

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО ОБРАЗОВАНИЮ

Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Уральский государственный университет им. А.М. Горького»

ИОНЦ « Физика в биологии и медицине »

физический факультет

общая и молекулярная физика кафедра

МЕДИЦИНСКАЯ БИОХИМИЯ

Методические указания к освоению дисциплины

Подпись руководителя ИОНЦ

Дата

Бабушкин А.Н.

Екатеринбург
2007

УТВЕРЖДАЮ

Руководитель ИОНЦ «_____»

Бабушкин А.Н.

(подпись)

(дата)

Методические указания к освоению дисциплины «Медицинская биохимия» составлена в соответствии с требованиями федерального/национально-регионального (вузовского) компонента к обязательному минимуму содержания и уровню подготовки:

Дипломированного специалиста по специальности Медицинская физика, 014000 (название, шифр),

бакалавра, магистра по направлению _____
(название, шифр)

по циклу «СД/ДС*/ФТФ/ДНМ/СДМ/НИРМ» государственного образовательного стандарта высшего профессионального образования.

Автор :

Борзенкова Раиса Антоновна, к.б.н., ст.н.с, доцент
кафедры физиологии и биохимии растений УрГУ
(ФИО, ученая степень, ученое звание, кафедра, вуз)

Рекомендовано к печати протоколом заседания

Экспертно-конкурсной комиссии ИОНЦ «Физика в биологии и медицине»

от 24.10.07 № 8.

(дата)

Согласовано:

Зав.кафедрой общей и молекулярной физики

(название кафедры, реализующей данную дисциплину)

/ Борисов С.Ф. /

(подпись)

Ф.И.О.

«30» октября 2007 г.

(дата)

© Уральский государственный университет

© Борзенкова Р.А., 2007

ОБЩИЕ МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Тема: Биохимия: предмет, цели и задачи. Биохимические особенности живых организмов.

В вводной лекции, где рассматриваются предмет, цели, задачи и область применения биохимии, необходимо обратить внимание на следующие моменты.

1. Биохимия как наука о молекулярных основах жизни возникла на стыке органической химии и физиологии. Хотя она имеет много общего с органической химией, существует принципиальное различие между ними. Оно состоит в том, что биохимия изучает протекание реакций в **живых организмах**, которые являются **чрезвычайно сложными, интегрированными** и, главное, **саморегулируемыми системами**. Поэтому знание организации химических превращений веществ в клетках живых организмов дает представление о том, **как** химические законы проявляются в сложных интегрированных системах. Это в свою очередь открывает возможность использования биохимических структур и процессов для осуществления химических синтезов вне живых организмов, а также в качестве инструмента для решения тонких аналитических задач; позволяет понять механизмы взаимодействия химических веществ с биологическими системами, что необходимо для осуществления направленного синтеза и изучения действия лекарственных препаратов, гербицидов, инсектицидов, токсических веществ. Знание принципов химических превращений, присущих биологическим объектам, таких как биологический катализ, матричный синтез, хранение и передача наследственной информации и др., легли в основу современной биотехнологии. В медицине знание биохимических процессов определяет стратегию применения лекарственных препаратов, новых методов для диагностики заболеваний, в том числе наследственных, и выявления причин патологий.

2. В зависимости от объекта и направления исследования исследований в современной биохимии выделяют самостоятельные разделы: общая биохимия, биохимия животных, растений, микроорганизмов, техническая биохимия, медицинская и ветеринарная биохимия и др. В зависимости от подхода, биохимию делят на статическую и динамическую (иногда выделяют функциональную биохимию). Статическая биохимия занимается исследованием химического состава организмов, а динамическая – изучением превращений химических соединений и связанных с этим превращений энергии в процессе жизнедеятельности организмов.

