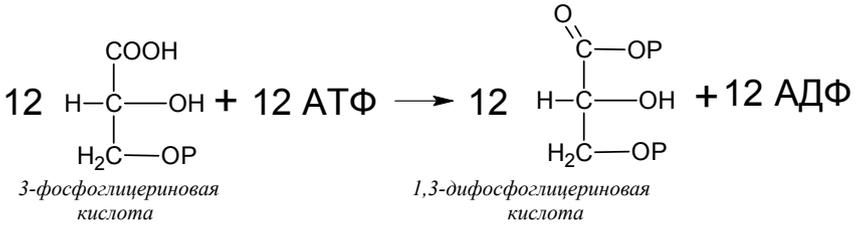
Этот фермент количественно составляет более 15% всех белков хлоропласта клетки, что позволяет считать этот белок преобладающим в биосфере. Эта активная сложная реакция приводит к получению двух молекул 3-фосфоглицериновой кислоты (3-ФГК).



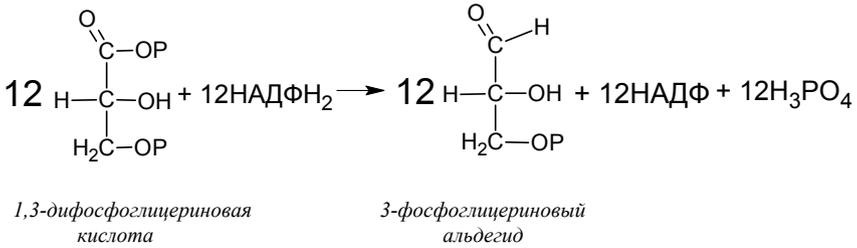
Рибулозо-1,5-дифосфат

3-фосфоглицериновая кислота

Далее 3-ФГК фосфорилируется при участии АТФ с образованием 1,3-дифосфоглицериновой кислоты:

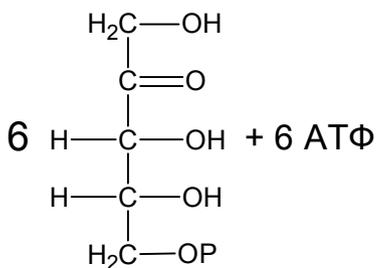


Полученная в данной реакции 1,3-дифосфоглицериновая кислота трансформируется в 3-фосфоглицериновый альдегид (3-ФГА) с участием НАДФН+Н⁺.

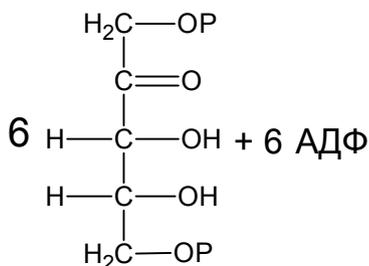


В дальнейшем, только из двух молекул 3-фосфоглицеринового альдегида образуется глюкоза в реакциях глюконеогенеза: одна из молекул переходит в свой изомер – фосфодиоксиацетон (ФДА). Взаимодействие альдегида и кетона приводит к получению фруктоза-1,6-дифосфата, а затем при отщеплении остатка неорганического фосфата образуется фруктоза-6-фосфат и, наконец, глюкоза-6-фосфат.

Остальные 10 молекул 3-ФГА претерпевают различные превращения, проходя через дигидроксиацетон-3-фосфат, фруктозо-1,6-дифосфат, эритрозо-4-фосфат, седогептулозо-1,7-дифосфат. Однако, в конечном счете, их пути унифицируются: из 10 молекул 3-ФГА образуется 4 молекулы ксилулозо-5-фосфата и 2 молекулы рибозо-5-фосфата. Затем все они превращаются в 6 молекул рибулозо-5-фосфата. На этом цикл практически завершается. Напомним, процесс начинался с рибулозо-1,5-дифосфата. И для полного завершения цикла Кальвина требуется последняя реакция – фосфорилирование рибулозо-5-фосфата:



Рибулозо-5-фосфат



Рибулозо-1,5-дифосфат

Таким образом, цикл начинается с реакции взаимодействия 6-ти молекул рибулозо-1,5-дифосфата и 6-ти молекул CO_2 с образованием 12-ти молекул 3-ФГК. 3-ФГК восстанавливается до 10-ти молекул 3-фосфо-глицеральдегида, которые переходят вновь в исходные 6 молекул рибулозо-1,5-дифосфата. Этим и завершается один оборот цикла.

С участием многих посредников в цикле Кальвина (превращение CO_2 в глюкозу) 3 молекулы АТФ и 2 молекулы $\text{НАДФН}+\text{H}^+$ используются для каждой молекулы CO_2 , конвертируемой в углевод.

В итоге на синтез одной молекулы глюкозы необходимы 6 молекул CO_2 с расходом 18 молекул АТФ и 12 молекул $\text{НАДФН}+\text{H}^+$, восполняемых за счет световой фазы фотосинтеза.

В течение дня растения покрывают свои потребности в энергии благодаря реакциям световой и темновой фаз фотосинтеза. В ночное время, как все другие организмы, растения используют свои резервы энергии для генерации АТФ и доноров электронов за счет гликолиза, окислительного фосфорилирования и пентозо-фосфатного пути. При этом необходимые ферменты находятся в строме хлоропласта.

3-фосфо-глицеральдегид является центральным посредником в гликолизе. Часть его переходит в цитозоль, где он может быть превращен во фруктозо-6-фосфат и глюкоза-1-фосфат обратимыми реакциями гликолиза. Глюкоза-1-фосфат в виде нуклеотида УДФ-глюкоза, реагируя с фруктозо-6-фосфатом, конвертируется в дисахарид сахароза. Сахароза – основной углевод, в форме которого сахар переносится между клетками растения. Из сахарозы образуются нефосфорилированные моносахара – глюкоза и фруктоза.

Большинство молекул 3-фосфо-глицеральдегида хлоропластов трансформируются в целлюлозу и крахмал в строме, который представляет резерв углеводов растений. Целлюлоза – линейный полимер остатков бета-глюкозы (около $15 \cdot 10^3$), обеспечивающий устойчивость стенок

клеток растений. Он также необходим для прочности стеблей и стволов растений совместно с лигнином. Количество углерода в составе целлюлозы составляет половину всего углерода в биосфере. Сахароза, крахмал и целлюлоза необходимы для питания хемотрофов. 3-фосфо-глицеральдегид является также необходимым прекурсором для синтеза жирных кислот и аминокислот. Среди первых продуктов фотосинтеза имеют место аминокислоты. Вероятно, 3-фосфоглицериновая кислота, образующаяся на первом этапе цикла Кальвина, может трансформироваться в пируват. Этот процесс идет особенно интенсивно при недостатке НАДФН, из-за чего задерживается преобразование 3-ФГК в 3-ФГА (обычный путь в цикле Кальвина).

Пируват в присутствии аммиака переходит в аланин, а так же в другие аминокислоты цикла трикарбоновых кислот. Образующиеся карбоновые кислоты в процессе аминирования или переаминирования дают аминокислоты, которые под влиянием освещения синими лучами (458–480 нм) вступают в синтез белковых молекул. В присутствии ингибиторов синтеза белка действие синего света не проявляется.

Из промежуточных продуктов цикла Кальвина могут образовываться липиды и другие органические соединения. Состав продуктов, образующихся при фотосинтезе, может быть определен исходя из величин фотосинтетического коэффициента (ФСК). ФСК – это отношение выделенного в процессе фотосинтеза кислорода к поглощенному CO_2 . Если в процессе фотосинтеза образуются углеводы, то согласно приведенному суммарному уравнению. ФСК должен быть равен единице ($6\text{O}_2/6\text{CO}_2 = 1$).

При синтезе более восстановленных (содержащих меньше кислорода) соединений, по сравнению с углеводами, ФСК должен быть больше единицы. В случае синтеза белков ФСК равен 1,25, а в случае синтеза жиров – 1,44. Величина ФСК меняется в зависимости от условий среды; преобладание синих лучей над красными приводит к увеличению доли синтеза белков, тогда как красный свет благоприятствует образованию углеводов. На качество продуктов фотосинтеза оказывает влияние интенсивность освещения. При высокой освещенности образуется больше углеводов, а при пониженной – аминокислот и белков.

Таким образом, изменяя условия среды, можно регулировать соотношение продуктов фотосинтеза, а следовательно, можно регулировать химический состав сельскохозяйственных растений, улучшить их биологическую ценность. Примером в данном случае могут служить опыты с одноклеточной водорослью хлореллой, у которой удалось повысить содержание аминокислот и жиров за счет снижения содержания углеводов путем добавления в питательную среду NH_4Cl (10^{-3} М). Однако основным продуктом фотосинтеза являются углеводы.

Можно рассчитать энергетический баланс реакций цикла Кальвина. Для восстановления 6 молекул CO_2 до уровня глюкозы требуются 18 молекул АТФ и 12 НАДФН+Н⁺. Соответственно для восстановления до уровня углевода одной молекулы CO_2 необходимы 3 молекулы АТФ и 2 молекулы НАДФН+Н⁺. При этом для получения двух молекул НАДФН+Н⁺ и двух молекул АТФ необходимо 8 квантов света. Недостающее количество АТФ образуется в процессе циклического фотофосфорилирования. Поэтому для восстановления одной молекулы CO_2 до уровня углевода следует затратить 8–9 квантов света.

Энергия квантов красного света равна 168 кДж/моль. Таким образом, при использовании квантов красного света на восстановление одной молекулы CO_2 до уровня углеводов затрачивается примерно 1340–1508 кДж. Из этого количества энергии в 1/6 моль гексозы откладывается 478 кДж и КПД фотосинтеза при таком расчете составляет 30–35%. Однако в естественных условиях коэффициент использования энергии представляется значительно меньшим.

Подобно строми хлоропласта, митохондриальный матрикс имеет рН около 8. При этом основная протон-движущая сила сквозь митохондриальную внутреннюю мембрану, как и сквозь тилакоидную мембрану хлоропласта является результатом мембранного потенциала. В этих условиях в матриксе или строми активность АТФ синтазы максимальная, при которой протекает синтез всего количества АТФ.

Однако, как фотосинтезирующие электрон-передающие реакции в хлоропласте генерируют АТФ и НАДФН+Н⁺, необходимые для синтеза углеводов из CO_2 и H_2O ? Необходимую для этого энергию обеспечивают солнечные лучи посредством молекул хлорофилла. Ферменты, катализирующие темновые реакции, растворены в строми хлоропласта. При разрушении мембран хлоропласта эти ферменты из строми вымываются, в результате чего хлоропласты теряют свою способность усваивать CO_2 .

Однако не все количество ассимилированного углерода будет находиться в форме углевода. Другая его часть будет включаться в анаболизм различных других структур, включая аминокислоты, жирные кислоты, пуриновые и пиримидиновые основания, хлорофилл. Первым устойчивым продуктом фотосинтеза является фосфоглицериновая кислота, от которой могут синтезироваться углеводы, липиды, белки (S. Bozzone, 1972). Благодаря своей структуре хлорофиллы являются активными фоторецепторами всех фотосинтезирующих клеток. В клетках коллоиды хлоропласта тесно связаны с хлорофиллом, защищая его против воздействия различных факторов среды.

Хлорофиллы и каротины широко распространены в пигментах, называемых каротиноидами. Каротиноиды всегда присутствуют в хлоро-

пластах, но отдельно находятся в хромопластах, окрашивающих отдельные фрукты (мандарины, лимоны, томаты) и цветы (нарциссы, ноготки). В частности, цвет морских водорослей зависит от наличия в них натурального хлорофилла (0,8%) – $C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$, желтого ксантофилла – $C_{40}H_{56}O_2$, каротинов – $C_{40}H_{56}$. В отличие от хлорофиллов каротиноиды способны поглощать свет в ином диапазоне длин волн, а поэтому они являются световыми рецепторами, дополняющими функции хлорофиллов.

В настоящее время известна болезнь Рефсума (Refsum's disease), как результат генетического нарушения катаболизма хлорофилла, которая характеризуется расстройством ночного зрения, дрожью, другими нервными признаками. Эти симптомы являются результатом аккумуляции фитановой кислоты в организме человека – промежуточного продукта распада хлорофилла. Для успешного лечения необходима диета, свободная от хлорофилла; при этом все зеленые растения и даже мясо от животных, поедавших растения (жвачные, свиньи, лошади, птицы) должны быть исключены из рациона. Каждый грамм крахмала, образующийся в зеленом растении из молекул воды и CO_2 , требует для своего синтеза 4 килокалории. С другой стороны, при катаболизме этого углевода до CO_2 и H_2O также 4 килокалории энергии имеются в распоряжении организма, которые перед этим зеленые листья заимствовали из солнечных лучей (V. Polonovsci et al., 1973).

Красные водоросли и пурпуровые бактерии содержат другие дополнительные пигменты – фикоэритробилин и фикоцианобилин, ковалентно связанные с белками. Эти комплексы локализируются на внешней поверхности мембран тилакоидов. Они способны эффективно фокусировать солнечную энергию при 450 нм. При этом свет полностью поглощается с 10 м глубины водоема.

Крахмал и белки гидролизуются на уровне листьев растений. Крахмал – участник синтеза сахаров, белков и аминокислот, которые легко мигрируют по всем частям растений. Липиды формируются в своем большинстве в зернах и в масличных фруктах. Их синтез из углеводов доказан анализом этих органов в различные этапы их созревания. Пропорция углеводов снижается в процессе созревания растений, тогда как липиды прогрессивно возрастают. Растворимые липиды в растениях образуют растительные масла, например, в кокосовых орехах, зернах бобов какао, мускатного ореха. Масло бобов какао используется для изготовления шоколада. Важность фотосинтеза в синтезе растений можно иллюстрировать следующими цифрами: несмотря на низкую эффективность фотосинтеза (1–2% в природе) и низкий уровень CO_2 в атмосфере (0,03%), ежегодно 35 млрд тонн углерода фиксируется в синтезируемых органических структурах благодаря световой энергии хлорофилла, половина которых находится на суше и половина в недрах вод океанов.

Фотосинтез при различных условиях протекает с разной интенсивностью, которая зависит от фазы развития растения. Максимальная интенсивность фотосинтеза наблюдается в фазе цветения. Уменьшение содержания CO_2 в воздухе снижает интенсивность фотосинтеза. Повышение уровня углекислоты до 0,5% увеличивает интенсивность фотосинтеза почти пропорционально. Однако при дальнейшем повышении содержания углекислоты в воздухе интенсивность фотосинтеза не возрастает, а при 1% – растение страдает.

Серия реакций, приводящих 3-ФГК в гексозы, названа циклом Кальвина. Эти реакции носят несомненно циклический характер, так как гексоза является конечным продуктом, и 5-углеродный акцептор (рибулоза-1,5-дифосфат) должен быть генерирован, чтобы обеспечить постоянную фиксацию CO_2 .

Ферменты цикла Кальвина важны для:

- главенствующей фиксации CO_2 в природе;
- завершения восстановления 3-фосфоглицерата, первого продукта фиксации CO_2 , в 3-фосфоглицеральдегид;
- каталитических реакций, трансформирующих 3-углеродные соединения в 4-, 5-, 6- и 7-углеродные соединения.

Активность ключевых ферментов цикла Кальвина координирована с процессом фотосинтеза. Эти ферменты косвенно реагируют на свет; когда световая энергия доступна для генерации АТФ и НАДФН+Н⁺ при фиксации CO_2 цикл Кальвина функционирует. В темноте, когда биосинтез АТФ и НАДФН+Н⁺ ингибирован, фиксация CO_2 прекращается. Световая фаза в хлоропласте с участием ключевых ферментов цикла Кальвина включает изменения величины рН стромы, генерацию восстанавливающих эквивалентов.

Хотя фермент рибулозо-1,5-дифосфо-карбоксилаза/оксигеназа преимущественно присоединяет CO_2 к рибулозо-1,5-дифосфату, он может альтернативно использовать дополнительно кислород в случае низкого уровня CO_2 в атмосфере. При этом фотосинтез (использование CO_2) будет главенствующим по отношению к освобождению CO_2 . Это является первым шагом метаболического пути, названного фотодыханием. При фотодыхании восстановительные эквиваленты поступают на восстановление молекулярного кислорода, а не на восстановление CO_2 .

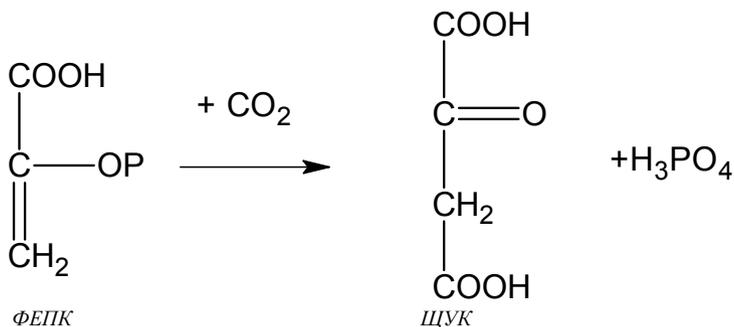
У многих растений теряется около одной трети фиксированной CO_2 по причине фотодыхания. Фотодыхание имеет высокую активность при высоких интенсивностях света. Фотодыхание вызывает расходование запасов CO_2 , получаемых в ходе фотосинтеза, и препятствует таким образом синтезу глюкозы. Этот эффект ограничивает рост C_3 -растений. Фотодыхание характерно для C_3 -растений, а не для растений тропиков.

Путь ассимиляции углерода при фотосинтезе, установленный Кальвином и предложенный в виде цикла Кальвина, является общим для всех автотрофных организмов. Однако существуют разные пути передачи CO_2 в цикл Кальвина. Так, австралийские ученые М. Д. Хетч и К. Р. Слэк (1966) и советский ученый Ю. С. Карпилов (1960) показали, что у некоторых растений, преимущественно тропических и субтропических (в том числе кукуруза, сахарный тростник, амарант, просо, сорго), фотосинтез идет несколько по-иному. В этом случае первым продуктом карбоксилирования является соединение, содержащее 4 атома углерода. Поэтому этот путь получил название C_4 -пути, в отличие от цикла Кальвина, в котором образуется ФГК, содержащая 3 атома углерода (C_3 -путь). Совокупность реакций темновой фазы фотосинтеза, идущих по C_4 -пути, получила название – цикл Хетча – Слэка. Рассмотрим предпосылки к этому циклу и его реакции.

Тропические растения являются менее чувствительными к эффекту фотодыхания. В условиях тропиков растения (кукуруза, сахарная свекла, зерновые) закрывают свои устьицы днем, чтобы избежать экстенсивного испарения воды, фиксируя CO_2 исключительно в ночное время. У этих растений цикл фиксации атмосферного углерода происходит в хлоропластах специализированных клеток, которые наполнены ферментом рибулозо-1,5-дифосфо-карбоксилазой. Эти клетки защищены от воздуха и ограничены слоями мезофильных клеток, которые «накачивают» CO_2 в специализированные клетки. Таким образом, C_4 -растения имеют способность концентрировать CO_2 в их синтезирующих клетках и почти полностью ингибировать фотодыхание. Листья C_4 -растений имеют отличительную структуру от листьев C_3 -растений (фиксирующих CO_2 в форме трикарбоновых кислот).

Хлоропласты, лишенные рибулозо-1,5-дикарбоксилазы, конденсируют CO_2 (в форме HCO_3^-) и фосфоенолпируват для получения оксалоацетата, конвертируемого сразу же в малат и аспартат – четырехуглеродные молекулы. Поэтому такие растения названы C_4 -растениями. Большие количества фосфоенолпирувата, необходимые для фиксации CO_2 , являются результатом деградации крахмала через гликолиз. Малат сразу же распадается до CO_2 (поступающего в цикл Кальвина) и пирувата, который используется на синтез крахмала после трансформации в глюкозо-1-фосфат.

На первом этапе у C_4 -растений CO_2 , диффундирующий в лист через устьица, попадает в цитоплазму клеток мезофилла с мелкими хлоропластами, в которых происходит реакция карбоксилирования фосфоенолпирувиноградной кислоты (ФЕПК) с образованием шавелевоуксусной кислоты (ЩУК):



ЩУК трансформируется в яблочную, которая в клетках обкладки декарбоксилируется до пирувата и CO_2 . Углекислый газ поступает в хлоропласты клеток обкладки и включается в цикл Кальвина. Пируват вновь возвращается в клетки мезофилла и превращается в первичный акцептор CO_2 – в ФЕПК. Таким образом, в C_4 -растениях реакция карбоксилирования протекает дважды. Это позволяет растению создавать запасы углерода в клетках и осуществлять фотосинтез при минимуме потери воды.

Есть мнение, что C_4 -растения возникли в процессе эволюции как адаптация к изменившимся условиям среды. При возникновении фотосинтеза атмосфера была богаче CO_2 и беднее O_2 . Благодаря деятельности самих растений состав атмосферы изменился: содержание CO_2 резко уменьшилось, а O_2 возросло. При этом сопротивление мезофилла диффузии CO_2 у C_4 -растений более чем в 3,5 раза меньше и составляет 0,3–0,8 см/с (у C_3 -растений – 2,8 см/с).

Фотодыхание C_4 -растений требует повышенной концентрации O_2 , тогда как в хлоропластах клеток концентрация O_2 понижена, так как в них происходит только циклическое фосфорилирование, при котором вода не разлагается и кислород не выделяется. Вместе с тем в клетках обкладки повышена концентрация CO_2 . Эти условия ингибируют процесс фотодыхания в клетках обкладки и поэтому C_4 -растения характеризуются очень низкой потерей CO_2 в результате фотодыхания.

Для накачивания CO_2 C_4 -растения затрачивают энергию, но она много меньше, чем энергия, теряемая при фотодыхании у C_3 -растений, а поэтому C_4 -растения имеют потенциальное преимущество. Более того, C_4 -растения способны к фотосинтезу при наименьшей концентрации CO_2 внутри листовой, имея возможность меньше открывать устьицы и фиксировать в 2 раза больше углерода, чем C_3 -растения.

Растения испаряют и транспортируют очень большое количество воды. Испарение воды является одной из причин восходящего тока. Вследствие испарения воды в растении накапливаются минеральные вещества, и происходит полезное для растения понижение температуры во

время солнечного нагрева. Иногда транспирация позволяет снизить температуру растения на 60°C. Растение регулирует процесс испарения воды посредством работы устьиц. Отложение кутикулы или воскового налета на эпидерме, образование его волосков и другие приспособления направлены на сокращение транспирации.

Процесс фотосинтеза и постоянное дыхание живых клеток листа требуют газообмена между внутренними тканями листа и атмосферой. В процессе фотосинтеза из атмосферы поглощается ассимилированный CO_2 и возвращается в атмосферу O_3 . Применение изотопного метода анализа показало, что кислород (^{16}O), возвращаемый в атмосферу, принадлежит воде, а не углекислому газу воздуха, в котором преобладает другой его изотоп – ^{15}O . Потери на фотореспирацию у C_3 -растений особенно возрастают при повышении температуры и освещенности. Понятно, что C_4 -растения – это главным образом южные и даже тропические растения, которые получают дополнительные преимущества в смысле продуктивности фотосинтеза. Оптимум температуры у C_3 -растений 20–25°C, а у C_4 -растений – 30–45°C.