3. Разбирая уникальные свойства живого, которые отличают его от неживых систем, следует остановиться, прежде всего на уникальности химического состава. Она заключается в том, что среди всех элементов, встречающихся у живых организмов, 98-99% составляют: Н, О, С, N и Р. Почему именно эти элементы? Они обладают рядом особых качеств: первые четыре элемента способны образовывать друг с другом ковалентные кратные связи, что служит основой для большого разнообразия органических соединений. Это легкие элементы, их атомы отличаются малыми размерами, поэтому именно они образуют прочные связи друг с другом. Молекулы относительно плотные с минимальными межатомными расстояниями, что определяет их устойчивость к различным воздействиям. Фосфор и сера входят в состав соединений, которые расщепляясь, выделяют повышенное количество энергии.

Среди органических соединений клетки белки составляют около 50% сухого вещества, т.е. они являются основным субстратом жизни. Белки обладают рядом особенностей, которые не свойственны другим соединениям: неисчерпаемое разнообразие структуры; способность к внутримолекулярным и разнообразным взаимодействиям; способность направленного изменения конформации и высокоспецифического образования комплексов. Это обеспечивает высокую специфичность биологического катализа; образование совместно с другими

макромолекулами сложных надмолекулярных структур и др. Белки, как и нуклеиновые кислоты, являются информационными молекулами, т.к. последовательность соединенных мономеров в этих молекулах отражает генетическую индивидуальность различных видов.

4. Знакомясь с основными этапами развития биохимии, необходимо обязательно запомнить выдающиеся открытия (и их авторов) , которые сыграли решающую роль в развитии не только биохимии, но и в биологии в целом. Например:

- а). Открытие нуклеиновых кислот (Ф. Мишер, 1868).
- б). Открытие вирусов (Д.И.Ивановский, 1892).
- в). Разработка полипептидной теории строения белков (Э. Фишер, 1903-1919).
- г). Теория спиралей – вторичной структуры белка (Л. Полинг, Р. Кори, 1951).
- д). Открытие уникальных закономерностей состава ДНК (Э. Чаргафф, 1949).
- е). Расшифровка структуры ДНК (Дж. Уотсон, Ф. Крик, 1953).
- ж). Расшифровка генетического кода (А. Корана, М. Ниренберг, 1964-1968).
- и). Открытие репликации ДНК и ДНК- полимераз (А.Корнберг с сотр. 1955).
- к). Схема регуляции активности генов (Ф. Жакоб, Ж. Моно, 1961).
- л). Разработка хемиосмотической теории (П. Митчелл, 1961-1966).
- м). Разработка схемы анаэробного гликолиза (Г. Эмбден, О. Мейергоф, 1921-1927) и другие.

Тема : Аминокислоты.

При изучении материала этой темы нужно помнить, что аминокислоты, являясь мономерами белков, определяют их структуру и функции. Поэтому тщательное освоение данной темы позволит легко понять уникальные особенности строения и свойства белков.

В составе белков постоянно встречаются 18 аминокислот и два амида. Эти аминокислоты называют протеиногенными. Тем самым подчеркивается, что в клетках имеются аминокислоты, редко или совсем не встречающиеся в

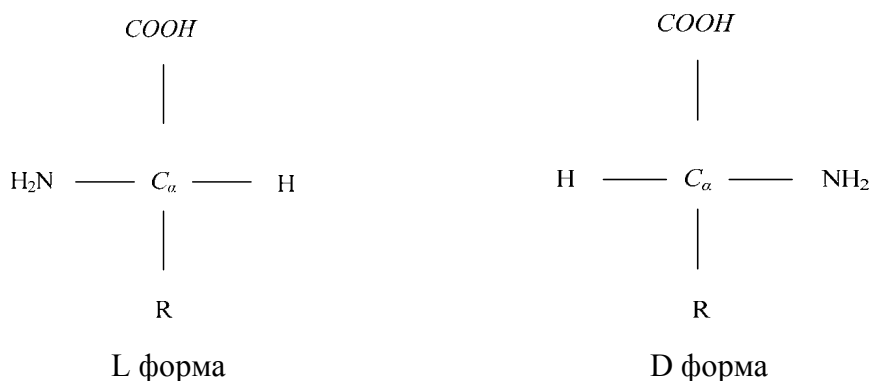
белках и выполняющие другие функции (как промежуточные продукты синтезов, в составе некоторых антибиотиков и ядов). Аминокислоты содержат карбоксильную (-COOH)- и амино (-NH₂)-группы. Нумерацию атомов углерода в аминокислоте ведут от COOH – группы, Первый от нее углеродный атом обозначают C_α, затем β, γ и т.д.