Характерным признаком C_4 -пути является тот факт, что образование продуктов цикла Кальвина происходит в хлоропластах, расположенных непосредственно около проводящих пучков. Это благоприятствует оттоку ассимилятов, и, как следствие, повышает интенсивность фотосинтеза. Различия между C_3 - и C_4 -растениями можно продемонстрировать, поместив их рядом в одной камере (кукурузу и бобы) при высокой температуре и освещенности. CO_2 , выделяясь в процессе дыхания, постепенно переходит к кукурузе и изменяет темпы ее роста. Кукуруза как бы «съедает» растения бобов. Интенсивность фотосинтеза у кукурузы 85 мг $\text{CO}_2/\text{дм}^2$, сорго – 55 мг $\text{CO}_2/\text{дм}^2$, у пшеницы – 31 мг $\text{CO}_2/\text{дм}^2$. Высокая потенциальная продуктивность C_4 -растений наиболее полно реализуется при полном солнечном освещении и высокой температуре.

Фиксация CO_2 C_4 -растениями происходит даже при относительно закрытых устьицах, поскольку хлоропласты клеток обкладки используют CO_2 , накопленный в виде доноров, таких как аспартат или малат. Известно, что закрытие устьиц в наиболее жаркое время дня сокращает потери воды за счет транспирации. Одновременно C_4 -растения отличаются более экономным расходованием воды. Если C_3 -растения на образование 1 г сухого вещества расходуют 700–800 г воды, то C_4 -растения – 300–400 г.

Главной причиной пониженного расхода воды C_4 -растениями является то, что их устьица оказывают высокое сопротивление диффузии газов. При подвядании листьев и закрытии устьиц это сопротивление многократно возрастает для паров воды и в меньшей степени для CO_2 . Низкая величина сопротивления диффузии клеток мезофилла для CO_2 у C_4 -растений при более высоком сопротивлении устьиц для воды благо-

приятствует повышению интенсивности фотосинтеза при пониженной транспирации. Поэтому понятно, что C_4 -растения имеют, несомненно, преимущество перед C_3 -растениями в засушливых районах обитания благодаря высокой интенсивности фотосинтеза даже при закрытых устьицах. Кроме того, им практически не угрожает опасность перегрева листьев, что связано с высокой термоустойчивостью. Из 230 000 известных сегодня видов растений только 1% относится к C_4 -растениям. Большинство из них произрастает в жарком климате.

Фотосинтез – единственный процесс в биосфере, ведущий к увеличению ее свободной энергии за счет внешнего источника. Запасенная в продуктах фотосинтеза энергия – основной источник энергии для человечества. Ежегодно в результате фотосинтеза на Земле образуется 150 млрд тонн органического вещества и выделяется около 200 млн тонн свободного кислорода. Круговорот кислорода, углерода и других элементов, вовлекаемых в фотосинтез, поддерживает современный состав атмосферы, необходимый для жизни на Земле.

Фотосинтез препятствует чрезмерному увеличению концентрации CO_2 , предотвращая перегрев Земли вследствие так называемого «парникового эффекта». Поскольку зеленые растения представляют собой непосредственную или опосредованную базу питания всех гетеротрофов, фотосинтез удовлетворяет потребность в пище всего живого на Земле.

Фотосинтез – важнейшая основа сельского и лесного хозяйства. Хотя возможности воздействия человека на этот процесс еще не велики, однако они в определенной мере используются. Так, при повышении CO_2 в воздухе до 0,1% (против 0,03% в атмосфере), удалось повысить урожай огурцов и томатов втрое. Квадратный метр поверхности листьев в течение одного часа продуцирует около одного грамма сахара. Это значит, что все растения, по приблизительной оценке, изымают из атмосферы от 100 до 200 млрд тонн углерода в год. Около 60% этого количества поглощают леса, занимающие 30% поверхности суши, 32% – окультуренные земли, 8% – растения степей и пустынь, городов и поселков.

Зеленое растение способно не только использовать CO_2 и синтезировать сахара, но и превращать азотистые соединения, соединения серы в вещества, слагающие его тело. Через корневую систему растение получает растворенные в почве ионы нитратов и трансформирует их в своих клетках в аминокислоты – основные компоненты белков. Компоненты жиров также возникают из соединений, образующихся в процессах обмена веществ и энергии. Из жирных кислот, глицерина возникают жиры и масла – основные запасные вещества. Так, в семенах примерно 80% растений в качестве богатого энергией запасного вещества содержатся жиры, необходимые для развития агропромышленного комплекса.

Растения без хлорофилла (например, грибы и многие бактерии) неспособны синтезировать органические структуры исключительно при участии минеральных веществ. Они обязаны абсорбировать одновременно как органические, так и минеральные субстанции. Это так называемые гетеротрофы (от *греч.* heteros – другой и trophe – пища), которые противостоят зеленым растениям-автотрофам. Человек и все многоклеточные животные, многие бактерии, вирусы, грибы, некоторые растения являются гетеротрофами. Они представлены плотоядными (зоофаги), растительноядными (фитофаги) и всеядными (эврифаги) формами.

Гетеротрофные организмы существуют за счет использования энергии и веществ, являющихся продуктами автотрофного или гетеротрофного биосинтеза. Среди гетеротрофов выделяются биофаги и сапрофиты. Биофаги используют необходимые им вещества из тел живых организмов, тогда как сапрофиты используют продукты биосинтезов, содержащиеся в телах погибших организмов.

Автотрофы (как фотосинтезирующие бактерии) могут использовать CO_2 из атмосферы как единственный источник углерода, из которого они создают все свои углеродсодержащие биомолекулы. Такие автотрофы, как цианобактерии, также могут использовать азот для синтеза своих азотсодержащих веществ.

Фотосинтезирующие автотрофы получают свою энергию из солнечных лучей, тогда как гетеротрофы получают свою энергию за счет разложения органических веществ, продуцируемых автотрофами. В биосфере Земли автотрофы и гетеротрофы живут совместно в зависимом цикле, в котором автотрофы используют CO_2 атмосферы для синтезов своих органических биомолекул. Напротив, гетеротрофы используют органические продукты автотрофов как нутриенты и возвращают CO_2 в атмосферу. Отдельные окислительные реакции, продуцирующие CO_2 , так же потребляют кислород, конвертируя его в молекулы воды. Таким образом, углерод, кислород и вода постоянно обмениваются между гетеротрофами и автотрофами с участием солнечной энергии, как главенствующей силы в данном круговороте.

Травоядные животные питаются растениями и являются жертвами плотоядных. Всеядные животные и человек используют растительные и животные источники питания. Отдельные растения без хлорофилла и многие бактерии живут за счет других живых организмов; они являются паразитами (грибы, повилика, патогенные микроорганизмы). Другие используют органические субстанции мертвых организмов – это сапрофиты; таковыми являются большинство грибов. Однако некоторые животные живут на паразитах: блохи, клещи, трипаносома сонной болезни. Таким образом, в животном мире существует настоящая пищевая цепь.

Контрольные вопросы

1. Назовите первый источник энергии на Земле.
2. В чем состоит сущность фотосинтеза?
3. Роль листа растения.
4. Охарактеризуйте основные типы пластидов.
5. Представление структуры хлорофилла и каротина.
6. Роль световой фазы фотосинтеза.
7. Цикл Кальвина – превращение CO_2 в D-глюкозу в процессе фотосинтеза.
8. Роль темновой фазы фотосинтеза.
9. Что такое фотодыхание?
10. В чем заключается преимущество C_4 -растений против C_3 -растений?

СИНТЕЗ БЕЛКА

Синтез белка – главнейшая функция живой клетки. Синтез белка активно протекает во всех органах и тканях организма. Лишь зрелые эритроциты имеют недостаток ферментов для синтеза белков и поэтому не могут пополнять уровень белков в организме. Растущие и делящиеся клетки имеют более интенсивный синтез белка. Многие клетки синтезируют белки на «экспорт» (клетки печени, поджелудочной железы) и в этом случае они содержат большее число рибосом.

Процесс синтеза белка происходит внутри клетки на поверхности рибосом, которые представляют собой комплексы белков (30–35%) и рибосомальной РНК (65–70%). Сущность синтеза белка представляет схема:



При рассмотрении вопросов протеосинтеза современные генетики формируют свое внимание вокруг элементов, содержащих информацию, названных генами, которые распределяются в каждую дочернюю клетку при делении клеток. По законам физики и химии гены должны быть образованы из молекул. Вначале природу этих молекул было трудно вообразить. Какие виды молекул должны были запасены в клетках, чтобы направлять активность развивающегося организма и быть способными точно и почти неограниченно копироваться?

В 1968 г. швейцарский биолог I. F. Miescher (1844–1895) открыл в клеточных ядрах соединение нового класса органических соединений – нуклеин. Нуклеин оказался веществом, содержащим фосфор, простой сахар, азотистые основания и кислую природу, что позднее позволило его назвать нуклеиновой кислотой.

В конце XIX в. биологи выяснили, что носителями наследственной информации являются хромосомы. Однако роль ДНК в хромосомах была выяснена значительно позднее, к началу 50-х гг. XX в. Сегодня воззрение, что ДНК является носителем генетической информации в своей цепи нуклеотидов, является общепризнанным в биологии живого организма. Как носитель генетической информации, ДНК занимает уникальное и центральное место среди биологических макромолекул.

С открытием ДНК-полимеразы (A. Kornberg, Нобел. премия, 1959 г.), а затем и РНК-полимеразы, стал понятен биохимический механизм синтеза нуклеиновых кислот, лежащий в основе передачи биологической информации и синтезе белка.

Фундаментальной единицей информации в живой системе является ген – сегмент ДНК (или иногда РНК), который кодирует необходимую информацию для синтеза финального биологического продукта. Финальным продуктом является белок.

Современные биохимические исследования о структуре и функции гена сравнимы с появлением 160 лет назад теорией Дарвина о происхождении видов. Действительно, в 1953 г. Крик и Ватсон предложили структуру ДНК, генетики утверждали концепцию кодирования генов, физики и химики выясняли структуру ДНК. Число генов у человека составляет 50–100 тыс. Каждый день клетка теряет более чем 10 тыс. оснований (R. Roskoski, 1996).

ДНК клеток человека связана с основными белками – гистонами, которые упаковывают ДНК в нуклеосомы. Окутывание ДНК вокруг нуклеосомы увеличивает компактность длины ДНК в 7 раз. Нуклеосомы включают каждые 200 пар оснований. Находящиеся в хроматине всех клеток эукариотов, гистоны имеют молекулярную массу 11–21 тыс. с высоким содержанием основных аминокислот – аргинина и лизина. Гистоны представляют собой 5 различных полипептидов. Помимо гистонов в клетке имеются негистоновые ДНК-связывающие белки, число которых вероятно превышает 1 тысячу.

Нуклеосомы дополнительно организованы в структуры, названные полинуклеосомы. Эти структуры, или второй уровень организации хроматина, обеспечивает примерно 100-кратную компактность ДНК.

Размеры ДНК варьируют от нескольких тысяч пар оснований ДНК мелких вирусов, до миллионов – у ДНК хромосом бактерий и миллиардов – у хромосом ДНК животных. Типичная клетка млекопитающих содержит в 500 раз больше ДНК, чем *E. coli*. ДНК – самые крупные полимерные молекулы организма животного; их молекулярная масса достигает 1 000 000 кДа.

Выяснение структуры ДНК неизбежно стимулировало вопрос о ее функции. Двухспиральная структура ДНК четко подтверждала, как эта молекула может копировать информацию и передавать ее от одной генерации к другой. Выяснение того, как информация ДНК конвертируется в синтез белка пришло с открытием иРНК и тРНК и расшифровкой генетического кода. Эти исследования химиков Германии, Китая и США к 1963 г. увенчались синтезом белка – гормона поджелудочной железы инсулина, а в 1965 г. китайскими химиками был синтезирован кристаллический инсулин.

Эти и другие открытия привели к утверждению центральной догмы молекулярной биологии, включающей три основных процесса в использовании клетками генетической информации (ДНК → РНК → белок). В клетке происходит синтез тысяч различных белковых молекул и план их синтеза заключен в структуре ДНК.

Одной из интереснейших характеристик молекулы ДНК является ее способность кодировать огромное количество биологической информации, хотя клетки млекопитающих содержат только несколько пико-

грамм (10^{-12} г) ДНК. Однако этого незначительного количества ДНК достаточно для обеспечения синтеза громадного количества определенных белков организма (Т. М. Devlin, 1986).

Первый этап – репликация, копирование родительской ДНК для формирования интактных дочерних молекул ДНК, предшествующий делению клеток. Репликация ДНК протекает таким образом, что каждая цепь родительской ДНК является матрицей для синтеза новой комплементарной цепи, а две цепи (родительская и синтезированная) соединяясь, образуют следующее поколение ДНК. Этот процесс назван полуконсервативной репликацией (Р. Бохински, 1987).

Расплетание двойной спирали ДНК осуществляется с участием ферментов хеликаз. При этом для фиксации хеликаз затрачивается энергия АТФ; на разделение одной пары азотистых оснований необходима энергия двух молекул АТФ. Затем к каждой отдельной цепи присоединяется специальный белок, фиксирующий образование комплементарной пары оснований. Скорость расплетания двойной спирали ДНК достигает 4500 оборотов в минуту.

Другим ферментом – участником репликации, является ДНК-зависимая ДНК-полимераза, однако этот процесс требует наличия дополнительно многих белков. В ядрах эукариотов вновь синтезированная молекула ДНК взаимодействует с белками гистонами и образует хромосомы. Репликация ДНК, как процесс полимеризации, осуществляется со скоростью 500 нуклеотидов в секунду у бактерий и около 50 нуклеотидов – у млекопитающих (В. Alberts et al., 1994).

Репликация ДНК является строго координированным процессом: лишь одна ошибка копирования возможна на каждые 10^9 пар оснований.

Второй процесс – транскрипция, в котором часть генетического письма, закодированного в ДНК, точно копируется в РНК. Транскрипция происходит в ядре и заключается в синтезе молекул информационной РНК (иРНК) на соответствующих участках двухцепочечной ДНК при участии РНК-полимераз. При этом последовательность нуклеотидов ДНК точно переписывается в нуклеотидную последовательность иРНК, комплементарную ДНК. В свою очередь, иРНК, как носитель генетической информации, поступает на рибосомы для участия в синтезе белков.

Транскрипция также приводит к синтезу транспортной РНК (тРНК) и рибосомальной РНК (рРНК). В количественном плане в клетке преобладает рРНК.

Третий процесс – трансляция, в котором генетическое письмо, закодированное в иРНК, в цитоплазме передается на рибосомы; на этом этапе последовательность нуклеотидов иРНК строго переводится в определенную последовательность аминокислот синтезируемого белка.

Хромосомы – молекулы нуклеиновой кислоты, в которых заключена генетическая информация организма, являются макромолекулами внутри клеток, включающих тысячи генов. Хромосомы человека содержат около 279 млн пар азотистых оснований. Классически ген был определен как часть (участок) хромосомы, который определяет единственный признак (или фенотип), организма, например цвет глаз. Другая гипотеза рассматривала ген как сегмент генетического материала для одного фермента: «один ген – один фермент». Позднее появилась новая гипотеза: «один ген – один полипептид». Ген – участок молекулы ДНК со специфическим набором нуклеотидов, в линейной последовательности которых закодирована генетическая информация.

Современное биохимическое определение гена – более точное. Ген – это ДНК, которая кодирует первичную последовательность нескольких финальных продуктов, которыми могут быть или полипептид, или РНК со структурными или каталитическими функциями. Молекула ДНК также содержит другие сегменты, которые имеют чисто регуляторные функции. Совокупность всех генов организма составляет его генетическую конституцию – генотип. Уникальное свойство генов – сочетание их высокой устойчивости (постоянству в ряду поколений) со способностью к наследуемым изменениям – мутациям, которые являются основой для действия естественного отбора.

Как много генов в одной хромосоме? Хромосома *E. coli* содержит 4 639 221 пар оснований, которые кодируют около 4300 генов для синтеза белков. 3,2 млрд пар оснований генома человека включают 30–35 тыс. генов 24 различных хромосом. Однако нам еще непонятны функции более чем 40% генов в организме человека.

Чтобы определить длину молекулы ДНК, следует умножить число пар оснований на 0,34 нм. Гаплоидный геном человека включает 2,9 млрд пар оснований, что соответствует 0,986 м ($2,9 \cdot 10^9 \cdot 0,34 \cdot 10^{-9} = 0,986$ м). Отметим, что диаметр ядра равен 10 нм. Большинство клеток организма человека являются диплоидными, и каждая клетка содержит 2 м ДНК. В организме человека насчитывается в среднем 10^{14} клеток и таким образом общая длина ДНК составляет $2 \cdot 10^{11}$ км. Сравним эту величину с окружностью Земли ($4 \cdot 10^4$ км) или с расстоянием между Землей и Солнцем ($1,5 \cdot 10^8$ км). Это иллюстрация степени компактности ДНК в наших клетках (L. L. Nelson, M. M. Cox, 2005).

Молекула ДНК находится в ядрах клеток в виде двух спаренных нитей, закрученных в форме двойной спирали. При этом каждое пуриновое основание (аденин, гуанин) всегда образуют водородные связи с пиримидиновыми (тимин, цитозин), и наоборот. Аденин всегда связан с тимином, а гуанин – с цитозином. Это важно, так как ДНК удваивается перед делением клетки, чтобы каждая из дочерних клеток имела полный

набор молекул ДНК. В этом и заключается молекулярная основа наследственности. Отметим, что клетки печени, например, содержат то же количество ДНК, как и клетки мозга.

Молекула ДНК – это полимер дезоксирибонуклеотидов, содержащий тысячи и даже миллионы мономеров (нуклеотидов). Эта длинная неразветвленная цепь, состоит только из четырех звеньев – нуклеотидов. Каждый нуклеотид содержит азотистые основания: аденин (А), гуанин (Г), цитозин (Ц) и тимин (Т). Нуклеотиды связаны вместе ковалентной фосфодиэфирной связью, которая связывает 5-й углерод одной дезоксирибозы с третьим углеродом другой дезоксирибозы. Последовательность оснований в молекуле ДНК определяет последовательность аминокислот в молекуле синтезируемого белка. У эукариотов ДНК, или генетическая информация, заложена в хромосомах ядер, митохондрий и хлоропластов. Отметим, что прокариоты имеют лишь одну хромосому. Клетки организма человека содержат в 600 раз больше ДНК, чем *E. coli*.

Две антипараллельные цепи ДНК хромосомы связаны слабыми связями, которые формируют комплементарную структуру оснований: А–Т и Г–Ц. Э. Чаргаф установил, что количество А равно Т и количество Г равно Ц.

Состав оснований ДНК является характеристикой организма, а не тканей этого организма. Он не зависит от возраста, пола. На основе выяснения механизма пар оснований стало очевидным, что ДНК передает свою информацию посредством линейной последовательности ее нуклеотидов.

Один триплет (последовательность из трех оснований) образует кодон, которому соответствует одна определенная аминокислота. Из четырех различных оснований, взятых по три во всех возможных комбинациях, можно получить 64 возможных кодона. Следовательно, вариации четырех оснований ДНК могут составить словарь, достаточный для обозначения 20 аминокислот.

Нуклеотидная последовательность иРНК имеет строгую комплементарность последовательности матричной ДНК. Это означает, что каждому основанию ДНК подбирается определенное основание иРНК: основание А всегда образует пару с У, Т с А, Ц с Г. При этом только одна из двух нуклеотидных цепей ДНК используется в качестве матрицы при транскрипции. Таким образом, согласно правилу пар оснований Уотсона и Крика, нуклеотидная последовательность одной цепи ДНК диктует последовательность нуклеотидов в иРНК.

Процесс передачи информации от ДНК на белок вовлекает две важных стадии: транскрипцию и трансляцию. Транскрипция происходит в ядре и представляет собой синтез копии одноцепочечной РНК информации, сохраняемой в двойной спирали молекулы ДНК. Синтез

РНК катализируется ферментом РНК-полимеразой и является ассиметричным; это означает, что только одна цепь ДНК считается для получения РНК. Частота ошибки синтеза РНК составляет 1 на 10^4 – 10^5 , тогда как ошибка ДНК 1 на 10^9 . РНК – это полимер рибонуклеотидов. У эукариотов имеют место три типа считываемых молекул РНК: информационная РНК (иРНК), рибосомальная РНК (рРНК) и транспортная РНК (тРНК), каждая из которых синтезируется с участием различных РНК-полимераз. рРНК (считывается РНК-полимеразой-1) и тРНК (считывается РНК-полимеразой-3), часто рассматриваются как структурные ферменты, так как они являются интегральными компонентами рибосом. Молекулы иРНК, которые синтезируются при участии РНК-полимеразы-2, выполняют специальную роль: они содержат информацию от ДНК, которую переносят на рибосому, необходимую для кодирования последовательности аминокислот при синтезе белка. Эта информация запасается в иРНК как отдельные «слова» из трех нуклеотидов, обозначенных как «кодоны».

Второй важной стадией переноса информации по схеме «РНК – белок» является перенос (трансляция) кодонов иРНК в цепь аминокислот. Синтез белка осуществляется на рибосомах и в клетках эукариотов в цитоплазме. Рибосомы являются большими комплексами рРНК и белков, представленными одной большой (константа седиментации 60S) и одной малой (константа седиментации 40S) субъединицами, которые вместе функционируют как единое целое. Большая часть рРНК у эукариотов находится в малой субъединице. В рибосоме различают аминокислотный и пептидилный участки. Первый служит для фиксации поступающего на рибосому комплекса активной аминокислоты и тРНК, тогда как второй фиксирует полипептидную цепь, связанную с другой молекулой тРНК.

Основная функция малой субъединицы – связывание иРНК и тРНК, тогда как большая субъединица необходима для катализа пептидных связей, формирующейся белковой молекулы. Однако, каким путем последовательность оснований в иРНК контролирует последовательность связей аминокислот при синтезе белковой молекулы?

Биосинтез белка – сложный биосинтетический процесс, в котором принимают участие более 150 различных рибосомальных белков, ферментов, вспомогательных биологически активных веществ. Однако, несмотря на сложность этого процесса, на синтез полипептида из 100 аминокислот рибосоме *E. coli* необходимо лишь 5 с.

Начало синтеза белка связано с передачей информации, содержащейся в ДНК, дочерней молекуле иРНК. иРНК (одноцепочечная молекула разной длины) также содержит четыре вида оснований – А, Г, Ц, У.

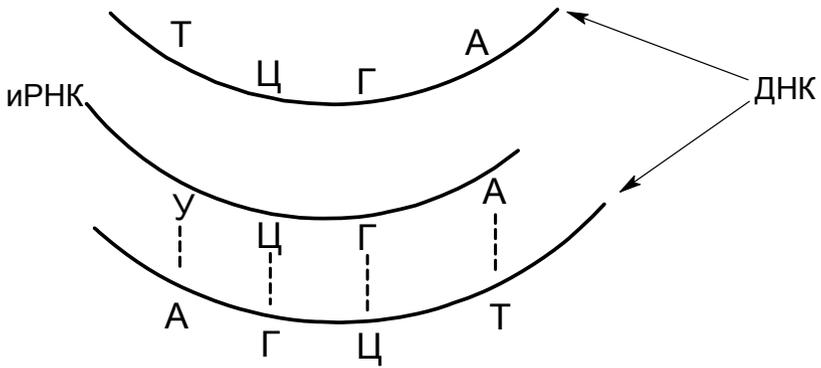


Рис. 6. Схема транскрипции

Трансляция, или передача информации, уже закодированной в иРНК, приводит к началу построения молекулы белка. Этот процесс начинается на рибосомах. Множество рибосом, связанных с одной молекулой иРНК, образуют полирибосомы (полисомы). Наличие полисом, связанных с молекулой иРНК, повышает эффективность использования иРНК.

Однако, как четырехбуквенный язык иРНК передается в двадцатibuквенный язык белка? В этом процессе обязательно участвуют так называемые транспортные рибонуклеиновые кислоты (тРНК). Эти тРНК специфически распознают уникальную последовательность азотистых оснований иРНК посредством комплементарности этих оснований. Молекулы иРНК являются самыми длинными – они включают до 5000 нуклеотидов. На их долю приходится лишь около 5% всего количества РНК в клетке.

тРНК являются самыми малыми молекулами, в их структуре лишь 75–110 нуклеотидов. На их долю приходится 10–15% общего количества РНК в клетке. Их основные функции – доставка аминокислот на полирибосомы (рибосомы + комплекс иРНК) и передача генетического кода на иРНК. В синтезе молекулы белка принимают участие 20 аминокислот, поэтому для них должно быть в клетке, по крайней мере, 20 различных тРНК – по одной для каждой аминокислоты. Однако в клетке выявлено свыше 60 типов тРНК, а значит, для транспорта отдельных аминокислот существует несколько типов тРНК.

Стадия «РНК → белок» представляет процесс синтеза белка, направляемый иРНК. Таким образом, передача информации всегда идет в направлении ДНК → РНК → белок.

Процесс трансляции включает следующие этапы:

- активация аминокислот и фиксация на тРНК;
- инициация синтеза полипептидной цепи;
- элонгация синтезируемой полипептидной цепи;
- терминация полипептидной цепи и ее освобождение;
- пространсляционная модификация полипептидной цепи.

Активация аминокислот требует наличие фермента аминоацил-тРНК-синтетазы и затраты энергии в виде АТФ. Вместе они формируют комплекс – фермент-АМФ-аминокислота + ФФн. В виде данного комплекса аминокислота с участием тРНК транспортируется на рибосому, осуществляющую синтез белковой молекулы. Синтетаза строго специфична, она способна узнавать как аминокислоту, так и молекулу тРНК. Таким образом, можно полагать, что в соответствии с числом аминокислот в клетке имеются не менее 20 различных синтетаз.

Аминокислота присоединяется к свободной 3'-ОН-группе концевого мононуклеотида тРНК, представленной всегда адениловой кислотой. тРНК имеет и другой важный участок – антикодон, с помощью которого комплекс аминокислоты и тРНК узнает определенную последовательность из трех нуклеотидов в структуре иРНК (в кодоне).

иРНК является посредником, передающим генетическую информацию из ядра в цитоплазму клетки. Синтез иРНК на одной из нитей ДНК в ядре клетки очень быстрый, обеспечивающий должную скорость биосинтеза молекул белка.

Для осуществления специфического контроля последовательности 20 аминокислот, принимающих участие в синтезе молекулы белка, необходимо иметь сочетание трех оснований иРНК. Из четырех оснований возможны $4^3 = 64$ варианта триплетного кода, что более чем достаточно для перевода информации с иРНК на синтез белковой молекулы.

Две аминокислоты – метионин и триптофан – кодируются лишь одним кодоном, тогда как другие 18 аминокислот кодируются группой кодонов. Поэтому генетический код является вырожденным, означая, что в большинстве случаев одна и та же аминокислота кодируется несколькими кодонами. Вырожденность затрагивает лишь третье основание триплета.

Таким образом, определенный кодон иРНК всегда соответствует определенному антикодону тРНК. В ходе белкового синтеза иРНК временно фиксируется на рибосоме, объединяясь с ее субъединицами и реагируя при этом с тРНК. Напомним, что триплетный код содержит 64 кодона для 20 аминокислот. Из них 3 кодона – бессмысленные (УАА, УАГ, УГА), тогда как 61 – кодируют только одну аминокислоту.

Генетический код – универсальный. Это значит, что кодовые слова аминокислот одинаковы у всех видов животного мира. Можно полагать, что все животные и растения имели в процессе ранней эволюции единого предшественника с одним генетическим кодом, сохранившимся до нашего времени.

Можно видеть, что специфичность каждого кодона определяется его первыми двумя буквами, тогда как третья буква менее специфична.

Синтез полипептида начинается (инициация) с фиксации двух антикодонов тРНК с кодонами иРНК. Этот процесс требует энергии, источником которой служит ГТФ, а также пептидилтрансферазы и целый ряд факторов элонгации. Под влиянием этого фермента скорость образования ковалентной связи достигает 1200 аминокислот в минуту.

Таким образом, каждый кодон иРНК соответствует специфической фиксации одной аминокислоты посредством антикодона тРНК. После образования дипептида свободная от аминокислоты тРНК отделяется от полисомы и поступает обратно в цитоплазму, тогда как иРНК продвигается относительно рибосомы (полисомы) на три нуклеотида (один кодон). тРНК, свободная от аминокислоты, покидает рибосому и способна доставлять новые молекулы аминокислот (элонгация).

Таблица 1

Генетический код

<i>Первый нуклеотид</i>	<i>Второй нуклеотид</i>				<i>Третий нуклеотид</i>
	У	Ц	А	Г	
У	Фен	Сер	Тир	Цис	У
	Фен	Сер	Тир	Цис	Ц
	Лей	Сер	---	---	А
	Лей	Сер	---	Трп	Г
Ц	Лей	Про	Гис	Арг	У
	Лей	Про	Гис	Арг	Ц
	Лей	Про	Глн	Арг	А
	Лей	Про	Глн	Арг	Г
А	Иле	Тре	Асн	Сер	У
	Иле	Тре	Асн	Сер	Ц
	Иле	Тре	Лиз	Арг	А
	Мет	Тре	Лиз	Арг	Г
Г	Вал	Ала	Асп	Гли	У
	Вал	Ала	Асп	Гли	Ц
	Вал	Ала	Глу	Гли	А
	Вал	Ала	Глу	Гли	Г

тРНК, связанная эфирной связью с определенной аминокислотой, поступает на рибосому (полисому) и взаимодействует с иРНК по типу комплементарности между кодоном и антикодоном.

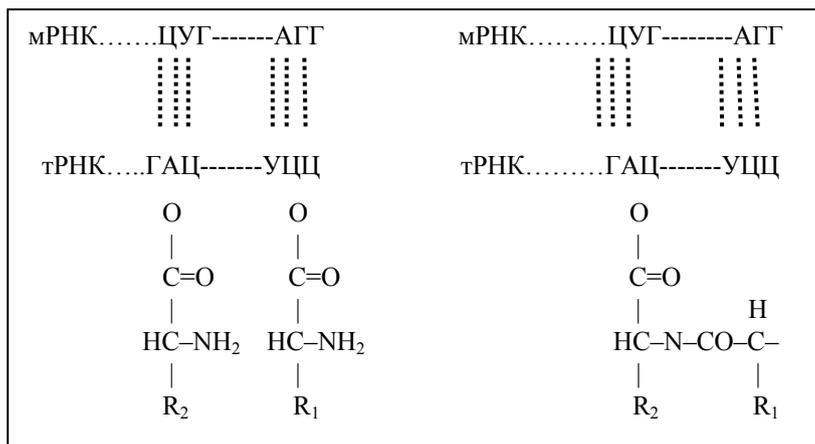


Рис. 7. Схема инициации синтеза полипептида

В результате этого перемещения (транслокации) свободный кодон иРНК занимает положение для узнавания очередной молекулы тРНК. Каждая из рибосом считывает последовательно все кодоны иРНК и участвует в синтезе белковых молекул независимо; при этом устанавливается порядок расположения аминокислот, доставляемых тРНК на место синтеза и четко превращая эту информацию в полипептидную цепь. При этом все кодоны иРНК должны быть прочитаны полисомами. Обычно метионин является начальной аминокислотой в синтезе полипептидной цепи, для которой кодоном является нуклеотидная последовательность АУГ иРНК. Можно утверждать, что рРНК в данном случае осуществляет контроль процесса синтеза белковых молекул.

Следовательно, в стадии элонгации происходит последовательное присоединение по одной аминокислоте к полипептидной цепи в строгом соответствии с порядком кодонов иРНК. При этом удлиняющаяся полипептидная цепь с одной молекулой тРНК фиксируется с большой субъединицей рибосомы. Присоединение каждой дополнительной аминокислоты к полипептидной цепи происходит за счет взаимодействия аминогруппы присоединяющейся аминокислоты в комплексе с тРНК и карбоксильной группы пептида.

Процесс элонгации белковой молекулы продолжается до тех пор, пока на уровне рибосомы не появится один из трех кодонов без смысла (non sans) – УАА, УАГ, УГА. Эти кодоны не кодируют, не связывают

какую-либо аминокислоту, поскольку для них в клетке не существует соответствующих антикодонов тРНК, комплементарных к ним. Теоретически, лишь один кодон «без смысла», узнаваемый полисомой во время ее прохождения в направлении 5–3 иРНК, должен привести к терминации, к прекращению синтеза молекулы белка. В результате полисома распадается: неиспользованная иРНК гидролизуется фосфорилазой, а субъединицы рибосом готовятся к синтезу новой молекулы белка.

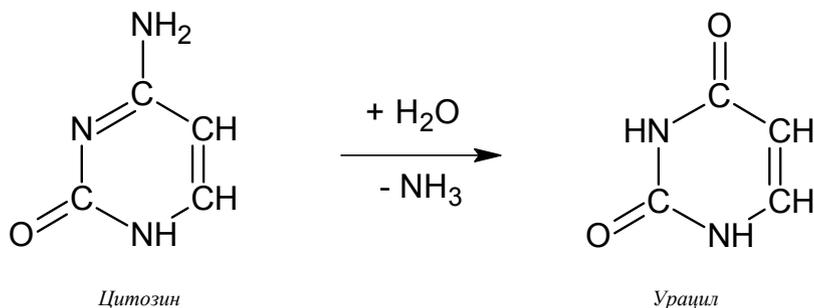
Хотя указанные три кодона не кодируют аминокислот и названы бессмысленными, тем не менее, они реально служат сигналом для окончания синтеза белковой молекулы. Молекула иРНК может неоднократно участвовать в процессе биосинтеза белка. Продолжительность функционирования этой молекулы неодинакова у различных организмов. Она может колебаться от нескольких минут до нескольких суток.

В ДНК закодирована лишь первичная структура белка. Вторичная и третичная структуры не кодированы, они определяются свойствами первичной структуры, а это значит, что та или иная форма белковой молекулы зависит от последовательности аминокислот и возможностей их взаимодействия между собой. Отдельные аминокислоты, например, оксипролин, оксализин, не имеют кодона и образуются с помощью химических реакций уже после завершения синтеза полипептидной цепи. Этот процесс получил название посттрансляционной модификации.

После отделения от рибосомы белковые молекулы поступают в эндоплазматические цистерны и аппарат Гольджи, где они временно депонируются перед выходом из клетки в межклеточную среду. Этот сложный процесс получил название секреции. В секреции участвуют гликозилтрансферазы и сульфотрансферазы, которые завершают синтез секретлируемых молекул и заканчивают также синтез гликопротеинов и гликолипидов мембран аппарата Гольджи.

В чем смысл двойной спирали молекулы ДНК? ДНК нужна не только для создания двух идентичных копий генетического материала, но и для того, чтобы информацию, заложенную в ДНК, можно было уберечь от возможных повреждений. Если бы между циклами удвоения ДНК была односпиральная, то ее невозможно было бы починить (М. Д. Франк-Каменецкий, 1988).

ДНК является единственной молекулой, которая при повреждении может быть восстановлена в клетке. Причины повреждений: ультрафиолетовое излучение (длина волны 200–400 нм), рентгеновские лучи, разрыв фосфодиэфирных связей, образование ковалентных перекрестных связей между цепями молекулы. Ультрафиолетовые лучи первоначально воздействуют на пиримидиновые основания. Следует сказать, что от вредного действия ультрафиолетового облучения животный мир защищен слоем озона атмосферы.



Спонтанный гидролиз (без участия ферментов) приводит к удалению аденина и гуанина с получением апуриновой ДНК. Повреждения структуры ДНК могут вызываться различными химическими агентами внешней среды, например, дезаминирующими (HNO_2) и алкилирующими агентами (диметилсульфат). Все химические соединения, вызывающие мутации, потенциально являются канцерогенными.

Например, спонтанный гидролиз аминогруппы цитозина вызывает получение урацила, который отсутствует в молекуле ДНК. Полагают, что спонтанное дезаминирование цитозина в урацил в молекуле ДНК случается, по меньшей мере, в 100 оснований генома в день.

Человек как вид, в отличие от обезьян, существует только несколько миллионов лет. При этом каждый ген человека имел способность аккумулировать сравнительно несколько нуклеотидных изменений, а многие из них должны были элиминировать естественной селекцией. Сравнение человека и обезьяны, например, показало, что их молекулы цитохрома *c* различаются на 1%, а молекулы гемоглобина – на 4% их аминокислотной последовательности. Понятно, что большое количество нашего генетического наследия должно быть сформировано много раньше, чем появился *Homo sapiens* при эволюции млекопитающих (которая началась 300 млн лет назад).

Несмотря на тысячи случайных изменений оснований каждый день в структуре ДНК, лишь небольшие стабильные изменения (мутации) сохраняются в ДНК в течение года. Известно, что менее чем одно из тысячи случайных изменений оснований ДНК вызывает мутацию; остальные элиминируются эффективным восстановлением ДНК (В. Alberts et al., 1994).

Имеется целый ряд восстановительных механизмов, которые катализируются различными ферментами. Все эти механизмы основаны на наличии двух копий генетической информации (двойная спираль ДНК). Если нуклеотидная последовательность одной спирали случайно изменена, то информация не теряется необратимо, а сохраняется в другой.

Механизмы восстановления ДНК включают три вида ферментов.

1. Измененный участок спирали ДНК узнается и удаляется ферментами, названными ДНК-восстанавливающими нуклеазами, которые гидролизуют фосфодиэфирные связи, которые соединяют поврежденные нуклеотиды с оставшейся молекулой ДНК.
2. Другой вид ферментов – ДНК-полимеразы – обеспечивают синтез комплементарной нуклеотидной цепи с информацией, заложенной в нормальной цепи («шаблоне»).
3. ДНК-лигазы катализируют образование фосфодиэфирных связей между свободной 3-гидроксильной группой дезоксирибозы и пятой фосфатной группы ДНК.

ДНК-полимеразы и ДНК-лигазы играют важную роль; они участвуют как в процессе репликации ДНК, так и в процессе восстановления структуры ДНК.

Ряд антибиотиков (эритромицин, линкомицин, хлорамфеникол) ингибирует бактериальный синтез еще на стадии трансляции. При этом бактериальная клетка гибнет или приостанавливает свое развитие. Пенициллины не являются прямыми ингибиторами синтеза белка, однако их эффекты ингибирования бактерии связаны с блокированием гексапептидов клеточной стенки.

Клетки эукариоты также имеют органеллы, митохондрии и хлоропласты, которые содержат ДНК. Синтез белка имеет место в митохондриях, которые представляют интересный пример полного протеосинтеза внутри одной органеллы. Митохондрии имеют полный и независимый аппарат синтеза белка для своих нужд, хотя не все митохондриальные белки синтезируются в этих органеллах.

Митохондриальные молекулы ДНК (мтДНК) более мелкие, чем ядерные хромосомы. Каждая митохондрия имеет до 10 копий молекул ДНК. Митохондриальные ДНК клеток растений насчитывают от 200 тыс. до 2,5 млрд оснований. ДНК хлоропластов насчитывает 120–160 млрд оснований. Существует широко распространенное мнение, что хромосомы являются древними бактериями, проникшими в цитоплазму клеток хозяина и ставшими прекурсорами этих органелл.

Наличие ДНК внутри митохондрий может способствовать появлению возрастных мутаций на основе генерации активных радикалов кислорода. Радикалы кислорода являются побочными продуктами окислительного фосфорилирования, и они составляют около 1% общего количества кислорода в клетке. Супероксидный ион, перекись водорода реагируют с белками, липидами, нуклеиновыми кислотами, нарушая их метаболизм.

Митохондриальная ДНК в 15 раз более чувствительна к процессам окисления, чем ядерная ДНК. Эта чувствительность объясняется местом ее локализации, недостатком защитных белков-гистонов и ограни-

ченной способностью восстановления. Основные участки генерации радикалов находятся между флавиновой дегидрогеназой и коэнзимом Q и коэнзимом Q и комплексом цитохромов цепи биологического окисления. Восстановленные флавины и хиноны реагируют с кислородом, образуя радикалы кислорода. Большое увеличение (10–100 раз) аномальной митохондриальной ДНК в мышце сердца человека может нарушать функцию сердца в случаях ишимии (D. C. Wallace, 1992).

РНК митохондрий составляют лишь 4% от всего количества РНК клетки. Рибосомы митохондрий меньше по размеру, чем цитоплазматические. В частности, обнаружение ферментов, способных восстанавливать специфические нуклеотидные последовательности, позволяет сегодня конструировать новые молекулы ДНК методами генетической инженерии. Снижение способности восстановления ДНК приводит к соматическим мутациям.

Мутации – это постоянные изменения наследственных признаков организма, вызываемые изменением одного или нескольких генов хромосом. Замена одного пуринового основания на другое или замена одного пиримидина на другой – это процесс изменения. Часто это не приводит к изменению в аминокислотной последовательности синтезируемого белка.

Замена пурина на пиримидин или замена пиримидина на пурин – это пересечение. При случайных мутациях следует ожидать больше случаев пересечений по сравнению с изменениями. Мутации могут вызывать изменение одного лишь основания или его удаление. Замена лишь одного нуклеотида в кодоне приводит к смене кодирования одной аминокислоты на другую. Изменения, связанные с нарушениями синтеза белковых молекул, получили названия летальных, в отличие от мутаций «молчащих», не вызывающих серьезных последствий для организма. Например, мутация, связанная с заменой глутаминовой кислоты на валин в молекуле гемоглобина, приводит к синтезу аномального гемоглобина, вызывающего серповидную анемию. Сегодня известны почти 300 мутаций полипептидной цепи молекулы гемоглобина человека.

Мутации в ДНК могут вызывать синтез дефектных ферментов, не способных катализировать обычные метаболические реакции. Фермент-мутант, имея несколько измененную специфичность, использует субстраты, которые клетка ранее была не способна метаболизировать. Такие клетки-мутанты будут иметь объективное преимущество перед популяцией оригинальной клетки. Мутантные клетки и их потомство будут выживать и преуспевать в новых условиях среды, тогда как оригинальные клетки будут голодать и элиминировать. Поэтому справедливо выражение Ч. Дарвина (1809–1882) о том, что «выживание уместно при селекционном давлении». Это означает, что клетки могут эволюционировать, продуцируя новые гены с новыми функциями, сохраняя первоначальный оригинальный геном.

Основной формой модификации ДНК человека является конверсия цитозина в 5-метилцитозин. Более 30% всех замен одиночных нуклеотидов, выявляемых при генетических болезнях, являются типа изменений. Изменения нуклеотидов могут иметь различные эффекты на фенотип. В настоящее время у человека найдены мутации в 2500 различных генах. Вероятность появления мутации у *E. coli* составляет 10^{-9} , в клетке человека – 10^{-5} .

Частота ошибок при синтезе иРНК составляет примерно одну ошибку на 104–105 нуклеотидов, что в 105 раз превышает ошибку при синтезе молекулы ДНК (Л. Страйер, 1985). Репликация ДНК в диплоидном геноме человека составляет ошибку 3 пар оснований при копировании 6 млрд пар оснований. Более того, около 10^4 оснований (в основном пурины) теряются клеткой ежедневно при спонтанном повреждении ДНК. Системы восстановления должны заменить эти основания, чтобы сохранить точность передачи генетической информации.

В связи с использованием все новых и новых химических агентов в жизни человека следует ожидать появлений дополнительных мутаций нуклеиновых кислот. В частности, на 1994 г. насчитывалось свыше 10 млн известных органических соединений, многие из которых активно используются в народном хозяйстве различных стран.

Рассмотренная схема передачи информации в виде ДНК → РНК → белок в отдельных случаях может быть изменена. В 1970 г. было установлено наличие у ряда вирусов ревертазы – фермента, синтезирующего ДНК по матрице РНК. При проникновении РНК-содержащего вируса в клетку его РНК информация передается на ДНК клетки. Последняя синтезирует мРНК, на матрице которой происходит синтез вирусных белков. Этот процесс носит название обратной транскрипции. И схема передачи информации в этом случае будет следующей: РНК → ДНК → РНК → белок.

Международный проект «Геном человека» в 2003 г. включал более 32 тыс. мутаций организма человека, в числе которых свыше 1300 генов ядра связаны с болезнями человека, в их числе мышечная дистрофия Дюшена, муковисцидоз, семейная гиперхолестеринемия, цистинурия.

Рашифровка структуры ДНК, выяснение ее генетической роли, механизмов репликации ДНК и биосинтеза белка явились основой развития генной инженерии. Генная инженерия – это искусственная модификация генетического аппарата клетки. Генная инженерия изучает проблемы направленного изменения наследственности на основе разрезания и сшивания молекул ДНК с последующим внедрением их в живую клетку. В результате получают рекомбинантные молекулы, состоящие из фрагментов ДНК, выделенных из разных видов организмов.

Генная инженерия позволяет манипулировать генами, что дает возможность передавать генетическую информацию от одного организма другому, не родственному ему по генетическим характеристикам. На основе генной инженерии уже получены отдельные рекомбинантные вакцины против инфекционных болезней животных.

Используя векторные молекулы ДНК, сегодня стало возможным внедрить в клетку гетерогенную молекулу ДНК и обеспечить в ней ее размножение (амплификацию) или включение в геном клетки. По этой технологии создана рекомбинантная вакцина на основе вируса оспы, содержащего ген антигена вируса чумы крупного рогатого скота. На основе вируса осповакцины также получена рекомбинантная вакцина против бешенства. Создана вакцина на основе генома вируса болезни Ауески (ДНК-вирус), в который внедрен ген антигена вируса классической чумы свиней (РНК-вирус) (Н. З. Хазипов, А. Н. Аскарлова, 1999).

Методом клеточной инженерии изучаются способы клонирования (получение однородных потомков одной исходной особи). Обсуждаются программы реконструкции вымерших видов животного мира путем удаления ДНК из сохранившихся клеток и введения ее в яйцеклетки с удаленными ядрами существующих видов. На основе уникальных свойств нуклеиновых кислот разработана полимеразно-цепная реакция (ПЦР) – специфический метод диагностики современных болезней человека и животных (автор – К. Маллис, 1983; Нобел. премия, 1993).

Животные или растения, получившие новую генетическую информацию как следствие введения чужеродных генов, получили название трансгенных. По этой технологии были получены мыши с геном, кодирующим гормон роста. Эти мыши росли в 2 раза быстрее, чем нормальные, уровень их гормона роста был в сотни раз выше, по сравнению с нормальными животными (R. H. Garrett, Ch. M. Grisham, 2005).

В мире сегодня насчитывается свыше 159 наименований генетически измененных продуктов. Многие трансгенно выращиваемые растения оказались устойчивыми к гербицидам, к различным болезням. Распространение получили такие трансгенные растения, как соя, кукуруза, томаты, картофель, рис, клубника.