Выявлены общие закономерности в строении протеиногенных аминокислот:

1. **Они все - α- аминокислоты**, т.е. и карбоксильная и аминогруппа связаны с

C_α. Встречаются аминокислоты с другим расположением аминогруппы, но они не обнаруживаются в белках. Так, β – аланин входит в состав витамина В₃ (пантотеновая кислота); γ – аминomásляная - ингибитор передачи нервных импульсов. Остальную часть молекулы аминокислоты принято называть радикалом (R).

Представлены только L-формами. Так как C_α является ассиметричным (с ним связаны 4 разные группы), то возможно различное расположение замещающих групп и существование стереоизомеров в L и D – форме:



Лишь в составе гликопротеинов клеточных стенок бактерий и пептидных антибиотиков встречаются D-α- аминокислоты.

3. **Обладают оптической активностью**, т.е. способны вращать плоскость поляризации света. Исключением является глицин, который не имеет ассиметричного α- углеродного атома. Среди 17 протеиногенных

аминокислот, обладающих оптической активностью, 7 характеризуются правым (+) и 10 левым (-) вращением.

Разные аминокислоты отличаются друг от друга по химическому строению радикалов:

1. Аминокислоты с алифатическими радикалами (глицин, аланин, валин, лейцин, изолейцин).

2. Аминокислоты, содержащие в алифатическом радикале дополнительную функциональную группу:

–гидроксильную (серин, треонин);

–карбоксильную (аспарагиновая и глутаминовая аминокислоты);

–амидную (аспарагин, глутамин);

–аминогруппу (лизин);

–гуанидиновую (аргинин);

–серу (цистеин, метионин).

3. Аминокислоты, содержащие ароматический радикал (фенилаланин, тирозин).

4. Аминокислоты гетероциклическими радикалами (триптофан).

5. Иминокислота (пролин).

Аминокислоты различаются по растворимости их радикалов в воде:

1. Аминокислоты с полярными незаряженными радикалами. В их состав входят полярные функциональные группы, образующие водородные связи с водой: сульфгидрильная (-SH), гидроксильная (-OH), амидная (-CONH₂).

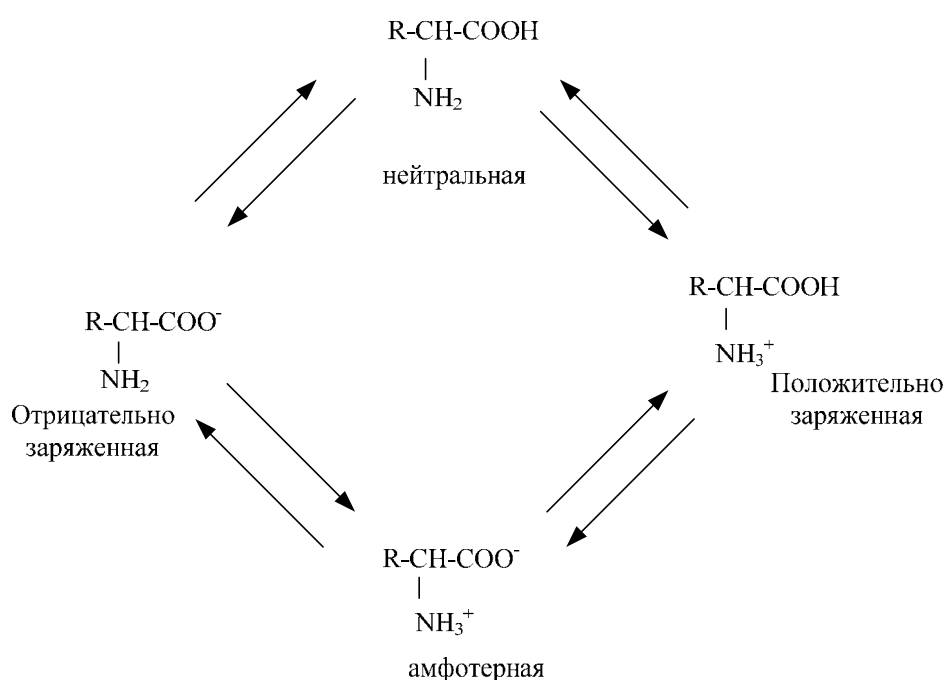
К ним относятся аминокислоты: серин, треонин, тирозин, цистеин, амиды – глутамин и аспарагин.