Ферменты, производимые технологиями рекомбинантной ДНК, уже используются в производстве сахаров, сыров, детергентов. Получаемые при этом белки находят применение в виде биологически активных добавок, обеспечивающих аромат, запахи пищевым продуктам. В гуманной и ветеринарной медицине используются продукты рекомбинантной ДНК – инсулин, интерфероны, интерлейкины, эритропоэтин, моноклональные антитела, ряд вакцин, фермент супероксид-дисмутаза, пектиназы – для производства соков и вин.

Следует сказать, что в организме животных, человека, могут накапливаться различные соединения (микотоксины, пестициды, лекарства и др.),

способные вызывать образование мутагенов. Вероятно, и остаточные количества стимуляторов роста и лечения животных могут быть потенциально мутагенными структурами для человека. Отдельные виды растений содержат вещества, являющиеся мутагенами и канцерогенами для человека и животных. Мутагенами растительного происхождения являются флавоноиды, и, в частности, кверцитин – пигмент, определяющий желтую окраску сухих чешуй лука (*Allium cepa*). Из папоротника орляка (*Pteridium aquillinum*) выделено вещество аквилид А, обладающее мутагенной активностью. Этот вид папоротника способен вызывать карциномы кишечника у животных при его поедании.

Однако в растениях имеются вещества, обладающие антиканцерогенным эффектом, такие как каротины, способные блокировать свободнорадикальные процессы.

Альбумины, альфа- и бета-глобулины, фибриноген синтезируются в печени и составляют примерно половину всех белков, синтезируемых этой железой. Период полураспада их короткий – 7 дней для альбумина и 10 дней для глобулинов. Синтез антител, которые практически ассоциируются с гамма-глобулинами, что подтверждается методом электрофореза белков, происходит в клетках органов лимфоидной системы (лимфатические узлы, костный мозг, селезенка, тимус, групповые лимфатические фолликулы (пейеровы бляшки) и др.).

На сегодня выявлено свыше 100 различных белковых и небелковых фаторов, участвующих в иммунорегуляции организма. Антитела или иммуноглобулины синтезируются В-лимфоцитами или образующимися из них плазматическими клетками. Их уровень достигает 20% от общего белка сыворотки крови. В сыворотке крови млекопитающих различают 5 классов иммуноглобулинов: IgM, IgG, IgA, IgD, IgE. IgM-Антитела способны активировать систему комплемента. Ранние этапы иммунного ответа связаны в основном с IgM; IgA, циркулируя в различные жидкости организма, обеспечивают секреторный иммунитет; IgG способны проникать через плацентарный барьер, участвуют в разнообразных реакциях иммунного ответа; IgD выполняют в основном роль мембранных рецепторов для антигена. С помощью этих рецепторов каждый В-лимфоцит способен связывать до 150 тыс. молекул антигена (В. Н. Шабалин, Л. Д. Серова, 1988). IgE, связываясь с антигенами, вызывают последующие аллергические реакции. Поэтому иммуноглобулины могут находиться в организме, как в виде секретируемых антител, так и играть роль рецепторов В-лимфоцитов.

Следовательно, в организме имеет место, как активный синтез, так и распад белков. Клетка, таким образом, способна контролировать биосинтез белка. В 1961 г. Ф. Жакоб и Ж. Моно показали, что ассоциации генов, кодирующих синтез белка, находятся по всей цепи РНК. По их теории, регуляторный ген определяет синтез активного репрессора (бел-

ковой молекулы). При наличии индуктора репрессор инактивируется, и структурный ген освобождается от влияния регуляторного гена – начинается экспрессия структурного гена, приводящая к синтезу белка. Следовательно, продукция репрессора находится в зависимости от регуляторного гена. Так, в микробной клетке В-галактозидаза синтезируется лишь при наличии в среде В-галактозида (лактозы). В этом случае лактоза выступает индуктором.

У высших животных рост и развитие определяются различными гормональными факторами. В этом проявляется прямой эффект гормона на активность ферментов. Известно, что каждая клетка или ткань обладают различной способностью ответа на гормональное воздействие, и биосинтез белка не зависит только от действия одного гормона. Различные ткани отвечают очень разнообразно на один и тот же гормон. Гормоны действуют на биосинтез макромолекул, когда они в очень низкой концентрации, а в больших дозах вызывают токсический эффект. Можно полагать, что действие гормонов на синтез белка в клетке в конечном счете связано с ролью циклического АМФ.

Нарушения белкового обмена сопровождается нарушениями углеводного, липидного, витаминного, минерального обменов. Иммуногенез и естественная резистентность организма обусловлены функциями белков органов и тканей. Поэтому белковый обмен объективно рассматривается приоритетным среди других обменов веществ организма.

Контрольные вопросы

1. Что представляют собой нуклеотиды?
2. Опишите сущность схемы ДНК → РНК → белок.
3. Современное понятие гена.
4. Дайте характеристику следующим этапам синтеза белков: репликации, транскрипции, трансляции.
5. Что такое генетический код?
6. Роль рибосом в синтезе белков.
7. Возможен ли протеосинтез в митохондриях?
8. Назовите ученых – авторов структуры ДНК.
9. Что такое мутации? Назовите возможные мутагены.
10. В чем заключается практическое значение трансгенной инженерии?
11. Объясните, что значит универсальный и вырожденный генетический код.

МЕТАБОЛИЗМ В ПЕРИОД ЗИМНЕЙ СПЯЧКИ

Спячка – это пример адаптации животного организма к дефициту энергонесущих субстратов в неблагоприятных условиях окружающей среды на основе контролируемого понижения метаболизма. У насекомых состояние покоя называется диапаузой, которая характерна для ранних стадий развития, когда организм использует внутренние резервы. Например, активность обмена веществ у куколки цекропийного шелкопряда во время диапаузы – одна из самых низких во всем классе насекомых, тогда как во время полета – одна из самых высоких; при этом потребление кислорода различается в 2000 раз. У млекопитающих и птиц зимняя спячка представляет глубокий продолжительный сон с резким снижением температуры тела и обмена веществ.

Метаболизм зимней диапаузы остается под гормональным контролем и адаптацией ферментов. Активность ферментов в начальной стадии гликолиза возрастает, а в заключительной стадии остается неизменной. Значительно понижается скорость активности ферментов цепи биологического окисления, что приводит к снижению потребления кислорода тканями. Однако активизируется метаболический путь образования многоатомных спиртов.

Энергия, освобождающаяся в реакциях биологического окисления, конвертируется в электрохимический градиент за счет поступления протонов из матрикса на наружную митохондриальную мембрану. Этот электрохимический протонный градиент и является источником энергии для фосфорилирования АДФ в АТФ.

Протонный градиент, таким образом, через внутреннюю митохондриальную мембрану обеспечивает сопряжение реакции фосфорилирования с транспортом электронов от субстрата к конечному акцептору – O_2 . Действительно, если этот градиент отсутствует, то фосфорилирование АДФ не происходит, и в данном случае имеет место разобщение фосфорилирования и реакций биологического окисления.

У животных, впадающих в зимнюю спячку (сурок, летучая мышь), осуществляется физиологическое разобщение фосфорилирования. Это наблюдается в митохондриях бурой жировой ткани. Клетки этой ткани богаты триглицеридами и содержат очень большое число митохондрий, которые и создают бурую окраску жировой ткани.

Благодаря энергетике жировой ткани животные не замерзают, их температура тела понижается. Этот термогенез имеет место у всех новорожденных млекопитающих, которые борются при рождении против холода. Каналы протонов, обеспечивающие разобщение исчезают у молодых животных, но остаются на всю жизнь у животных, впадающих в зимнюю спячку.

Бурая жировая ткань используется как источник тепла у новорожденных (включая человека) и у взрослых животных в период зимней спячки, тогда как белая жировая ткань вовлекается в продукцию тепла у взрослых при низких температурах. Продукция тепла бурой жировой тканью инициируется адреналином, который активирует гидролиз триглицеридов.

У крупных млекопитающих (медведи) спячка может длиться до 8 месяцев без приема корма и воды и без испражнений. Мелкие млекопитающие могут спать 5–10 суток, как лесной сурик, затем просыпаются на сутки и активно поедают корма.

Ярким примером адаптации жирового обмена у млекопитающих служит зимняя спячка медведей гризли. Во время сна температура тела у этих животных на протяжении семи месяцев составляет 32–35°C, с расходом энергии равной 6000 калорий (1–1,5 кг жира) в сутки. Оказалось, что запасы жира служат единственным источником энергии во время зимней спячки медведя.

Бурая жировая ткань медведя специализирована в термогенезе. В ее клетках происходит разобщение окислительного фосфорилирования, что приводит к генерированию тепла для поддержания температуры тела у зимнеящихся животных, адаптированных к холодным условиям. Внутренняя митохондриальная мембрана митохондрий клеток содержит большое количество небольшого белка – термогенина («творец тепла»), который формирует каналы в мембране, обеспечивающие транзит протонов из цитозоля в матрикс, не затрагивая АТФ-синтазный комплекс, что обеспечивает постоянное окисление «топлива» без синтеза АТФ (D. L. Nelson, M. M. Cox, 2005). Этот рассеивающий энергию в виде тепла путь H^+ активируется жирными кислотами при распаде триглицеридов в ответ на сигнал адреналина.

При окислении триглицеридов клетки получают и значительное количество воды (окисление 1 г жиров приводит к получению 1,0 г воды). Значительный выход воды при окислении триглицеридов в достаточной мере компенсируют потерю воды в процессе дыхания медведя. Дополнительно, окисление глицеридов приводит к получению глицерола, трансформируемого в глюкозу. Распад аминокислот связан с получением мочевины, которая вновь используется для синтеза аминокислот. Верблюд не впадает в зимнюю спячку, но запасает в своих горбах большие количества жиров как источник энергии и воды.

У моржей, тюленей, пингвинов и других теплокровных животных запасы жиров обеспечивают теплоизоляцию от очень низких температур. У кашалота (длина тела достигает 20 м) триглицериды в форме спермацета ($C_{15}H_{31}COOH + C_{16}H_{33}OH$), в количестве до 4 т, на глубине 1–3000 м, где он охотится за кальмарами, способны кристалizоваться и становиться твердыми, обеспечивая его плавучесть, что свидетельствует об эволюции анатомической и биохимической адаптации этого вида животных.

Триглицериды являются лучшей формой запаса энергии по сравнению с гликогеном. Это объясняется тем, что триглицериды резервируются в почти обезвоженной форме и их жирные кислоты являются значительно более восстановленными соединениями. Поэтому именно триглицериды, а не гликоген, в ходе эволюции были отобраны в качестве основного резерва энергии для живого организма (Л. Страйер, 1985). Запасов гликогена в организме взрослого человека хватает менее чем на одни сутки, тогда как триглицериды составляют 13 кг и накопленной в них энергии достаточно на 2 месяца.

Однако триглицериды не могут быть использованы как источник энергии в отсутствие кислорода. Во-вторых, жиры не могут быть конвертированы в глюкозу каким-либо путем с целью поддержания уровня глюкозы для такой ткани, как мозг.

В растениях также запасы энергии представлены в виде триглицеридов, содержащихся в семенах, плодах, орехах. В случаях длительной спячки и при недостатке запасов жиров организм животного вынужден использовать на получение энергии, а значит, и на поддержание жизни, собственные белки, в частности, белки мышц. При этом наиболее активно в процесс глюконеогенеза в печени вовлекается аминокислота аланин.

Длительное голодание сопровождается усиленным распадом жиров и трансформацией жирных кислот в кетонные тела. Повышение концентрации кетонных тел в организме приводит к их использованию мозгом в качестве источника энергии. Следовательно, снижается потребность организма в глюкозе и распад белков на синтез глюкозы по пути глюконеогенеза. Таким образом, во время зимней (например, сурок – *Citellus laterallis*) или летней спячки (например, рыбы в жарком климате) в организме животного происходит выраженное снижение интенсивности метаболизма. Возможно, что это связано непосредственно со снижением активности гормонального статуса организма.

Многие насекомые обладают способностью выживать в период постепенного снижения температуры в условиях северных районов. Их адаптация к холоду объясняется синтезом многоатомных спиртов – глицерола и сорбитола, своеобразных антифризов.

У высших растений холодоустойчивость коррелирует с повышением уровня сахаров в клеточном соке. В первую очередь – это глюкоза, сахароза, фруктоза, которые посредством осмотического эффекта уменьшают вероятность образования в вакуолях больших количеств льда.

Контрольные вопросы

1. Роль бурой жировой ткани во время зимней спячки животного.
2. Роль белков в организме при зимней спячке животного.
3. Как выживают насекомые при понижении температуры окружающей среды?

ЖИЗНЬ В УСЛОВИЯХ АНОКСИИ

В эпоху формирования атмосферы Земли (4,5–4,8 млрд лет назад) кислород в ней отсутствовал и появился около 2 млрд лет назад в результате активной эволюции фотосинтезирующих организмов, таких как сине-зеленые водоросли (Р. Бохински, 1987).

Ранняя стадия развития жизни на Земле характеризовалась наличием восстановительной атмосферы (наличие водорода) при отсутствии кислорода. Вот почему первыми «поселенцами» Земли стали примитивные анаэробные прокариоты. Накопление кислорода в атмосфере способствовало появлению аэробных бактерий. Появление фотосинтеза приводит уже к снабжению клеток кислородом. Аэробные клетки могли получать больше энергии при окислении пищевых источников, которые могли быть полностью окислены до CO_2 . Однако эти организмы должны были сохранять способность анаэробного гликолиза. Денитрофицирующие бактерии переключились на нитратное дыхание, когда передачи функции кислорода были возложены на нитрат (NO_3^-):



При этом как кислородное, так и нитратное окисление субстрата (глюкозы) характеризуется значительным уменьшением свободной энергии (G – свободная энергия). Оба процесса эффективны в равной мере, так как выход АТФ на один моль углеродсодержащего субстрата одинаков, в силу сопряженного процесса транспорта электронов и субстратного фосфорилирования. Анаэробам для окисления субстратов кислород не требуется – они жители в бескислородной среде. Более того, облигатные анаэробы не способны использовать кислород, который является для них ядом. Однако факультативные анаэробы (большинство гетеротрофов) при наличии кислорода успешно используют его для окисления питательных веществ. Облигатные анаэробы в природе встречаются значительно реже, в основном это гельминты.

Кислород является высоко токсичным элементом, так как окислительные реакции с его участием (одноэлектронные переходы сопровождаются образованием O_2^- , OH^- , H_2O_2) могут свободно изменить метаболизм биологических молекул. Например, современные бактерии – анаэробы (почвенные микроорганизмы) быстро погибают при наличии кислорода атмосферы. Поэтому эти организмы на ранних стадиях эволюции должны были иметь защитные механизмы против возрастающего уровня O_2 в окружающей среде.

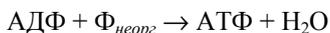
Увеличение уровня O_2 в атмосфере было очень медленным, что способствовало выработке защитных механизмов. Ранние моря содержали большие количества Fe^{2+} и почти весь O^{2+} , продуцируемый первыми

фотосинтезирующими бактериями, использовался для конверсии Fe^{2+} в Fe^{3+} . Эти геологические события имели место между $0,5-1,5 \cdot 10^9$ лет назад. Таким образом, биодоступность O_2 стала возможной для развития бактерий в аэробных условиях для получения АТФ. Эти организмы могли использовать большое количество энергии при распаде углеводов и других органических молекул до CO_2 и H_2O .

Гликолиз – парадигма метаболического пути, который сыграл центральную роль в первые два миллиарда лет биологической эволюции на Земле. Современные организмы до сих пор используют гликолиз, обеспечивающий энергией молекулы-прекурсоры для последующих катаболитических путей, например, для цикла трикарбоновых кислот.

У современных организмов в процессе анаэробного гликолиза (анаэробное расщепление глюкозы) конечным акцептором электронов является какая-либо органическая молекула (но не кислород). Различают два пути – гликолитический и спиртовой. Гликолитический путь включает две фазы. В первой фазе серия из пяти реакций трансформирует глюкозу в две молекулы 3-фосфоглицерата; во второй – пять последовательных реакций превращают молекулы 3-фосфоглицерата в две молекулы пировиноградной кислоты. При этом первая серия реакций затрачивает две молекулы АТФ, тогда как последующая серия реакций дает выход 4 молекулам АТФ. Значит, чистый выход энергии составляет две молекулы АТФ при окислении одной молекулы глюкозы. При этом генерация НАД^+ из $\text{НАДН}+\text{H}^+$ происходит за счет восстановления пирувата в молочную кислоту (конечный продукт гликолиза). В этом случае концентрация молочной кислоты в интенсивно работающей мышце млекопитающих может достигать 500 мг%. Из-за отсутствия кислорода молочная кислота не может быть конвертирована дальнейшему окислению. В частности, у молочнокислых анаэробных бактерий молочная кислота вызывает скисание молока, она же придает квашеной капусте ее характерный кисловатый вкус.

Гликолиз превращает некоторую, но не всю, метаболическую энергию глюкозы в АТФ (химическую валюту клетки). Энергия, получаемая в результате транспорта одной пары электронов по электронной цепи от $\text{НАДН}+\text{H}^+$ на кислород, составляет 52 ккал с получением трех молекул АТФ. Энергетический баланс окислительного фосфорилирования при этом составляет:



Стандартная свободная энергия для одной молекулы АТФ составляет $G^0 = 7,3$ ккал, а для трех молекул АТФ: $7,3 \cdot 3 = 21,9$ ккал. Следовательно, коэффициент полезного действия гликолиза составит:

$$21,9/52,0 \cdot 100 = 42\%$$

Этот показатель, несомненно, значительно превосходит аналогичный показатель современных тепловых машин, равный примерно 10%. В реакциях анаэробного гликолиза внутренние мембраны митохондрий клеток выступают как исключительно эффективная система трансформирования энергии. Часть этой энергии использует катаболизм клеток, тогда как другая часть выделяется в виде тепла. У млекопитающих и птиц это тепло служит для поддержания постоянной температуры тела, которая значительно выше температуры окружающей среды (у млекопитающих 37–39°C, у птиц 40–42°C).

У растений выделение тепла может быть очевидным в случаях большой дыхательной активности. Например, зерна в стадии прорастания имеют температуру на несколько градусов выше по сравнению с зерном без ростков. Помимо этого частного случая выделение тепла растениями происходит непрерывно; растения имеют примерно равную температуру окружающей среды, они теряют свое тепло по причине их большой поверхности при интенсивном испарении воды.

Дрожжи – одноклеточные грибы, размер которых в длину составляет 6–7 микрон. В зависимости от наличия сахаров они живут либо при наличии кислорода, либо в условиях его отсутствия. В первом случае они активно размножаются и дышат, выделяя CO₂ и значительное количество энергии:



Во втором случае размножение клеток менее быстрое; глюкоза распадается до этилового спирта и CO₂ при более низком выделении энергии:



Эта трансформация глюкозы в ряде сложных ферментативных реакций получила название спиртового брожения. Она позволяет жить этим клеткам в отсутствии кислорода, что рассматривается как феномен резистентности асфиксии.

Феномены резистентности не являются редкими среди растений; в частности, у фруктов, когда кислород плохо проникает внутрь плодов. При этом реакции приводят к рождению органических соединений (спирты и эфиры), придающих плодам их ароматы и перезрелость.

Спиртовое брожение протекает с участием всех углеводов (сахара и крахмал). В частности оно имеет место при изготовлении алкогольных напитков – вина, сидра, пива.

Анаэробные бактерии (*Bacillus amylobacter*) под влиянием маслянокислых ферментов разлагают углеводы (сахара, крахмал, целлюлоза) с получением масляной кислоты (CH₃–CH₂–CH₂–COOH) и выделением углекислого газа и водорода:



При лишении растений кислорода воздуха они продолжают жить, заменяя дыхание на брожение. Следовательно, реакции дыхания или брожения являются обязательными для жизни, эти реакции протекают непрерывно во всех живых клетках.

Анаэробный гликолиз имеет место в работающих мышцах позвоночных. Он очень важен как один из источников энергии. Гликолиз представляет запасной путь, способный дать две молекулы АТФ из одной молекулы глюкозы при отсутствии молекулярного кислорода. Это значит, что в случае дефицита кислорода в тканях уровень АТФ может еще поддерживаться, по крайней мере, на короткое время за счет гликолиза. Так, при родах у новорожденного во всех органах, за исключением мозга, циркуляция крови снижается, и энергетика тканей обеспечивается за счет гликолиза до восстановления циркуляции крови. Эта ситуация экономит кислород для мозга. У спортсменов-спринтеров кислород не успевает полностью окислять пируват в мышцах, поэтому в этой ситуации так же включается анаэробный гликолиз.

Красные мышечные волокна богаты кровью, содержат много миоглобина и число митохондрий клеток. В этих условиях мобилизуемый гликоген превращается в пируват, который при наличии кислорода может быть трансформирован в митохондриях в CO_2 и H_2O . Поэтому они могут функционировать непрерывно в течение длительного времени. У лошадей мышцы ног представлены преимущественно красными волокнами. У птиц во время перелетов на расстояния в 2–3 тыс. км нет недостатка в кислороде, а поэтому у них нет необходимости в использовании гликогена мышц. Напротив, белые мышечные волокна имеют меньшее кровоснабжение и меньшее число митохондрий клеток, они имеют высокую частоту сокращений и максимально функционировать они способны лишь на короткое время. В частности, аллигаторы, крокодилы способны к быстрым вспышкам активности при использовании АТФ белых мышц в условиях анаэробного гликолиза. При этом возрастает концентрация лактата – продукта анаэробного гликолиза, что затем требует длительного многочасового времени для его нейтрализации.

Система кровоснабжения многих мелких позвоночных может доставлять в их мышцы кислород достаточно быстро, чтобы предупреждать затраты мышечного гликогена анаэробным путем. Например, птицы-мигранты пролетают большие расстояния на большой скорости без отдыха, не испытывая недостатка кислорода. Это в определенной мере объясняется тем, что общий объем дыхательной системы у птиц примерно в 3 раза больше, чем у млекопитающих той же массы тела. Однако система кровоснабжения крупных животных, включая человека, не способна поддерживать аэробные условия в мышечной ткани при интенсив-

ной мышечной активности; для них необходим период отдыха для восстановления затрат кислорода.

Крокодилы и аллигаторы, например, обычно медлительные животные. После интенсивного «взрыва» энергии для них необходим длительный период восстановления для нейтрализации высокой концентрации молочной кислоты. Если тренированный спортсмен восстанавливает метаболизм менее чем за 30 минут после 100-метровой дистанции бега, то организм аллигатора для этого требует многих часов отдыха (D. L. Nelson, M. M. Cox, 2005).

Если землероющие животные (кроты, дождевые черви, землярыки, медведки и др.) свободно живут в рыхлой и тяжелой земле, то в водной среде отдельные виды животных очень чувствительны к уровню кислорода, они могут находиться только в воде с наличием кислорода (на поверхности озер, прудов). Кашалоты, в частности, способны погружаться в океанах на глубину в несколько километров для поиска корма, где содержание кислорода близко к нулю, а следовательно, их метаболизм имеет преимущественно анаэробный характер.

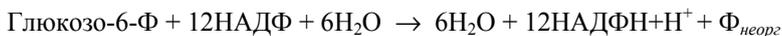
Однако известны организмы, живущие на большой океанской глубине, где концентрация кислорода близка к нулю. Так, примитивные крупные рыбы, обнаруживаемые на глубине более 4 тысяч метров у берегов Южной Африки, имеют по существу анаэробный метаболизм в их тканях. Они конвертируют углеводы в молочную кислоту и другие конечные продукты, большинство которых экскретируется.

Многие морские позвоночные ферментируют глюкозу в этанол и CO_2 для получения АТФ. При спиртовом брожении, например в дрожжах (более древний путь брожения), пируват декарбоксилируется в ацетальдегид с последующим его восстановлением в этанол при участии НАДН+ H^+ . Конечными продуктами спиртового брожения являются этанол и CO_2 . В частности, спиртовое брожение является основой при изготовлении пива.

На ранних стадиях эволюции животного мира процессы брожения обеспечивали метаболизм достаточным уровнем АТФ. Однако при усложнении биохимических процессов возникла необходимость в обеспечении тканей организма биосинтетическими восстановителями. Этому требованию отвечает пентозо-фосфатный путь, или гексозо-монофосфатный шунт, постоянно генерирующий НАДФН+ H^+ для восстановительных реакций в процессах биосинтезов, в частности в синтезе жирных кислот, холестерина. В дополнение к обеспечению НАДФН для биосинтетических процессов этот путь продуцирует рибозо-5-фосфат, необходимый для синтеза нуклеиновых кислот. Следовательно, ткани животных получили определенную независимость от внешней среды. Роль пентозо-фосфатного пути состоит также в том, что он продуциру-

ет CO_2 , играющему неоценимое значение в дальнейшей эволюции живых организмов.

Ферменты пентозо-фосфатного пути в больших количествах находятся в цитоплазме клеток печени и жировой ткани. Суммарно пентозо-фосфатный путь можно представить следующим уравнением:



Как видно, пентозо-фосфатный путь служит и генератором CO_2 , важнейшего компонента внешней среды.

С появлением фотосинтеза фотосинтезирующие клетки растений начинают улавливать энергию солнечного излучения, расходуя атмосферную CO_2 и воду на образование органических соединений (например, клетчатку и крахмал) с выделением в атмосферу молекулярного кислорода. Неспособные к фотосинтезу организмы стали получать необходимую энергию за счет окисления богатых энергией растительных продуктов атмосферным кислородом. Образующийся при этом CO_2 возвращается в окружающую среду и вновь вовлекается растениями в круговорот веществ. Хотя хлорофиллы поглощают солнечную энергию, однако на построение биомассы расходуется менее 10% всей получаемой полезной энергии, тогда как остальная часть энергии рассеивается в среде. Благодаря высокой аффинности к электронам кислород, которому не хватает двух электронов для заполнения внешней электронной оболочки, становится абсолютно незаменимым акцептором для новой формы обмена веществ – аэробного дыхания.

Гликолитический путь превращает глюкозу в пируват, генерируя две молекулы АТФ в расчете на одну молекулу глюкозы, что составляет только малую часть потенциальной энергии. При анаэробных условиях пируват восстанавливается в лактат у животных и в этанол в дрожжах, но значительная часть потенциальной энергии молекулы глюкозы остается неиспользованной (С. В. Васильева, Ю. В. Конопатов, 2009).

В присутствии кислорода пируват из гликолиза конвертируется в ацетил-КоА и окисляется в CO_2 в реакциях цикла трикарбоновых кислот (цикл лимонной кислоты, цикл Г. Кребса). Электроны, освобожденные этим окислительным процессом, проходят через НАДН+ H^+ и ФАДН₂ на кислород – финальный акцептор электронов. Транспорт электронов сопряжен с созданием градиента протонов сквозь мембрану, и энергия, запасаемая в этом градиенте, используется для стимула различных биосинтезов.

Можно сравнить энергетику анаэробного гликолиза и аэробного окисления глюкозы. Из 690 ккал энергии, теоретически содержащихся в одной грамм-молекуле глюкозы (180 г), окисляющейся до CO_2 и H_2O , в форме лактата остаются 630 ккал и 20 ккал заключено в двух молекулах АТФ, полученных в реакциях анаэробного гликолиза. В аэробных услови-

ях выход энергии иной – 38 молекул АТФ. Поэтому эффективность использования глюкозы в тканях в аэробных условиях выше, чем у анаэробов, примерно в 19 раз.

Таким образом, в эволюционном процессе благодаря высокому сродству кислорода к электронам появился новый тип обмена веществ – тканевое дыхание, где последним акцептором электронов стал кислород. Наличие в атмосфере и гидросфере значительных количеств кислорода способствовало в эволюционном процессе появлению животного мира с абсолютной зависимостью от аэробного метаболизма. При этом биохимическая адаптация к содержанию кислорода в организме обеспечивается за счет компенсаторной стратегии. Примером этого может служить функция «белых» мышц позвоночных, когда временный дефицит кислорода компенсируется анаэробным синтезом АТФ.

Непосредственным источником энергии для мышечного сокращения является АТФ, его гидролиз. В процессе мышечного сокращения происходит трансформация химической энергии в механическую. АТФ, требуемый для сокращения мышцы, не запасается в значительных количествах. Поэтому АТФ в мышце достаточно лишь для выполнения сокращения в течение долей секунды. Однако мышца способна ответить на нервный импульс сокращением в любой момент, что свидетельствует о наличии достаточно высокого и постоянного уровня АТФ в мышце. Это предполагает непрерывный ресинтез АТФ. Исследования свидетельствуют, что в организме среднего взрослого человека количество АТФ составляет лишь около 50 г. Однако в течение суток реакция синтеза и распада ($\text{АТФ} \rightarrow \text{АДФ}$) происходит 1300 раз, что позволяет иметь в организме за этот период свыше 60 кг АТФ (R. H. Garrett, C. M. Gerisham, 2005).

Действительно, мышцы содержат резервные запасы макроэрга в форме креатинфосфата, количество которого в покоящейся мышце в 5–8 раз превышает АТФ. Креатинфосфат при участии креатинкиназы обеспечивает передачу фосфатной группы на АДФ с образованием АТФ и креатинина, причем креатинфосфат обладает более высокой способностью к переносу фосфатных групп, чем АТФ.

В анаэробных условиях основным метаболическим топливом у животных в первую очередь служит гликоген, основная запасная форма углеводов, аналогом которой служит крахмал у растений. Гликоген в основном находится в печени (около 3%) и в мышцах (около 1%) животных.

Почему в процессе эволюции именно гликоген оказался запасной формой глюкозы в организме животного? Это объясняется тем, что, во-первых, жиры в мышцах не могут быть использованы быстро как источник энергии, по сравнению с гликогеном. Во-вторых, жиры могут быть источниками энергии при их окислении лишь в аэробных условиях. В-третьих, жиры не могут быть трансформирова-

ны в глюкозу каким-либо путем с целью поддержания уровня глюкозы такой тканью, как мозг. В частности, самая значительная концентрация гликогена присутствует в печени черепахи. У этого вида животных запасы гликогена наибольшие и в сердечной мышце, по сравнению с другими позвоночными (около 250 мкмоль/г).

Помимо изученного сбраживания глюкозы до лактата, когда образуются два моля АТФ на моль глюкозы, беспозвоночные (гельминты, моллюски двустворчатые) имеют такие альтернативные пути брожения, как:

- глюкоза → сукцинат (4 моля АТФ на 1 моль глюкозы);
- глюкоза → пропионат (6 молей АТФ на 1 моль глюкозы);
- аспартат → пропионат (2 моля АТФ на 1 моль аспартата) и др.

Указанные виды брожения снижают в несколько раз потребность животного в глюкозе. Следовательно, переключение метаболизма анаэробов на более низкий уровень функционирования приводит к снижению потребности в АТФ.

Контрольные вопросы

1. Аноксия и живые организмы.
2. Охарактеризуйте организмы-анаэробы.
3. Роль брожения в снабжении организма энергией.
4. Роль пентозо-фосфатного пути превращения глюкозы.
5. Роль АТФ в организме.

АДАПТАЦИЯ ФЕРМЕНТНЫХ СИСТЕМ

Тысячи химических реакций в клетках осуществляются с обязательным участием специализированных белков-ферментов.

Многочисленными исследованиями последних десятилетий изучены стратегические направления биохимической адаптации организмов к меняющимся условиям существования. Как показали П. Хочачка и Дж. Сомеро (1988), в основе биохимической адаптации организмов находятся три основных механизма: изменение типов, количества и функциональной активности белковых молекул.

В биологическом смысле слова адаптация – это соответствие организма животного (или растения) и условий жизни в окружающей среде. Молекулярные фенотипы – белки-ферменты, как и другие белки, составляют среднее звено между нуклеиновыми кислотами и целостным организмом. Поэтому практически регуляция метаболизма в тканях основана на регуляции типа и интенсивности ферментативных реакций. Имеются веские предположения, что в организме человека насчитывается до 1 млн различных белков (R. H. Garrett, Ch. M. Grisham, 2005).

Живые системы используют ферменты для усиления и контроля степени жизненно важных биохимических реакций. Действуя последовательно, ферменты формируют метаболические пути, в которых молекулы-субстраты распадаются, создавая тысячи определенных биомолекул в клетке, а энергия при этом трансформируется в метаболически используемые формы. Поэтому биохимия почти полностью объединена реакциями, катализируемыми ферментами (G. Hennen, 2006).

Одно из фундаментальных условий для жизни состоит в том, что организм обязан катализировать химические реакции эффективно и избирательно. Действительно, центральная важность катализа, например, наблюдается при поедании человеком столового сахара (сахарозы), его химическая энергия реализуется уже в первые секунды. Однако сахар может оставаться годами на столе без конверсии в CO_2 и H_2O . Без катализа окисление сахара не происходит.

Ферменты представляются центральными участниками в биохимических процессах. Действуя в организованной последовательности, они катализируют множество реакций, которые разрушают пищевые молекулы, сохраняют и трансформируют химическую энергию, синтезируют макромолекулы из простых предшественников.

Ферменты обладают удивительной каталитической способностью, имея высокую степень специфичности для их субстратов, они функционируют в водных растворах при очень средних температурах и рН среды. Только отдельные не биологические катализаторы обладают этими свойствами.

В 1897 г. немецкий биохимик Е. Buchner (1860–1917) установил, что экстракты дрожжей могут ферментировать сахар в алкоголь, доказав, что ферментация осуществляется молекулами, которые функционируют вне клеток. Это открытие явилось началом выделения и изучения ферментов. F. W. Kuhne (1875) назвал эти молекулы энзимами.

Ферменты – замечательные биохимические катализаторы, которые наделены тремя определенными характеристиками: каталитическая способность, специфичность действия, регуляция.

Ранняя гипотеза (hypothesis lock and key) – «замок и ключ», в которой связывание субстрата (фермента) с активным центром фермента (замок) обеспечивалось конформацией субстрата с последующей активацией химической реакции, в последнее время была заменена концепцией комплементарности ферментного состояния, где специфические связи переходного состояния реакции приводят к каталитическому процессу.

Сравнение фермент-катализируемой и некатализуемой реакций указывает на степень переходного состояния ферментативной стабилизации, обеспеченной связями. Ферменты способны изменить степень химической трансформации в 10^{15} – 10^{17} раз. Как видно, ферменты обладают огромной каталитической силой. Например, уреазы бобов осуществляют гидролиз мочевины при 20°C с активностью $3 \cdot 10^4/\text{с}$; активность этой реакции без уреазы равна $3 \cdot 10^{-10}/\text{с}$. Следовательно, каталитическая сила этого фермента составляет 10^{14} . Важным является то, что участие ферментов в химических реакциях происходит без вмешательства в баланс этих реакций. В конце реакции ферменты, сохранив свои каталитические свойства, вновь готовы к участию в следующей.

Химическая реакция достигает равновесия много быстрее в присутствии соответствующего фермента, поскольку увеличивается скорость этой реакции. Это иллюстрирует конверсия сахарозы и кислорода в CO_2 и H_2O :



Сахароза – стабильное соединение, так как барьер энергии активации, который должен быть преодолен в реакции сахарозы с кислородом, очень высокий. Сахароза может сохраняться в банке с кислородом неограниченный период времени без реакции; хотя процесс их взаимодействия термодинамически благоприятен, но он очень медленный.

Однако в клетках организма сахароза быстро трансформируется в CO_2 и H_2O в сериях реакций, катализируемых ферментами. Эти ферменты не только ускоряют реакции, но также организуют и контролируют получаемую энергию, делая ее доступной для других задач клеток (D. L. Nelson, M. M. Cox, 2005).

Каждый фермент является высоко избирательным как по отношению к субстрату, с которым он взаимодействует, так и по отношению

к реакции, которую он катализирует. При этом в каждой реакции не образуются конечные «бесполезные» продукты. Следовательно, эти продукты являются так же очень специфичными. Избирательные качества фермента являются коллективно определяемые как его специфичность. Скрытые взаимосвязи между ферментом и его субстратом выявляются через молекулярное опознавание, основанное на структурной комплементарности; в этом и состоит основа специфичности.

Отдельные ферменты имеют абсолютную субстратную специфичность, когда фермент катализирует реакцию лишь с одним определенным субстратом (фумараза участвует лишь в превращении фумаровой кислоты в яблочную). Большое число ферментов обладает относительной или групповой специфичностью (гексокиназа – К.Ф.2.7.1.1) катализирует фосфорилирование как глюкозы, так и фруктозы, маннозы, хотя и с разной скоростью.

Для ферментов характерна стереохимическая специфичность; в этом случае фермент оказывает влияние только на определенный оптический антипод субстрата (оксидазы D-аминокислот не окисляют L-аминокислоты). Наконец, ферменты различают субстрат-изомеры, выявляя различия между двумя равноценными атомами в симметричной молекуле субстрата (глицерол-киназа различает конфигурацию H и OH у второго атома углерода молекулы глицерина).

Регуляция активности ферментов – необходимое условие для интеграции и регуляции клеточного метаболизма. Регуляция активности ферментов происходит различными путями, начиная от контроля количества продукции белка-фермента, с последующими более быстрыми обратимыми взаимосвязями фермента с метаболическими активаторами и ингибиторами.

Адаптация ферментов в организме необходима при изменениях факторов окружающей среды (температуры, давления), а также в связи с возрастом животного. Например, В-галактозидаза в клетке *E. coli* обычно находится в очень малых количествах (около 5 молекул). Однако их число может резко увеличиваться при доступности питательных веществ в окружающей среде, что позволяет микроорганизму экономно использовать аминокислоты для синтеза необходимых белков.

Различают конститутивные ферменты, присутствующие в бактериях в постоянных количествах в основных метаболических блоках, и индуцируемые ферменты. В-галактозидаза является индуцируемым ферментом, поскольку потребность в нем возникает лишь при появлении в среде лактозы, которую он активно гидролизует до D-глюкозы и D-галактозы. Субстраты, способные вызывать синтез ферментов, получили название индукторов.

У прокариотов выявлена репрессия ферментов – это противоположный индукции тип изменения активности фермента. Так, при внесе-

нии в среду одной какой-либо аминокислоты клетка перестает синтезировать набор ферментов, необходимый для синтеза этой кислоты, тогда как синтез других 19 аминокислот протекает без изменений. Случай исключения синтеза фермента и представляет собой репрессию фермента.

Обычно рассматривают скорость простой ферментативной реакции с участием только одной молекулы субстрата. В большинстве ферментативных реакций, однако, две или более молекул различных субстратов связываются с ферментом и участвуют в реакции. Например, в реакции катализируемой гексокиназой, молекула АТФ и молекула глюкозы являются субстратами, а глюкозо-6-фосфат и АДФ являются продуктами этой реакции:



Ферментативные реакции с участием двух субстратов обычно включают перенос атома или функциональной группы от одного субстрата на другой. Эти реакции протекают различными путями. В некоторых случаях оба субстрата связываются с ферментом конкурентно, формируя нековалентные тройные комплексы. В других случаях первый субстрат конвертируется в продукт и диссоциирует после связывания второго субстрата, а поэтому тройной комплекс не формируется.

Общая организация системы регуляции обмена веществ складывается следующим образом: регуляторные ферменты, обеспечивающие основное направление метаболического потока, располагаются либо в начале метаболических путей, либо в местах их ключевых разветвлений. При этом активность этих ферментов зависит от наличия аденилатов клетки (АТФ, АДФ, АМФ), которые обеспечивают сопряжение между процессами, генерирующими и использующими энергию (Н. Н. Немова, И. А. Болотников, 1994). Последующие ферменты в каталитической цепи реакций определяют избыток каталитической активности; они могут обеспечивать реакции по мере использования их субстратов от предыдущих реакций.

Фосфорилирование является важнейшим типом регуляторной модификации; в частности, до половины всех белков в клетках эукариотов являются фосфорилированными. Этот тип ковалентной модификации является центральным в большом числе регуляторных путей. Отметим, что фиксация фосфатной группы на остатке специфической аминокислоты белка катализируется протеинкиназами; удаление фосфатной группы катализируется протеинфосфатазами. Чтобы являться эффективным регуляторным механизмом, фосфорилирование должно быть обратимым. В целом фосфатные группы фиксируются и удаляются различными ферментами. Клетки содержат семейства протеинфосфатаз, которые гидролизуют специфические Р-серин, Р-треонин, Р-тирозин эфиры, реализующие неорганический фосфат.

Активность регуляторных ферментов модулируется различными путями. Так, аллостерические ферменты функционируют посредством обратимых нековалентных связей аллостерических модуляторов или аллостерических эффекторов, которые являются мелкими метаболитами или кофакторами. Необходимость существования таких веществ совершенно очевидна, учитывая постоянно меняющиеся условия в клетках и своевременность изменения течения ферментативных реакций (В. В. Рудаков, 1985). Эти эффекторы связываются со специфическими участками фермента, называемыми аллостерическими центрами («аллостерический» означает «другой»). Модуляторами для аллостерических ферментов могут быть ингибиторы или активаторы. Аллостерические эффекторы всегда представляют собой продукты нормального метаболизма клетки.

Ферменты, имеющие как активные, так и аллостерические центры, называются аллостерическими. У многих аллостерических ферментов активный и аллостерический центры располагаются на различных субъединицах. Аллостерические ферменты являются более комплексными, по сравнению с простыми ферментами, они имеют две или более субъединиц. Например, аспартат транскарбамоилаза, обеспечивающая первую реакцию в биосинтезе пиримидиновых нуклеотидов, имеет 12 полипептидных цепей, образующих регуляторные субъединицы.

Связывание эффектора с одной субъединицей отражается на активности другой субъединицы. В этом проявляется эффект кооперативности, которая будет положительной в случае, если воздействие эффектора на первую субъединицу повышает ферментативную активность последующих субъединиц, или же отрицательной, если активность последующих субъединиц снижается.

У многих мультиферментных систем регуляторный фермент специфически ингибируется конечным продуктом системы, как только концентрация конечного продукта превышает потребности клетки.

Угнетение функции какого-либо фермента приводит как к блокировке соответствующей реакции каталитического воздействия на промежуточный продукт метаболизма, так и к дефициту образующегося в норме субстрата для последующей реакции (Г. Херцбергер, 2001). Примером этому является следующая ситуация: такие ферменты, как коллагеназы, металлопротеиназы матрикса, являются цинк-содержащими. В случаях вытеснения цинка более благородными металлами функция этих ферментов блокируется, что приводит к избыточному синтезу коллагена с последующим развитием фиброзов (J. F. Woessner, 1991).

Для многих ферментов неактивный предшественник, или зимоген, трансформируется в активный фермент. Многие протеолитические ферменты (протеазы) желудка и поджелудочной железы регулируются этим путем. Например, химотрипсин и трипсин, первоначально синтезируются как химотрипсиноген и трипсиноген, а затем путем необратимой

активации переходят в активную форму. Другие механизмы нужны для инактивации этих ферментов. Протеазы инактивируются ингибиторами белков, которые связываются очень прочно с активными центрами ферментов. Например, таким механизмом ингибитор трипсина поджелудочной железы угнетает трипсин.

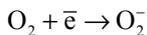
Уровень фермента зависит от потребности в нем. Например, при недостатке у крыс молибдена активность в печени ксантиндегидрогеназы незначительна: этот фермент активен лишь в присутствии молибдена. В отдельных случаях субстрат может угнетать синтез белка-фермента. Так, глюкоза подавляет синтез пируват-карбоксикиназы – фермента, необходимого для превращения пирувата в глюкозу. В микробных клетках изучен и феномен синтеза ферментов приспособительного характера. В частности, пенициллиназа индуцируется у микроорганизмов в ответ на пенициллин в среде, что является причиной образования резистентных микроорганизмов к данному антибиотику; это пример защитной функции фермента. Ферменты, новообразование или активация синтеза которых происходит под влиянием какого-либо фактора, получили название индуцируемых ферментов.

Другим примером могут являться ферменты, катализирующие нейтрализующие токсические для клетки радикалы (супероксидный ион, перекись водорода и гидроксильный радикал), которые образуются при взаимодействии субстратов с кислородом в цепи фотометрических или ферментативных реакций, как побочные продукты. Они способны повреждать мембраны, нуклеиновые кислоты, вызывать перекисидацию липидов, в результате чего происходит разрушение клетки. Из этих радикалов гидроксильный радикал представляет наибольшую окислительную опасность для структуры ДНК. От 0,1 до 4% O_2 , используемого активно функционирующей митохондрией, формируют супероксидный ион (O_2^-), что более чем достаточно для распада клетки (D. L. Nelson, M. M. Cox, 2005). Поэтому в процессе эволюции клетки выработали системы защиты против радикалов кислорода, включая такие ферменты, как каталаза, супероксиддисмутаза (СОД), которые превращают эти радикалы в безвредные продукты.

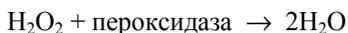


СОД образуется в реакциях цепи биологического окисления как частично восстановленный радикал убихинона, передающий электрон на молекулу кислорода.

Убихинон возможно способен переносить электрон на O_2 в реакции:



Перекись водорода инактивируется под влиянием глутатион-пероксидазы:



Отметим, что глутатион-пероксидаза содержит в своей структуре селеноцистеин.

Дыхательные ферменты составляют лишь конечное звено в катаболизме энергетических субстратов в клетках. Однако ключевые позиции в энергетическом обмене занимают ферменты, участники процессов гликолиза и гликогенолиза, такие как гексокиназа, фосфорилаза, фосфофруктокиназа, альдолаза, пируваткиназа и др. Под влиянием на организм различных чрезвычайных раздражителей изменяется активность многих ферментов. Показано, что чем дальше метаболит от начала гликолитической цепи, тем активность ферментов гликолиза увеличивается по мере приближения к терминальному концу процесса (Л. Е. Панин, 1983). При этом в состоянии стресса скорость гликолиза во всех тканях организма лимитирует гексокиназа, скорость гликогенолиза – фосфорилаза.

По данным Л. К. Кожевниковой, 1978, высокая активность ЛДГ у клеточных норок – потомков дикой американской, ведущей в природе полуводный образ жизни в условиях умеренных широт, связана с чрезвычайно высокой устойчивостью этих животных к гипоксии. В то же время у мутантных норок, выведенных в неволе, в отсутствии воды для плавания в летне-осенний период активность ЛДГ была значительно ниже, чем у стандартных животных. Возможно, что одомашнивание норок при исключении основного абиотического фактора среды (воды) привело к адаптации энергетического обмена с уменьшением доли анаэробного пути.

Преобладание аэробного пути метаболизма у цветных норок по сравнению со стандартными свидетельствует о том, что в цепи биохимической адаптации аэробный обмен является более поздней ступенью на основе уже функционирующему анаэробному механизму (П. Хочачка, Дж. Сомеро, 1988).

Однонаправленность ритмов размножения, обмена веществ, включая ферментативные реакции у пушных зверей, свидетельствует о консерватизме физиолого-биохимических функций, закрепленных длительным эволюционным процессом. Таким образом, действие ферментов в организме осуществляется на основе регуляции их синтеза и активности.

Контрольные вопросы

1. Что такое ферменты?
2. Понятие аллостерических ферментов.
3. Свойства ферментов как биологических катализаторов.
4. Определение изоферментов в диагностике.
5. Что такое индуцированные ферменты?

АДАПТАЦИЯ ДЫХАТЕЛЬНЫХ БЕЛКОВ

В процессе эволюции отбор способствовал механизмам, позволяющим обеспечить постоянное снабжение клеток организма кислородом. Среди многих специализированных белков гемоглобин обладает уникальными свойствами, связанными с переносом кислорода и углекислоты.

Адаптация систем дыхательных белков имеет много общего с адаптацией ферментов в разных физиологических условиях. Как первые, так и вторые способны связывать специфические лиганды, проявляя сродство к ним, и изменять свои свойства в ответ на регуляторные сигналы. В ответ на эти сигналы ферменты изменяют скорость катализируемых реакций, тогда как дыхательные ферменты изменяют свое сродство к кислороду. Для ферментов характерна достаточная скорость превращения субстрата в продукт, а дыхательные белки обладают достаточной кислородной емкостью, обеспечивающей поставлять кислород в ткани.

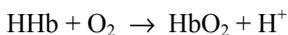
В частности, такие ферменты, как гексокиназа, лактатдегидрогеназа, глутаминсинтетаза, являясь регуляторными ферментами, регулируя катализ специфических реакций, способствуют регуляции скорости метаболического пути, в котором они участвуют как катализаторы. В свою очередь, гемоглобин, перенося кислород из легких в периферические ткани, регулирует и связывание кислорода в легких и освобождение его в тканях на определенные сигналы, например, на изменение концентрации CO_2 и величины рН.

Установлено, что гемоглобин гетерогенен как по первичной структуре, так и по функциональным возможностям. Вероятно, каждый компонент гемоглобина, или основные из них, обладают спецификой, адаптивная ценность которой различна в разных экологических условиях, на разных этапах онтогенеза и в различные периоды годового цикла. Это дает несомненные преимущества обладателям гетерогенного гемоглобина в процессе адаптации к разным экологическим и физиологическим условиям (А. С. Васильев, 1999).

С уменьшением величины рН сродство гемоглобина к кислороду снижается, а поэтому гемоглобин теряет значительное количество связанного им кислорода. Если гемоглобин артериальной крови, протекающей от легких в периферические ткани, насыщен кислородом примерно на 96%, то в венозной крови, возвращающейся в сердце, гемоглобин насыщен кислородом только на 64%.

Гемоглобин связывает кислород в количествах, достаточных для удовлетворения всех тканей. В то же время гемоглобин способен легко отдавать кислород всем тканям организма. Когда парциальное давление в тканях составляет около 100 мм рт. ст. и величина рН относительно вели-

ка (рН 7,6), то почти весь гемоглобин находится в форме оксигемоглобина, придавая крови ярко-красный цвет:



Во вдыхаемом атмосферном воздухе кислород составляет 21%; при этом почти 99% гемоглобина превращается в оксигемоглобин. При наличии в воздухе 10% кислорода около 90% гемоглобина переходит в оксигемоглобин, что свидетельствует о наличии в организме адаптационных механизмов к возможным изменениям концентрации кислорода в воздухе. Человек в течение суток потребляет 375 л чистого кислорода, которые находятся в 1900 л атмосферного воздуха.

В легочных капиллярах выделение CO_2 и повышение величины рН крови приводит к увеличению сродства гемоглобина к кислороду. Влияние величины рН и концентрации CO_2 на фиксацию и освобождение кислорода гемоглобином получило название эффекта Х. Бора. Следовательно, кривая насыщения гемоглобина кислородом зависит как от величины рН, так и от концентрации CO_2 . В периферических тканях при низкой величине рН и высокой концентрации CO_2 гемоглобин обычно освобождается от кислорода, тогда как в легких высокая концентрация кислорода (около 13,3 кПа) способствует выделению CO_2 и ионов H^+ . При этом кровь становится темно-красного цвета. В венозной крови гемоглобин насыщен кислородом примерно на 65%. Таким образом молекулы гемоглобина оказываются отлично приспособленными к совместному переносу эритроцитами O_2 , CO_2 и H^+ (D. L. Nelson, M. M. Cox, 2005).

Практически весь кислород крови животных связан и транспортируется гемоглобином в эритроцитах. Нормальные эритроциты человека мелкие (6–9 мкм в диаметре). Они формируются из предшественников – стволовых клеток, называемых гемоцитобластами. В процессе созревания стволовые клетки продуцируют дочерние клетки, которые синтезируют большие количества гемоглобина и теряют свои внутриклеточные органеллы – ядро, митохондрии, эндоплазматический ретикулум. Эритроциты поэтому являются незавершенными клетками, неспособными к репродукции и живущими лишь около 120 суток.

Диаметр эритроцита млекопитающих составляет 6–9 мкм. В одном эритроците насчитывается до 340 млн молекул гемоглобина. Благодаря наличию гемоглобина в эритроцитах они в 70 раз активнее связывают кислород, чем плазма крови. В 1 мм³ крови лошади содержится 6–12 млн эритроцитов, крупного рогатого скота – 5–8 млн, кур – 3–4,5 млн.

В эритроцитах взрослого человека гемоглобин составляет около 750 г, из которых 2,6 г приходятся на железо. Каждый миллилитр упакованных эритроцитов содержит 1,1 мг железа. В течение суток распадается

примерно 1% эритроцитов крови главным образом в печени, или 8 г гемоглобина с освобождением 25 мг железа, продукты распада которого выделяются в основном с каловыми массами.

Гемоглобин – наиболее распространенный дыхательный пигмент позвоночных и некоторых беспозвоночных, целенаправленное изучение которого длится уже более века. Гемоглобин – олигомерный белок, содержащий 0,34% железа от массы молекулы. Он включает четыре полипептидные цепи (две *a*-цепи по 141 остатку аминокислот и две *b*-цепи по 146 остатку аминокислот), каждая из которых содержит простетическую группу в виде гема. Эти цепи уложены в виде тетраэдра, образуя четвертичную структуру гемоглобина. Размер молекулы гемоглобина имеет диаметр около 5,5 нм.

Многочисленные сведения свидетельствуют об адаптации гемоглобина к функционированию на больших высотах, в процессе онтогенеза, к аэробному образу жизни, к температуре, изменению газового режима. В курсе эволюции гемоглобина только неизменными в белковых цепях являются аминокислотные остатки гистидин F8 (обязательный лиганд гема) и фенилаланин. Замена лишь нескольких аминокислот существенно влияет на регуляторную функцию дыхательного белка, что предполагает высокую степень пластичности процессов его адаптации и эволюции (Н. Н. Немова, И. А. Болотников, 1994).

Как тетрамерный белок гемоглобин способен связывать четыре молекулы кислорода. Связывая кислород, железо должно оставаться в закисной форме (Fe^{+2}). Метгемоглобин образуется, когда железо переходит в Fe^{+3} состояние. Однако метгемоглобин может быть восстановлен в гемоглобин ферментативно внутри эритроцитов.

Лактат, CO_2 и другие кислые продукты метаболизма понижают величину pH крови. Углекислота и ион H^+ облегчают диссоциацию HbO_2 , а недостаток их облегчает его образование. В данном случае ион H^+ рассматривается как отрицательный модулятор функции гемоглобина. Снижение величины pH может уменьшить и максимальную способность гемоглобина связывать кислород за счет понижения сродства гемоглобина к кислороду.

Важным регулятором оксигенирования гемоглобина в организме служит 2,3-дифосфоглицерат. При недостаточном поступлении кислорода в ткани в эритроцитах повышается концентрация 2,3-дифосфоглицерата, а сродство гемоглобина к кислороду снижается, что способствует диссоциации HbO_2 . В эритроцитах рептилий модулятором функции гемоглобина является инозитгексафосфат.

Миоглобин служит резервуаром кислорода в мышечной ткани, который может временно использован при недостаточном поступлении кислорода при интенсивной мышечной активности. Концентрация

миоглобина в мышцах зависит от вида животного. Например, у чистокровных лошадей она в 6 раз выше, чем в мышцах человека (E. Kolb, 1963).

Хотя железо в основном депонируется в клетках как ферритин, макрофаги содержат другое депо железа в форме гемосидерина, который представляет частично деградированную в лизосомах форму ферритина. Однако очень мало известно, как ферритин реализует себя в клетках (R. Ponka et al., 1998).

Основными местами запасаания железа являются печень (у человека), селезенка, костный мозг (у лошадей, крупного рогатого скота). Продукт неполного окисления углерода – СО (окись углерода), или угарный газ, имеет наибольшее сродство к гемоглобину. СО присутствует в генераторном, светильном, выхлопных, взрывных газах, в табачном дыме как постоянный компонент. В США примерно 4000 человек отравляются ежегодно угарным газом (D. L. Nelson, M. M. Cox, 2005).

Организм человека производит и выделяет с выдыхаемым воздухом в течение суток около 10 мл СО. В частности, молекула СО продуцируется при разрыве метиновой связи между пиррольными кольцами структуры гема в случае распада гемопротеинов. Однако СО взаимодействует не только с гемоглобином, но и с другими хромопротеинами организма, такими как цитохромы, цитохромоксидазы, а поэтому к гипоксии крови присоединяется и тканевая гипоксия, что сопровождается головной болью, нарушением координации движений, утратой самоконтроля. Гемоглобин имеет выраженную аффинность к СО и достаточно слабой концентрации этого газа в атмосфере, чтобы появился в крови карбоксигемоглобин (Hb–СО), вытесняя таким образом кислород из молекул оксигемоглобина. В этом случае гемоглобин теряет свою функцию транспортера кислорода. При наличии в крови карбоксигемоглобина она приобретает алый цвет.

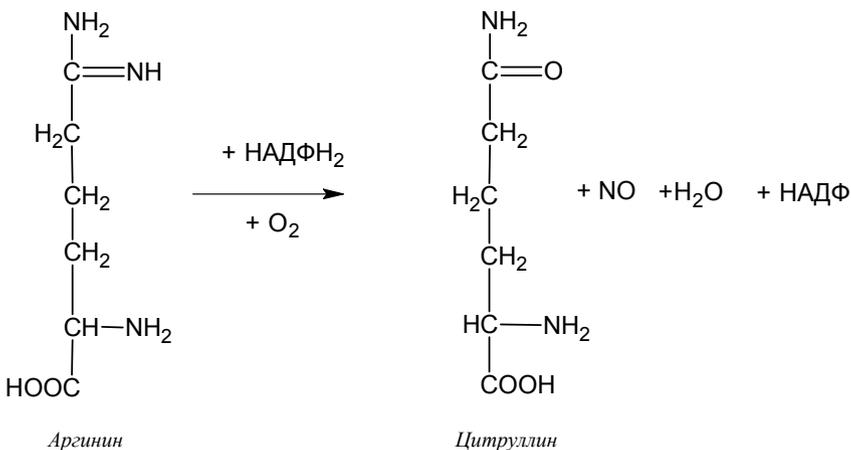
Сродство гемоглобина к кислороду регулируется также таким низкомолекулярным соединением, как 2,3-дифосфоглицерат (ДФГ), образующийся в эритроцитах. Эритроциты нормально содержат около 4,5 мМ ДФГ. Сильно отрицательная молекула ДФГ электростатически связана с позитивно заряженными функциональными группами, такими как лизин, гистидин. Таким образом, ДФГ и O₂ являются обоюдно исключительными аллостерическими эффекторами для гемоглобина, несмотря на то, что места их связывания являются физически различными. ДФГ снижает сродство гемоглобина к кислороду. Обычно гемоглобин связан с ДФГ, но при полном удалении ДФГ гемоглобин приобретает более высокое сродство к кислороду. На большой высоте в горах, где парциальное давление кислорода значительно ниже, чем на уровне моря, содержание ДФГ в эритроцитах увеличивается, что способствует осво-

бождению кислорода из гемоглобина в тканях. Следовательно, ДФГ является необходимым модулятором функции гемоглобина. У птиц эту функцию выполняет инозитолгексафосфат.

ДФГ выполняет свою жизненную функцию у человека, большинства приматов. Однако гемоглобины крупного рогатого скота, овец, коз, оленя и других животных имеют более низкую аффинность к кислороду и их гемоглобины сравнительно инертны к ДФГ. У рыб, эритроциты которых содержат митохондрии, регуляторная роль ДФГ обеспечивается за счет АТФ или ГТФ. У птиц и рептилий эту функцию выполняет инозитолгексафосфат.

Интересными представляются взаимоотношения гемоглобина с окисью азота (NO). Известно, что окись азота является высокоаффинным лигандом для гемоглобина, связанным с атомом Fe²⁺ гема при аффинности в 10 тыс. раз большей, чем с O₂.

Окись азота – газ, который генерируется в различных клетках, включая эндотелий, гладкие мышцы, сердечную мышцу, макрофаги и клетки центральной нервной системы. NO синтезируется из аргинина и молекулярного кислорода с участием НАДФН:



Установлено, что окись азота в крови реагирует с сульфидгидрильными группами цистеина, образуя S-нитрозопроизводное:



Эта S-нитрозогруппа формирует с глутатионом небольшие тиоловые молекулы:

азота очень нестабильная молекула, она произвольно распадается в течение нескольких секунд.

Эффект действия NO на кровеносные сосуды объясняется механизмом действия нитроглицерина, который конвертируется в окись азота, расслабляющую кровеносные сосуды сердца, и таким образом увеличивая поступление крови в сердечную мышцу.

В последние годы установлено, что окись углерода (CO) также функционирует как нервный медиатор для мозга. CO в организме образуется в результате метаболизма гема при участии гем-оксигеназы. В отличие от NO, окись углерода является стабильной молекулой (R. Roskoski, 1996). Продуцируемый в тканях CO₂ поступает в кровь, где формирует такие соединения, как H₂CO₃ и NaHCO₃. Часть их поступает в эритроциты, образуя в них H₂CO₃ и KHCO₃, а другая, меньшая часть, взаимодействуя с глобином, образует карбоксигемоглобин. В легких давление углекислого газа очень низкое, при котором H₂CO₃, NaHCO₃ и карбоксигемоглобин диссоциируют в плазме, выделяя CO₂, который поступает в альвеолы легких.

Замечательным примером анатомической и биохимической адаптации являются кашалоты, питающиеся в основном кальмарами морей. В их спермацетовом мешке, расположенном над верхней челюстью, содержится около 4 тонн спермацета (воска) – смеси триглицеридов. При нормальной температуре тела кашалота (37°C) воск имеет жидкую консистенцию, но при погружении на глубину 1–3 км температура воды понижается и понижается температура тела животного до 31°C; в результате воск кристаллизуется и становится более плотным. При этом плавучесть кашалота изменяется в соответствии с изменением плотности морской воды на большой глубине. Присутствующие в составе спермацета непредельные жирные кислоты (C₁₅H₃₁COOH) обеспечивают необходимую температуру плавления этого воска (D. L. Nelson, M. M. Cox, 2005).

Контрольные вопросы

1. Как вы представляете структуру гемоглобина?
2. Дайте характеристику биологической роли гемоглобина в организме.
3. Что такое метгемоглобин?
4. Роль окиси азота и окиси углерода в организме.
5. Отличие структуры миоглобина от структуры гемоглобина.

УГЛЕРОД И АЗОТ В ПРИРОДЕ

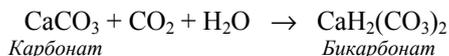
Поверхность Земли составляет 88,4 млн км², из которых максимум используются человеком лишь 30%.

Четыре основных химических элемента (С, Н, О, N) составляют в живых организмах более 99% массы большинства клеток, тогда как в земной коре эти четыре элемента вместе составляют менее 1% от ее массы. Атомные веса Н, С, N и О равны 1, 12, 14 и 16, соответственно. В клетках живых организмов углерод составляет 55% сухого вещества, азот – 9%, кислород – 27%, водород – 3–4%. Азот в виде N₂ изобилует как газ в атмосфере (78%), кислород составляет 21%, а углерод в форме СО₂ присутствует в воздухе в концентрации 0,03%.

В свободном состоянии углерод известен в трех видах: в виде угля, графита и алмаза. В виде соединений углерод входит в составе органических соединений. Уголь можно превратить в графит при высокой температуре. Графит встречается в природе в виде сплошных масс (Монблан). Алмаз в виде кристаллов встречается в россыпях алмазных копей (Бразилия, Индия, Южная Африка, Урал). Все живое (совокупность живых организмов биосферы) в конечном счете в значительной части своей массы происходит из угольной кислоты атмосферы или угольной кислоты, растворенной в воде, так как это единственный источник, из которого оно извлекает потребный ему углерод (В. И. Вернадский).

Углерод является уникальным среди химических элементов, так как превосходит все элементы количественно вместе взятые. Это объясняется фактом, что углерод может формировать разнообразие сильных ковалентных связей: образование четырех простых ковалентных связей (СН₄), образование двух простых и одной двойной связи (С₂Н₄), образование одной простой и одной тройной связи (С₂Н₂). Атом углерода имеет 6 электронов с четырьмя на внешней орбите. Необходимая энергия для отнятия или присоединения этих четырех электронов очень высокая, поэтому такие ионы, как С⁴⁺ и С⁴⁻, не существуют. Углерод существует в атмосфере в форме СО₂. Углекислый газ растворим в воде; полагают, что океаны содержат его в количестве 5 · 10¹³ тонн, тогда как атмосфера (до 11 км высоты) содержит 6 · 11¹¹ тонн.

Карбонат кальция, магнезия, железа – компоненты земной коры. Карбонат кальция является составной частью раковины моллюсков, панциря морских ежей, полипов, скелета позвоночных. Вода содержит растворимые бикарбонаты (бикарбонаты кальция), в отличие от нерастворимого карбоната кальция:



Реакция показывает, что при повышении уровня CO_2 в атмосфере формируются бикарбонаты, тогда как при уменьшении уровня CO_2 уровень бикарбонатов снижается. Поэтому воды океанов всегда имеют постоянный уровень атмосферного CO_2 . Отметим, что оксид углерода, диоксид углерода, карбонаты являются минеральными соединениями.

За счет ковалентных связей атомы углерода способны образовывать многочисленные разнообразные структуры, как линейные, так и разветвленные цепи, циклические, сетчатые и их комбинации. Все вещества, имеющие структуры из ковалентно связанных атомов углерода, получили названия органических.

Углерод по праву можно рассматривать в эволюции живых организмов первостепенным среди всех других химических элементов на Земле за его способность формировать различные химические связи. В наше время число органических соединений углерода, хорошо изученных в странах мира, составляет порядка 10 млн. Они находятся в структурах белков, жиров, углеводов, органических кислот, пигментов, резины, алкалоидов и т. д. Их структуру составляет так называемый органический углерод.

Клетки содержат четыре основных семейства органических молекул: простые сахара, жирные кислоты, аминокислоты и нуклеотиды. Макромолекулы (белки, полисахариды, нуклеиновые кислоты) составляют 26% общей клеточной массы.

Зеленые растения благодаря энергии солнечных лучей, поглощаемых хлорофиллом, осуществляют синтез органических соединений из минеральных веществ, заимствованных из почвы или воды, и CO_2 . Отдельные анаэробные бактерии, живущие во влажной земле, в илах озер, содержат пигмент подобный хлорофиллу и являются способными к фотосинтезу.

Другие неокрашенные бактерии, аэробы, автотрофы могут жить в присутствии только минеральных веществ, среди которых должны быть CO_2 и карбонаты. Синтезы органических соединений такими клетками получили название хемосинтеза.

Реакции декарбонирования у животных и растений на клеточном уровне приводят к получению диоксида углерода, вновь оказывающимся в воздухе или воде. Следует указать, что трансформируя углерод в углекислый газ, зеленые растения совместно с океанами поддерживают постоянный уровень этого газа в атмосфере, что отдельно дыхание гетеротрофов выполнять неспособно. Благодаря функции хлорофилла зеленые растения обогащают воздух кислородом.

В организме млекопитающих распад Fe-порфиринов (гемов) при участии гемоксигеназы приводит и конвертирует гем биливердин

с освобождением Fe^{2+} и CO . Окись углерода является токсичным соединением для клеток в высоких концентрациях, но при очень низкой концентрации она имеет, вероятно, регуляторную и (или) сигнальную функцию. Она играет роль вазодилатора, как и NO , хотя и в меньшей мере.

Полагают, что весь кислород атмосферы обновляется в две тысячи лет. Очевидной становится роль «зеленых поясов» вокруг городов. Расчеты показывают, что имеющееся количество CO_2 атмосферы израсходуется в течение 15 лет в процессе фотосинтеза только зелеными растениями, если не иметь дыхания, ферментации, окисления, резерва карбонатов в воде.

Хотя наиболее химически активной частью окружающего нас воздуха является кислород, но наибольшую массу, как по объему ($\frac{3}{4}$ объема воздуха), так и по массе составляет газообразный молекулярный азот (Д. И. Менделеев, 1906). Главенствующую активную роль в атмосфере играет кислород. Но объективное представление об азоте воздуха познается в том, что в чистом кислороде животные не могут долго жить.

Молекулярный азот ($\text{N}=\text{N}$) изобилует в земной атмосфере, однако он является химически неактивным газом. Только отдельные прокариоты, обитающие в водах, почве (*azotobacter*) могут фиксировать атмосферный азот в органических молекулах в процессе, получившем название «фиксация азота». Азот необходим для биосферы в целом, без него жизнь на планете была бы невозможна.

Все позвоночные животные получают азот с пищей в составе белков и нуклеиновых кислот. В процессе метаболизма эти молекулы-полимеры распадаются до аминокислот и нуклеотидов соответственно, а затем повторно реполимеризуются в новые белки и нуклеиновые кислоты или используются в форме других органических молекул. В частности, около половины из 20 аминокислот белков являются незаменимыми аминокислотами, которые не могут быть синтезированы из других компонентов рационов. Незаменимые аминокислоты синтезируются безпозвоночными организмами обычно энергетически затратными путями, которые были утрачены у позвоночных по пути их эволюции.

Нуклеотиды для синтезов ДНК и РНК синтезируются различными биосинтетическими путями: не существует «незаменимых нуклеотидов», которые должны быть обязательно в рационе. Все азотистые основания пуриновых и пиримидиновых оснований являются производными активных аминокислот (глутамина, аспарагиновой кислоты, глицина), а рибоза и дезоксирибоза являются производными глюкозы.

Аминокислоты, не используемые в биосинтезах организма, могут быть окислены до CO_2 и H_2O , тогда как их азот может быть трансформирован в мочевины, экскретируемую в мочу.

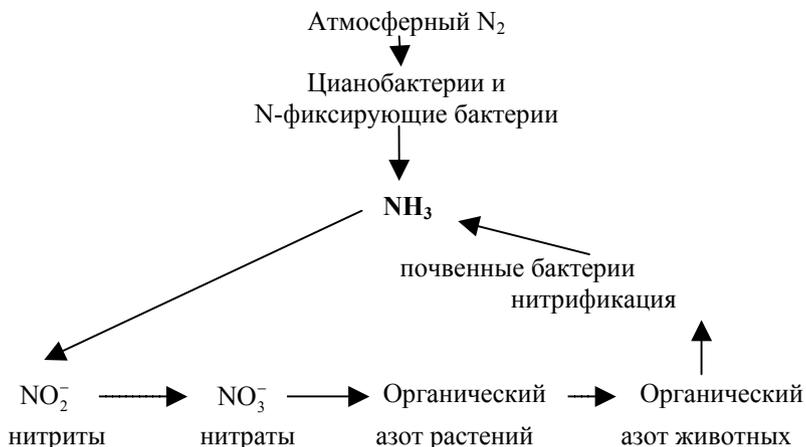
Азот – газообразное вещество, трудно сгущаемое в жидкость и малорастворимое в воде. Около -213°C азот затвердевает в снегообразную массу. Один литр азота весит 1,25 г.

Азот не горит, не поддерживает горения, химически не поглощается ни одним реагентом при обычной температуре. Этот элемент не обладает энергией для образования соединений, но в особых условиях, при электрических разрядах, например, азот соединяется с кислородом, образуя азотную кислоту. Растения и особенно животные, нуждаясь в газообразном свободном кислороде, немислимы без питания азотистыми соединениями, так как в их организмах азотистые соединения составляют химически активную составную часть. Однако растения и животные не поглощают прямо газообразный азот воздуха, а используют его из готовых азотистых соединений. Жизнь растений и животных невозможна без содержания в них азотистых веществ. Общая масса азота, ежегодно связываемого биосферой, превышает 10^{11} кг.

Все живые организмы нуждаются в азоте, который необходим для синтеза аминокислот, нуклеотидов и других соединений. Основным источником азота является воздух, который содержит 78% молекулярного азота. Однако лишь некоторые виды способны превращать атмосферный азот в формы, используемые живыми организмами. Эти виды и обеспечивают круговорот или цикл азота в природе. Источник органического азота биосферы есть азот атмосферы нашей планеты.

Первым этапом в этом цикле является реакция фиксации (восстановления) атмосферного азота азотфиксирующими бактериями с образованием аммиака (NH_3 или NH_4^+). Многие живые организмы могут усваивать аммиак, однако широко распространенные виды почвенных бактерий (*Azotobacter*) существуют за счет окисления аммиака до нитритов (NO_2^-) и нитратов (NO_3^-). Многие виды бактерий и растения при участии нитратредуктаз способны вновь превращать нитраты до аммиака. Этот аммиак затем растения и животные используют для синтеза аминокислот и белков.

После смерти животных азотсодержащие вещества возвращаются в почву, где нитрифицирующие бактерии вновь трансформируют аммиак в нитриты и нитраты. Эти почвенные бактерии используют NO_3^- как последний акцептор электронов, который (подобно окислительному фосфорилированию) генерирует трансмембранный протонный градиент, который необходим для синтеза АТФ. Нитрифицирующие бактерии (*Nitrobacter*) в обрабатываемых почвах с хорошей аэрацией в летний период обеспечивают наличие до 200 кг нитратов на одном гектаре пашни (G. Vogel, H. Angermann, 1994).



Связь N=N очень стабильна с энергией связи 930 кДж/мол. Фиксация азота имеет очень высокую энергию активации и поэтому атмосферный азот химически инертен при нормальных условиях.

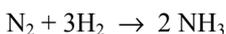
В природе азот находится в составе объектов живой и неживой природы в виде органических и неорганических соединений. Так, неорганический азот содержится в минеральных веществах почвы в виде нитритов, нитратов и аммиачных солей. В живых организмах азот входит в состав белков, нуклеиновых кислот и в других азотсодержащих небелковых веществ (аминокислоты, мочевины, креатинин, мочевая кислота и др.). Кроме того, в биосфере имеется огромное количество молекулярного азота, составляющего 78% от объема атмосферного воздуха.

Аммиачные соли также участвуют в росте зеленых растений. При внесении во влажную почву аммиака он быстро фиксируется и поглощается зелеными растениями. Растворимые формы органического азота, такие как аминокислоты, мочевины, ураты легко поглощаются зелеными растениями.

Небольшое количество нитратов образуется в природе из атмосферного азота, который взаимодействует с кислородом под действием электрических разрядов во время грозы.

Известно, что бобовые растения (горох, фасоль, клевер, эспарцет и др.) не только нуждаются в азотных удобрениях, но и обогащают почву азотом. Свойство бобовых фиксировать атмосферный азот объясняется наличием на их корнях специальных узловатых наростов 4–5 мм в диаметре. Этот факт указывает на необходимость аэрации пашни, которая способствует ее обогащению азотом.

В фиксации азота корневыми клубеньками важная роль принадлежит еще недостаточно изученному ферментному комплексу – нитрогеназной системе. При участии этого фермента происходит вероятно восстановление молекулярного азота до двух молекул аммиака:



В фиксации азота на корневой системе растений участвуют бактерии-симбионты. Следует напомнить, что для удобрений (NH_4NO_3 – аммиачная селитра) аммиак получают также восстановлением атмосферного азота. Практика земледелия свидетельствует, что растениям часто требуется больше растворимых соединений азота, чем их находится в почвах.

В организме животного в результате многих реакций (в их числе реакции дезаминирования и трансаминирования) происходит постоянное образование ядовитого соединения азота – аммиака, в первую очередь для мозга. В крови аммиак находится почти полностью в виде иона аммония (NH_4^+), который не способен проникать сквозь различные мембраны. Однако небольшой процент NH_3 легко проникает в митохондрии клеток мозга, где реагирует с альфа-кетоглутаровой кислотой и таким образом, снижая активность цикла трикарбоновых кислот, нарушает энергетику за счет глюкозы – главного энергетического субстрата мозга.

У многих животных аммиак из крови транспортируется в печень в форме глутамина и аланина через глюкозо-аланиновый цикл. В частности, глутамин, являясь основной формой транспорта аммиака, присутствует в крови млекопитающих в концентрации 6–10 мг%. Глутамин является основным донором NH_2 -групп для синтеза многих азотсодержащих соединений, включая пуриновые и пиримидиновые основания, другие аминокислоты. Поэтому его концентрация в крови значительно превышает наличие других амидов аминокислот.

В печени уреотелических наземных животных (человек, крупный и мелкий рогатый скот, лошади, свиньи, лягушки и др.) имеется активная аргиназа, и аминный азот нейтрализуется и выводится из организма в виде мочевины ($\text{NH}_2\text{--CO--NH}_2$). На долю азота мочевины мочи у этих животных приходится до 90%. У пластиножаберных рыб одним из конечных продуктов распада пуриновых оснований является мочевина, содержащаяся в значительных количествах в жидкостях тела, где выполняет функцию осморегуляции.

Мочевина – хорошо растворимое в воде нейтральное соединение. При образовании одной молекулы мочевины используется также один ион бикарбоната (HCO_3^-), а следовательно, за счет синтеза мочевины организм поддерживает рН крови. Из курса общей биохимии извест-

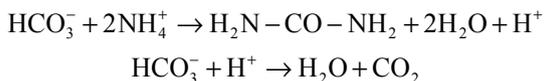
но, что синтез мочевины, цикл трикарбонных кислот и окислительное фосфорилирование тесно взаимосвязаны.

Синтез мочевины – процесс энергозатратный. В определенной мере эти затраты у многих видов млекопитающих возмещаются за счет их симбиоза с микрофлорой пищеварительного тракта. У жвачных основное количество мочевины кормов, слюны, а также за счет выделения стенкой рубца из крови, поступает в рубец (первый отдел желудка) жвачного животного, в котором бактериальный фермент уриказа гидролизует ее до свободного аммиака, CO_2 и H_2O .

Аммиак используется затем бактериями для синтеза новых аминокислот, включая незаменимые, или поступает в печень для синтеза мочевины. Интересно, что у верблюдов мочевина поступает в пищеварительный тракт, сохраняя для организма запасы воды. В этом проявляется приспособительная функция организма верблюдов, живущих в жарком климате. У крупного рогатого скота суточное количество мочевины в моче составляет 60–100 г, у лошадей – 75–150 г.

Урикотелические животные (птицы, рептилии, змеи) освобождаются от аминного азота в форме мочевой кислоты, не требуя значительного количества воды. Мочевая кислота – плохо растворимое соединение в воде, что очень важно для организма птицы. У моллюсков и у млекопитающих, помимо приматов, мочевая кислота окисляется уратоксидазой в аллантаин и экскретируется.

Интересно, что синтез мочевины, или орнитиновый цикл, помимо образования мочевины является также и механизмом экскреции избытка ионов HCO_3^- , наблюдаемых при катаболизме альфа-аминокислот:



Таким образом, орнитиновый цикл следует рассматривать как насос, осуществляющий трансфер ионов H^+ от NH_4^+ на HCO_3^- против термодинамического барьера. В этом процессе потенциально токсические продукты – аммиак и бикарбонат – экскретируются из организма.

На многих островах у побережья Южной Америки, являющихся местами птичьих базаров, имеются огромные запасы мочевой кислоты, которые являются ценным удобрением. Таким путем этот органический азот возвращается в почву и вновь используется для синтеза аминокислот растениями и почвенными микроорганизмами (А. Ленинджер, 1985).

У костных рыб (аммонотелические животные) через жабры аминный азот выделяется в виде иона аммония в окружающую воду. У этих рыб аллантаин способен гидролизываться аллантаиназой в аллантаиновую кислоту перед экскрецией. Хрящевые рыбы (акулы, скаты) и

земноводные расщепляют аллантоиновую кислоту с участием фермента аллантоиказы на молекулу глиоксиловой кислоты и две молекулы мочевины. В свою очередь простые животные, такие как большинство морских беспозвоночных (ракообразные), используют фермент уриказу для гидролиза мочевины до CO_2 и NH_3 .

Белки, биологическая функция которых состоит в обеспечении для организма резервуара необходимых нутриентов, называются запасными белками. Так как белки являются полимерами аминокислот, а азот обычно является лимитирующим нутриентом, организм имеет определенные белки как средство для обеспечения должного количества азота в нужное время. Например, овальбумин – белок яйца, обеспечивает развитие эмбриона птицы как источник азота в изолированной среде яйца. Казеин – количественно основной белок молока, является важным источником азота для новорожденных млекопитающих.

Семена высших растений часто содержат около 60% белка, необходимого источника азота для прорастивания семян в этот критический период развития растений. Зеины – семейство низко молекулярных белков кукурузы. Использование белков как источник азота более эффективно, чем запасание равного количества аминокислот, так как растворяющая нагрузка клеток менее выражена в случае растворения одной молекулы полипептида по сравнению с растворением 100 молекул свободных аминокислот (R. H. Garrett, C. M. Grisham, 2005).

Контрольные вопросы

1. Органическая химия – химия углерода.
2. Биохимическая роль азота в организме животного.
3. Проблема пищевого белка в современном мире.

ЭКОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ БИОТРАНСФОРМАЦИИ КСЕНОБИОТИКОВ

Сегодня человек использует множество химических веществ в быту, сельском хозяйстве, медицине и все они способны вызвать биохимические нарушения в организме и даже его гибель.

Ежегодно около 120 тыс. синтетических химических соединений находится в постоянном использовании. Поэтому одной из главных задач является поиск методов, позволяющих предсказать возможные последствия и оценивать потенциальный риск применения химикатов (В. А. Исидоров, 1999).

В связи с этим возникают вопросы по изучению механизмов приспособления животных и человека к существованию в различных экологических условиях.

Химические вещества, поступающие в организм и не представляющие для него пищевой ценности, принято относить к ксенобиотикам (от *греч.* *xenos* – чужой, *bios* – жизнь), чужеродные для организма соединения. Среди них: ядохимикаты (пестициды, гербициды, инсектициды), соединения растительного происхождения (алкалоиды, гликозиды, органические кислоты), микробные яды, ядовитые существа (членистоногие, рыбы, змеи, моллюски), лекарственные вещества, препараты бытовой химии, промышленные отходы и пр. Ксенобиотики могут нарушать равновесие природных процессов в биосфере, вызывать негативное влияние на живые организмы.

Ограниченность способности экосистем и организмов к обезвреживанию чужеродных веществ приводит к тому, что в биогеоценозах часто могут присутствовать сублетальные – малые количества загрязняющих веществ, на первый взгляд не опасных из-за их низкой концентрации. Однако низкие концентрации загрязняющих веществ почти также опасны, как и высокие концентрации, поскольку могут происходить хронические отравления малыми дозами поллютантов. Так, отравление пестицидами содействовало бесплодию популяций тюленя в Балтийском море. Последнее привело к вымиранию вида (Н. Н. Немова, И. А. Болотников, 1994).

Хроническое воздействие ксенобиотиков может иметь канцерогенное, мутагенное и тератогенное (аномалии в развитии плода) последствия. В зависимости от количества чужеродного вещества, поступившего в организм, оно может быть индифферентным, лекарством или ядом. Врач, естествоиспытатель средневековой медицины Ф. Парацельс (1493–1541 гг.) утверждал: «Все есть яд. И ничто не лишено ядовитости; одна лишь доза делает яд незаметным».

Международными организациями приняты ПДК – предельно допустимые концентрации чужеродных веществ в пищевых продуктах.

К высокотоксичным элементам относят: As, Hg, Be, Cu, Cd, Pb, Sn, Al, Ni, Cr, Ti. Ксенобиотики могут поступать в организм через пищеварительный тракт, органы дыхания, кожные покровы. Проникая в организм, ксенобиотики преодолевают внутренние клеточные и мембранные барьеры, такие как гематоэнцефалический и плацентарный. В частности, спирты легко попадают в кровь плода через плаценту. Вот почему младенцы рождаются с признаками привыкания к наркотикам, если их матери являлись наркоманками.

С увеличением молекулярной массы затрудняется поступление ксенобиотика в организм и распределение его по тканям. Небольшой молекулярной массы гидрофильные молекулы обладают ограниченной проникающей способностью. Способность проникать через биологические мембраны во многом определяется растворимостью вещества. Обычно высокомолекулярные липофильные вещества относительно легко проникают во все органы и ткани организма, тогда как вещества, плохо растворимые в липидах и воде, практически не способны поступать в ткани организма и поэтому не обладают общетоксическим действием (В. П. Салова и др., 2007).

Растворимость ксенобиотика в воде – обязательное условие его распределения в тканях организма. Дополнительно, с увеличением растворимости вещества в липидах, возрастает задержка его в организме. Большинство токсикантов представляют собой слабые кислоты или слабые основания. Часто это инертные соединения.

Попадая в организм, ксенобиотики белковой природы испытывают в желудочно-кишечном тракте влияние ферментов организма, а также влияние ферментов микрофлоры. Из пищеварительного тракта ксенобиотики или продукты их распада поступают в кровь и в различные органы и ткани, в которых они депонируются или завершается их метаболизм.

В природных условиях ксенобиотики способны претерпевать разнообразные биохимические превращения (биотрансформации) – претерпевать полную минерализацию до CO_2 и H_2O или распад до низкомолекулярных, менее токсичных соединений. Определенная часть этих соединений может оставаться в организме на длительный период, образуя за счет установления ионных, водородных, ковалентных связей, связей Ван-дер-Ваальса, комплексы с белками тканей.

Процессы биотрансформации ксенобиотиков осуществляются в печени, почках, легких, в желудочно-кишечном тракте, в жировой ткани. В эндоплазматическом ретикулуме клеток печени находятся ферменты, катализирующие многие чужеродные вещества, поступающие в организм. Живые организмы не имеют специфических ферментов для разложения ксенобиотиков. Однако микросомальные ферменты обладают высокой аффинностью к различным чужеродным веществам при относи-

тельной химической неспецифичности. А поэтому они вступают в реакции биотрансформации с любым химическим соединением, поступившим в организм (Г. И. Оксенгендлер, 1982).

Превращения в первой фазе метаболизма ксенобиотиков, протекающие с участием неспецифических ферментов, можно представить следующим образом:

- реакции окисления;
- реакции восстановления;
- реакции гидролиза;
- реакции конъюгации.

Во второй фазе биотрансформации ксенобиотиков протекают реакции конъюгации промежуточных продуктов с глюкуроновой, серной кислотами, с метильными молекулами, что придает токсикантам гидрофильные свойства, способствующие выведению их из организма.

Метаболиты биотрансформации ксенобиотиков из печени в виде конъюгатов поступают в почки, в которых также имеется специфическая система захвата и дальнейшего катаболизма продуктов конъюгации.

Различные группы ферментов в организме катализируют окислительно-восстановительные реакции в катаболизме токсикантов. В их числе:

- цитохром Р-450-зависимая монооксигеназная система;
- флавиносодержащие монооксигеназы;
- пероксидазы;
- дегидрогеназы;
- флавопротеинредуктазы.

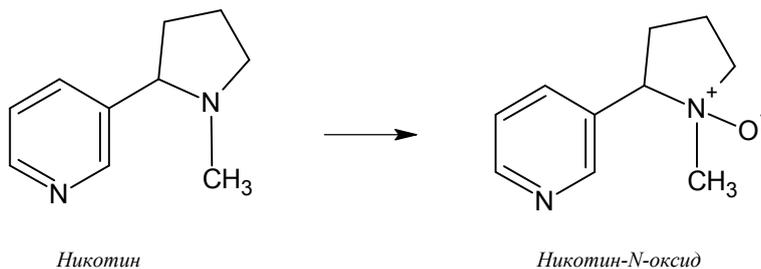
В основе окислительных реакций выступают биохимические превращения чужеродных соединений из жирорастворимых в водорастворимые с участием монооксигеназ и, в частности, с цитохромом Р-450. Цитохром Р-450 является гемопротеином эндоплазматического ретикулума, коферментом которого служит НАДФН и использует O_2 в форме субстрата. Цитохром Р-450 способен взаимодействовать как с O_2 , так и с СО при длине волны 450 нм. В окисленной форме этот цитохром образует с чужеродным веществом (субстратом) комплексное соединение, которое восстанавливается с участием цитохромоксидазы. Восстановленное соединение реагирует с активированным кислородом, образуя окисленное, нетоксичное вещество. Цитохром Р-450 участвует в гидроксировании ряда лекарственных веществ и других ксенобиотиков, что приводит к повышению их растворимости в воде и выведению из организма. Таким образом, цитохром Р-450 играет важную роль как агент детоксикации токсических веществ.

Цитохром Р-450 участвует не только в метаболизме ксенобиотиков, но также и различных органических соединений организма (катехоламины, тиреоидные гормоны, стероидные структуры).

Многие пероксидазы участвуют в нейтрализации перекиси водорода, трансформируя их в воду и спирты. Окислительные реакции в растениях катализируются пероксидазами; в результате катализа жиры растений превращаются в углеводы с участием механизма фотодыхания, когда гликолат трансформируется в глиоксалат, окисляемый до CO_2 . В этих реакциях кислород восстанавливается до H_2O_2 , катализируемой затем каталазой.

Каталаза участвует также в окислении таких субстратов, как спирты, фенолы, муравьиная кислота и других соединений, служащих донорами электронов (Н. И. Шорникова, 2000).

Флавиносодержащие монооксигеназы локализируются в эндоплазматическом ретикулуме. Принимая электрон от НАДФН, эти ферменты окисляют ксенобиотики типа основных азотсодержащих веществ. Например, реакция превращения никотина в никотин-N-оксид:



Дегидрогеназы митохондрий и цитоплазмы способны катаболизировать как алифатические, так и ароматические спирты и альдегиды. Последующая трансформация альдегидов в кислоты катализируется НАД-зависимыми альдегиддегидрогеназами.

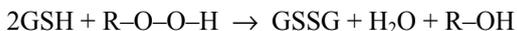
Флавопротеинредуктазы часто приводят к получению свободных радикалов кислорода (супероксидный ион, гидроксильный ион, перекись водорода) в клетках. Эти активные радикалы повреждают различные биомолекулы в клетках и инициируют цепные реакции дополнительного образования радикалов из аминокислот, нуклеиновых кислот, жиров, что, в конечном счете, приводит к лизису клеток.

Для нейтрализации свободных радикалов кислорода организм животного в процессе эволюции выработал ферментативные и неферментативные механизмы защиты.

Ферментная линия защиты представлена ферментами – супероксиддисмутазой (СОД) и каталазой. Изучены две изоформы – Cu- и Zn-содержащая фракция и Mn-содержащая. СОД.



К ферментной системе антирадикальной защиты следует отнести и глутатионпероксидазу, которая восстанавливает перекись водорода и другие перекиси до алкоholes и воды. Образующийся при этом глутатион-дисульфид подвергается восстановлению до глутатиона с участием НАДФН-зависимой глутатионредуктазы. В структуре глутатионпероксидазы находится остаток селеноцистеина (CH_2Se^-). Восстановленный глутатион также необходим для поддержания сульфгидрильных групп белков в их восстановленной форме, предупреждая, таким образом, негативные эффекты окислительного стресса. Его окислительно-восстановительная функция также используется для удаления токсических перекисей в аэробных условиях:



Глутатион присутствует в организме животных, в растениях, в отдельных бактериях.

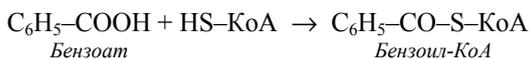
Реакции восстановления в контексте реакций первой фазы биодegradации ксенобиотиков актуальны для восстановления нитросоединений, которые в тканях растений восстанавливаются нитро- и азоредуктазами. Кроме того, дисульфидные группировки, как, например, цистин, восстанавливаются с разрывом дисульфидного мостика и образованием свободных SH-групп:



Реакции гидролиза включают расщепление белков, жиров, углеводов. В этих реакциях важны эстеразы (гидролиз эфиров), амидазы (гидролиз амидов кислот).

Реакции конъюгации показывают связывание ксенобиотиков и продуктов их трансформации с гидрофильными соединениями. Такими соединениями, вступающими в необратимое взаимодействие с ядами в организме животного, являются глюкуроновая кислота, серная кислота, глицин, цистин. В частности, глюкуроновая кислота связывает различные ядовитые продукты, поступающие в печень (фенол, индол, билирубин, стероиды и др.).

У травоядных животных бензойная кислота взаимодействует с HS-CoA, а затем с глицином, и конвертируется в конъюгат-гиппуровую кислоту, которая выделяется с мочей из организма.



В составе солодкового корня имеется глицирризин, содержащий две молекулы глюкуроновой кислоты в связанном состоянии, которые в организме освобождаются. Это, вероятно, и объясняет защитные свойства солодкового корня при многих отравлениях, известных в Китае, Японии (В. М. Сало, 1968).

Соединения, имеющие фенольные группы, выделяются из организма в виде конъюгатов с сульфатом. Так, ксенобиотик бензол (C_6H_6) в печени вначале трансформируется в гидроксифенол (C_6H_5-OH), который в реакции взаимодействия с эндогенным сульфатом, образуя водорастворимый фенилсульфат ($C_6H_5-OSO_3H_2$), поступающий в мочу. Многие ксенобиотики, содержащие аминогруппы, гидроксильные и сульфгидрильные группы, вступают в реакции метилирования. Донором метильных групп обычно является аминокислота S-аденозилметионин. В этих реакциях участвуют ферменты этилтрансферазы. Таким же путем катаболизируют и катехоламины позвоночных.

Нельзя отрицать роль микрофлоры в нейтрализации ксенобиотиков во внешней среде. За счет микробных сообществ (кооперация, симбиоз, комменсализм) многие, но не все, ксенобиотики подвергаются биодеградации. При этом микроорганизмы приобретают определенные адаптации к данным токсикантам. При повторных появлениях ксенобиотиков в среде эти организмы уже более активно вступают в их катаболизм.

Приобретение способности деградировать конкретные ксенобиотики объясняются процессом естественного генетического конструирования, биохимической изменчивостью популяций. В частности, катаболические плазмиды клеток обеспечивают им способность перераспределять между собой пул деградативных генов (В. П. Саловарова и др., 2007). Поэтому генетические механизмы обмена информации позволяют иметь эффективные штаммы, деградирующие ксенобиотики.

Проникая в организм, ксенобиотики – химикаты способны связываться с определенными рецепторами с образованием различных комплексов, приводя к блокированию обычного метаболизма. Все это приводит к острым или хроническим отравлениям с возможным развитием тератогенеза и канцерогенеза.

Ядохимикаты, используемые в народном хозяйстве, объединены под общим названием пестициды (*pestis* – зараза, *cide* – убиваю). Пестициды являются синтетическими или естественными соединениями, предназначенными для предупреждения, разрушения, отталкивания или ослабления какой-либо «заразы». Их разделяют на следующие группы:

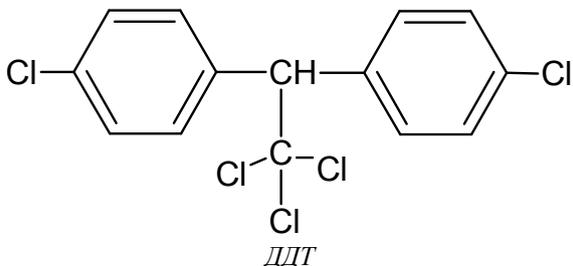
- инсектициды (вещества для уничтожения насекомых);
- акарициды (вещества для уничтожения клещей);

- бактерициды (вещества для уничтожения возбудителей бактериальных болезней);
- фунгициды (вещества для уничтожения возбудителей грибковых заболеваний);
- зооциды (вещества для уничтожения грызунов);
- гельминтоциды (вещества для уничтожения гельминтов);
- гербициды (вещества для уничтожения травянистой растительности);
- дефолианты (вещества для удаления листьев растений);
- альгициды (вещества для уничтожения водорослей).

Около 800 активных соединений – пестицидов зарегистрировано в Европе. Сельское хозяйство является основным потребителем пестицидов. Отдельные пестициды (ДДТ, линдан, органометаллы) были запрещены десятилетия назад, однако их остаточные продукты еще существуют в окружающей среде. Страны центральной Европы и Скандинавии используют в основном гербициды для борьбы с сорняками, тогда как страны Средиземноморья используют пестициды для контроля роста грибов. Степень экологической опасности ксенобиотика зависит от его гидрофобности и стабильности в водной среде. Эти характеристики приводят к высокой биоаккумуляции загрязняющих соединений в рыбах, в жировой ткани наземных позвоночных (Н. Н. Немова, И. А. Болотников, 1994).

Хлорорганические соединения (гексахлорциклогексан, линдан, гексахлорбензол, ДДТ и др.) хорошо растворимы в жирах, в органических растворителях и плохо – в воде. В частности, ДДТ впервые синтезировал австрийский химик Цейдлер, а инсектицидные свойства препарата были выявлены швейцарским химиком П. Мюллером (1899–1965), за что в 1948 г. был удостоен Нобелевской премии в области медицины. В 1980 г. в мире было произведено 3,5 млн тонн ДДТ. В снежном покрове Антарктиды накопилось более 3 тыс. тонн ДДТ. Сегодня этот препарат снят с производства как канцероген. Полагают, что период полуразложения ДДТ в биосфере составляет свыше 100 лет. Однако следует сказать, что только применение ДДТ против комаров – переносчиков возбудителя малярии (*Plasmodium falciparum*) спасло миллионы людей от смерти в тропической Африке, Среднем Востоке, Азии.

Сторонники генетически модифицированных продуктов, которых сегодня официально в мире зарегистрировано 120 наименований, утверждают, что трансгенные культуры являются устойчивыми к насекомым – вредителям, поэтому можно будет отказаться от использования различных инсектицидов.



Контрольные вопросы

1. Что такое ксенобиотики?
2. Процессы биотрансформации ксенобиотиков в организме.
3. Назовите основные группы пестицидов.
4. Трансгенные культуры – плюсы и минусы.

В заключение следует сказать, что современный этап в развитии экологии в условиях непрерывного роста населения Земли диктует возрастание внимания к динамике и функционированию структур экосистем. При этом возрастает роль таких наук, как экология, химическая экотоксикология, биохимическая экология. Сегодня становятся необходимыми знания поведения биохимических структур – белков, ферментов, состояние энергетических процессов живого организма в условиях «химического пресса». Эти знания будут способствовать разработке превентивных мер по охране природных биоценозов нашей планеты, предвидеть отдаленные воздействия негативных факторов окружающей среды на организм человека. В решении этих вопросов есть место и для экологической биохимии.

ГЛОССАРИЙ

Альбумины – простые низкомолекулярные белки, растворимые в воде. Находятся в составе сыворотки крови, молока (лактальбумин), яиц птиц (овальбумин), в семенах растений.

Антикодон – участок тРНК, включающий три нуклеотида и несущий соответствующую аминокислоту, который по принципу комплементарности связывается с заданным кодоном иРНК.

Аденозинтрифосфат (АТФ) – нуклеотид, образованный аденозином и тремя остатками фосфорной кислоты. В живых организмах выполняет роль универсального аккумулятора химической энергии, которая заключена в его двух макроэргических связях.

Анаболизм (ассимиляция) – совокупность процессов ферментативного синтеза различных сложных органических соединений в живых организмах из простых предшественников. Представляет противоположную катаболизму сторону обмена веществ.

Анаэробы – живые организмы, использующие в качестве акцепторов электронов субстратов не кислород, а другие вещества (бактерии, инфузории, черви, моллюски).

Антигены – сложные органические вещества, несущие признаки генетически чуждой информации, способные вызвать в организме формирование иммунных белков – антител. Свойствами антигенов обладают чужеродные для данного организма белки и полисахариды.

Антитела – гликопротеины организма глобулиновой природы, синтезируемые клетками лимфоидной ткани в ответ на появление в организме различных веществ, несущих на себе признаки генетически чужеродной информации. Их молекулярная масса составляет 160–900 тыс.

Аэробы (аэробные организмы) – способны жить только при наличии атмосферного кислорода. Это почти все виды животных и растения, многие микроорганизмы. Они получают энергию для жизнедеятельности за счет окислительных процессов с участием кислорода.

Белки – высокомолекулярные соединения, образующиеся за счет L-аминокислот, связанных между собой в полипептидные цепи пептидными связями (–CO–NH–). Обладают определенными структурными и функциональными особенностями. Белки являются сильными антигенами.

Биосфера – область активной жизни, охватывающая нижнюю часть атмосферы. В биосфере живые организмы и среда их обитания органически связаны, образуя целостную динамическую систему.

Биохимия – наука, изучающая химические вещества организма, их структуру на молекулярном уровне, функции и превращения. Биохимия объясняет роль углеводов, жиров, белков в процессах энергетики живого организма.

Ген – участок ДНК, единица наследственного материала. Совокупность всех генов организма составляет его генетическую конституцию – генотип. Гены принимают участие, как в развитии организма, так и в установлении видовой и индивидуальной продолжительности жизни.

Генетический код – единая система записи наследственной информации в молекулах нуклеиновых кислот в виде последовательности нуклеотидов живых организмов.

Генотип – генетическая (наследственная) конституция организма. Совокупность всех его генов хромосом.

Гистоны – простые белки основного характера. В клетках связаны в основном с ДНК. Имеют высокое содержание таких аминокислот, как аргинин и лизин.

Глобулины – простые белки сыворотки крови, нерастворимые в воде. Различают альфа-, бета- и гамма-глобулины. Иммуноглобулины – группа глобулинов сыворотки крови, обладающая свойствами антител. У млекопитающих различают 5 классов иммуноглобулинов: IgA, IgG, IgM, IgE, IgD.

ДНК (дезоксирибонуклеиновая кислота) – природное высокополимерное соединение в ядрах клеток живых организмов. Вместе с белками-гистонами образует вещество хромосом. ДНК – материальный носитель генетической информации. В составе ДНК: пуриновые и пиримидиновые основания, дезоксирибоза и фосфорная кислота.

Иммунитет (от *лат.* *immunitas* – освобождение, избавление) – самозащита организма, обусловленная функциями клеток иммунной системы, центральное место среди которых занимают лимфоциты.

Иммуноглобулины – группа гликопротеинов, обладающая свойствами антител, продуцируемая В-лимфоцитами. У млекопитающих установлено пять классов иммуноглобулинов: IgA, IgM, IgG, IgE, IgD.

Информационная РНК (иРНК) – рибонуклеиновая кислота, образующаяся на молекуле ДНК в процессе синтеза белков. иРНК точно повторяет последовательность нуклеотидов ДНК, принимая на себя генетическую информацию и при выходе из ядра фиксируется на рибосоме. На уровне рибосомы происходит считывание закодированной генетической информации и формирование полипептидной цепи при строгой очередности аминокислот.

Канцерогены (от *лат.* *cancer* – рак, *genes* – рождающий) – различные химические вещества, микроорганизмы, вирусы, излучения, при попадании в живой организм которых происходит образование злокачественных новообразований (опухолей).

Катаболизм (от *греч.* *katabole* – разрушение) – ферментативный распад сложных органических веществ с выделением свободной энергии и запасание ее в форме макроэргических связей АТФ.

Ковалентная связь – вид химической связи, образуется парой электронов, находящейся в общем владении двух атомов, образующих связь. В молекуле атомы могут быть соединены одинарной ($\text{H}-\text{H}$, CH_3-CH_3), двойной ($\text{H}_2\text{C}=\text{CH}_2$) или тройной ($\text{N}\equiv\text{N}$, $\text{CH}\equiv\text{CH}$) ковалентной связью.

Кодон – триплет, единица генетического кода из трех последовательных нуклеотидов в молекуле ДНК или РНК. Последовательность кодонов в гене определяет последовательность аминокислот в молекуле белка, кодируемого этим геном.

Консументы – организмы-потребители, усваивающие органические вещества. Это растительные, плотоядные, всеядные. К консументам относится и человек.

Ксенобионты (от *греч.* *xenos* – чужой) – чужеродные для живого организма соединения (препараты бытовой химии, пестициды, лекарственные вещества, промышленные загрязнения). В окружающей среде могут вызывать гибель организмов.

Лимфоциты – гетерогенная популяция ядерных клеток крови. Наибольший интерес иммунологов представляют малые лимфоциты, выполняющие различные иммунологические функции. Различают Т-лимфоциты (тимусзависимые) и В-лимфоциты (тимуснезависимые). В-лимфоциты обладают активной продукцией иммуноглобулинов.

Макрофаги – полиморфная группа клеток, активно фагоцитирующих чужеродный материал, попавший в кровотока. Классификация ВОЗ включает в мононуклеарную фагоцитарную систему моноциты крови и клетки костного мозга, обладающие подвижностью и активным фагоцитозом, купферовские клетки печени, гистиоциты, макрофаги селезенки, лимфатических узлов и серозных полостей. Макрофаги активно участвуют в процессе антителообразования, кооперируясь с Т- и В-лимфоцитами.

Метаболизм (от *греч.* *metabolite* – перемена, превращение) – обмен веществ, это взаимосвязанные процессы анаболизма (синтеза) и катаболизма (распада), направленные на непрерывное обновление органического материала и обеспечение его необходимой энергией.

Митохондрии (от *греч.* *mitos* – нить и *chondrion* – гранула) – органеллы клеток, основной функцией которых является синтез АТФ. Количество митохондрий в одной клетке может достигать нескольких тысяч.

Мутагены – химические и физические факторы, вызывающие наследственные изменения в организме – мутации.

Мутации (от *лат.* *mutation* – изменение, перемена) – возникающие естественно или вызываемые искусственно изменения наследственных свойств организма в результате перестроек и нарушений в хромосомах и генах. Мутации – основа наследственной изменчивости живых организмов.

Нуклеотид – фосфорный эфир нуклеозидов. Состоит из азотистого основания (пуринового или пиримидинового), углевода (рибозы или дезоксирибозы) и остатка фосфорной кислоты. Нуклеотиды – составная часть нуклеиновых кислот, коферментов.

Обратная транскриптаза – фермент, синтезирующий копию ДНК по матрице РНК (РНК → ДНК), т. е. процесс, прямо противоположный транскрипции. Этот фермент содержат РНК-содержащие вирусы.

Паразитизм – форма существования организмов, когда паразит (паразитирующий организм) использует хозяина в качестве источника питания. Паразитизм характерен грибам, бактериям, вирусам.

Пестициды (от *лат.* *pestis* – зараза и *caedo* – убиваю) – ядохимикаты для борьбы с сорняками (гербициды), с вредителями (инсектициды, акарициды, зооциды), с болезнями растений (фунгициды). Они включают также дефолианты, регуляторы роста растений. В своем большинстве – это синтетические органические вещества.

Популяция – форма существования одного вида, длительно занимающая определенное пространство и воспроизводящая себя в течение большого числа поколений.

Природная среда – часть природы, не испытывающая прямого воздействия со стороны деятельности человека.

Продуценты (от *лат.* *producens* – производящий) – автотрофные организмы, синтезирующие с помощью фотосинтеза или хемосинтеза органические вещества из неорганических.

Процессинг – посттранскрипционная модификация или процесс формирования зрелых молекул РНК из неактивного предшественника (преРНК) в клетках-эукариотах.

Редуценты (от *лат.* *reducens* – восстанавливающие) – гетеротрофные организмы (бактерии, грибы), способные разлагать мертвое органическое вещество (трупы) с образованием неорганических веществ, используемых в жизнедеятельности продуцентов.

Репликация – копирование родительской ДНК для формирования интактных дочерних молекул ДНК, предшествующее делению клетки (ДНК – ДНК).

Рибосомы – органеллы клеток всех клеток живых организмов, состоящие из РНК и белка. Несколько рибосом объединяются в полисомы или полирибосомы.

Сапрофиты (от *греч.* *sapros* – гнилой и *phyton* – растение) – грибы, растения, питающиеся органическими веществами мертвых организмов.

Связи Ван-дер-Ваальса – это связи между различными радикалами ксенобионтов и неполярными участками молекул аминокислот организма. Энергия их взаимодействий мала (1–4 кДж/моль), однако они могут обеспечить прочную фиксацию токсиканта.

Спейсер (от *англ.* space – пространство) – участок ДНК, отделяющий один ген от другого.

Трансгенные организмы – это организмы, в состав генома которых введены чужеродные гены, их экспрессия позволяет проявлять новые свойства биогенных систем.

Транскрипция – это первый этап синтеза белка, в котором происходит формирование иРНК на соответствующих участках ДНК; при этом последовательность нуклеотидов ДНК переписывается в последовательность нуклеотидов иРНК.

Трансляция – передача генетической информации, в процессе которой последовательность нуклеотидов иРНК выражается в аминокислотной последовательности синтезирующегося белка.

Ферменты (от *лат.* fermentum – закваска) – биологические катализаторы белковой природы во всех живых клетках, выполняющие специфические функции катализа химических реакций. Отдельные ферменты выделены из клеток в кристаллическом виде. Все выявленные ферменты живого организма разделены на 6 классов: оксидоредуктазы, трансферазы, гидролазы, лиазы, изомеразы и лигазы.

Фолдинг – процесс сворачивания полипептидной цепи в пространственную высокоорганизованную структуру, которая полностью формируется после завершения биосинтеза на рибосоме.

Хеликазы – ферменты, расплетающие двойную спираль ДНК.

Эвритоп – организм, способный существовать в самых разнообразных условиях среды.

Экология человека – наука о влиянии на человека природных и социальных факторов окружающей его среды.

Экосистема – единое природное сообщество, образованное живыми организмами и средой их обитания, взаимосвязанных обменом веществ и энергией.

Ядро – органоид клетки, обеспечивающий хранение и передачу генетической информации. В его структуре – ДНК, РНК и белки. На основе ядра все живые организмы разделяют на прокариоты и эукариоты; прокариоты не имеют ядра (цианобактерии, в частности).

ЛИТЕРАТУРА

1. *Болотников, И. А.* Биология иммунитета / И. А. Болотников, С. Н. Румянцев. – Петрозаводск, 1991. – 104 с.
2. *Ванюшин, Б. Ф.* Молекулярно-генетические механизмы старения / Б. Ф. Ванюшин, Г. Д. Бердышев. – М. : Медицина, 1977. – 296 с.
3. *Васильев, А. С.* Гетерогенность, полиформизм и функциональные свойства гемоглобинов рыб : автореф. дисс. ... д. б. н. – Петрозаводск, 1999. – 41 с.
4. *Васильева, С. В.* Клиническая биохимия крупного рогатого скота : учеб. пособие / С. В. Васильева, Ю. В. Конопатов. – СПб. : Издательство СПбГАВМ, 2009. – 179 с.
5. *Вернадский, В. И.* Химическое строение биосферы Земли и ее окружения. – М., 1965.
6. *Исидоров, В. А.* Введение в химическую экотоксикологию. – СПб. : Химиздат, 1999. – 144 с.
7. *Кожевникова, Л. К.* Ферментные адаптации пушных зверей // Экологическая биохимия животных. – Петрозаводск, 1978. – С. 88–97.
8. *Короленко, Т. А.* Катаболизм белка в лизосомах. – Новосибирск : Наука, 1990. – 189 с.
9. *Ленинджер, А.* Основы биохимии. Т. 1. – М. : Мир, 1985. – 367 с.
10. *Менделеев, Д. И.* Основы химии. – СПб., 1906. – 816 с.
11. *Немова, Н. Н.* Введение в экологическую биохимию / Н. Н. Немова, И. А. Болотников. – Петрозаводск, 1994. – 76 с.
12. *Николаев, Л. А.* Химия жизни. – М. : Просвещение, 1973. – 222 с.
13. *Оксенгендлер, Г. И.* Яды и противоядия. – СПб. : Наука, 1982. – 192 с.
14. *Панин, Л. Е.* Биохимические механизмы стресса. – Новосибирск : Наука. – 234 с.
15. *Рудаков, В. В.* Биохимические механизмы регуляции обмена веществ у животных. – Л., 1985. – 84 с.
16. *Сало, В. М.* Растения и медицина. – М. : Наука, 1968. – 260 с.
17. *Саловарова, В. П.* Введение в биохимическую экологию : учеб. пособие / В. П. Саловарова, А. А. Приставка, О. А. Берсенева. – Иркутск, 2007. – 159 с.
18. *Франк-Каменецкий, М. Д.* Самая главная молекула. – М. : Наука, 1983. – 160 с.
19. *Хазипов, Н. З.* Биохимия животных / Н. З. Хазипов, А. И. Аскарова. – Казань, 2003. – 345 с.
20. *Херцбергер, Г.* Терапия биологическими катализаторами // Биологическая медицина. – 2001. – № 1. – С. 27–31.

21. *Хочачка, П.* Биохимическая адаптация / П. Хочачка, Дж. Сомеро. – М. : Мир, 1988.
22. *Шабалин, В. Н.* Клиническая иммуногематология / В. Н. Шабалин, Л. Д. Серова. – Л. : Медицина, 1988. – 312 с.
23. *Шорникова, Н. И.* Влияние минеральных солей ртути на биохимические показатели лабораторных животных в модельных опытах по пищевой интоксикации : автореф. дис. ... канд. биол. н. – СПб., 2000. – 16 с.
24. *Alberts, B.* Molecular biology of the cell / B. Alberts, D. Bray, J. Lewis [et al.]. – 3rd ed. – N. Y. ; London, 1994. – 1294 p.
25. *Berkaloff, A.* Biologie et physiologie cellulaires / A. Berkaloff, J. Bourguet, P. Favard [et al.]. – Paris : Hermann, 1978. – 260 p.
26. *Garrett, R. H.* Biochemistry / R. H. Garrett, Ch. M. Grisham. – 3rd ed. – Universit of Virginia, 2005.
27. *Goodman, S. R.* Medical cell biology. – 2nd ed. – N. Y., 1998. – 320 p.
28. *Nelson, D. K.* Leninger principal of biochemistry / D. K. Nelson, M. M. Cox. – 4th ed. – N. Y., 2005. – 1119 p.
29. *Polonovski, M.* Biochimie medicale / M. Polonovski, P. Boulanger, M. Macheboeuf [et al.]. – Paris, 1973. – 406 p.
30. *Roskoski, R.* Biochemistri. – London : W. B. Saunders Company, 1996. – 530 p.
31. *Vogel, G.* Atlas de la biologie / G. Vogel, H. Angermann. – Munich : La Pochotheque, 1994. – 641 p.
32. *Wallace, D. C.* Diseases of the mitochondrial DNA // Annual review of Biochemistry. – 1992, 61. – P. 191–227.
33. *Woessner, J. F.* Matrix metalloproteinases and their inhibitors in connective tissue remodelling // FASEB J. – 1991, 5. – P. 2145–2154.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
КЛЕТКА – ОСНОВА ЖИЗНИ.....	4
ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ОБМЕН ЖИВОГО ОРГАНИЗМА.....	23
ФОТОСИНТЕЗ.....	42
СИНТЕЗ БЕЛКА.....	67
МЕТАБОЛИЗМ В ПЕРИОД ЗИМНЕЙ СПЯЧКИ.....	85
ЖИЗНЬ В УСЛОВИЯХ АНОКСИИ.....	88
АДАПТАЦИЯ ФЕРМЕНТНЫХ СИСТЕМ.....	96
АДАПТАЦИЯ ДЫХАТЕЛЬНЫХ БЕЛКОВ.....	103
УГЛЕРОД И АЗОТ В ПРИРОДЕ.....	110
ЭКОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ БИОТРАНСФОРМАЦИИ КСЕНОБИОТИКОВ.....	118
ГЛОССАРИЙ.....	126
ЛИТЕРАТУРА.....	131

*Юрий Васильевич КОНОПАТОВ,
Светлана Владимировна ВАСИЛЬЕВА*

ОСНОВЫ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ БИОХИМИИ

Учебное пособие

Издание третье, стереотипное

Зав. редакцией ветеринарной
и сельскохозяйственной литературы *Т. В. Карпенко*

ЛР № 065466 от 21.10.97
Гигиенический сертификат 78.01.10.953.П.1028
от 14.04.2016 г., выдан ЦГСЭН в СПб

Издательство «ЛАНЬ»
lan@lanbook.ru; www.lanbook.com;
196105, Санкт-Петербург, пр. Юрия Гагарина, д. 1, лит. А
Тел.: (812) 412-92-72, 336-25-09
Бесплатный звонок по России: 8-800-700-40-71

Подписано в печать 03.07.18.
Бумага офсетная. Гарнитура Школьная. Формат 60×90^{1/16}.
Печать офсетная. Усл. п. л. 8,50. Тираж 100 экз.

Заказ № 464-18.

Отпечатано в полном соответствии
с качеством предоставленного оригинал-макета
в АО «Т8 Издательские Технологии».
109316, г. Москва, Волгоградский пр., д. 42, к. 5.