2. Аминокислоты с полярными отрицательно заряженными радикалами. Это - глутаминовая и аспарагиновая аминокислоты, имеющие в радикале дополнительную карбоксильную группу, которая при pH=7 диссоциирует на COO⁻ и H⁺. Следовательно, радикалы этих аминокислот – анионы.

3. Аминокислоты с полярными положительно заряженными радикалами, содержащие дополнительную аминогруппу (лизин), гуанидиновую (аргинин) или имидазольную (гистидин) группу. Эти группы в нейтральной среде способны присоединять H^+ , заряжаясь положительно. Следовательно, их радикалы являются катионами.

4. Аминокислоты с неполярными радикалами (гидрофобные). Радикалы таких аминокислот в воде стремятся друг к другу или другим гидрофобным молекулам. Их поверхность соприкосновения с водой уменьшается, снижая растворимость. Сюда относятся аминокислоты с алифатическими (лейцин, изолейцин, аланин, валин, метионин), циклическими (триптофан и фенилаланин) радикалами и пролин.

В растворе возможно существование четырех электрохимических форм аминокислот:



В водных растворах они находятся в виде амфотерных ионов. В кислой среде высокая концентрация протонов подавляет диссоциацию $COOH$ -группы и аминокислота заряжается положительно. В щелочной среде при избытке OH^- ионов диссоциирует протонированная аминогруппа и аминокислота заряжается отрицательно. Таким образом, суммарный

электрический заряд аминокислоты находится в тесной зависимости от рН среды. **Значение рН при котором суммарный заряд равен нулю, называется изоэлектрической точкой** (обозначается : ИЭТ, pH_i , pI). Константы диссоциации карбоксильной и аминогрупп не одинаковы. Константа диссоциации – это то значение рН, при котором диссоциировано 50%молекул. Отрицательный логарифм значения константы диссоциации обозначается pK_1 - для карбоксильной группы, pK_2 – для аминогруппы. Для большинства аминокислот pK_1 (COO^-) имеет значения $pH= 1,8-5,5$, а pK_2 (NH_3^+) – 9-13. Изоэлектрическая точка аминокислоты определяется как среднее арифметическое этих двух величин. В ИЭТ аминокислоты обладают минимальной растворимостью и буферной емкостью; не происходит движение аминокислоты в электрическом поле. Буферная емкость максимальна при значениях рН, близких к pK каждой группы.

Химическая природа радикалов позволяет аминокислотам осуществлять разнообразные реакции: солеобразование (по NH_2 и $COOH$ - группам), окисления и восстановления (по SH - и SS - группам), амидированная (по $COOH$ - группам), образования эфиров (по OH - и $COOH$ - группам), фосфорилорования (по OH -группам) и др. Разнообразие радикалов по химической природе, растворимости, кислотно-основным, электро-химическим и физическим (длина, объем) свойствам определяет специфические особенности и полифункциональность белков. Именно эти свойства, наряду со способностью образовывать комплексы и надмолекулярные структуры, выполнять каталитические функции, осуществлять обратимые изменения пространственной структуры и др., выделяют белки из ряда других биополимеров, обеспечивая им роль важнейшего субстрата жизни.

Задания для самостоятельной работы.

Для лучшего запоминания химического строения и свойств аминокислот:

1. Составьте таблицы и распределите аминокислоты по химическому строению радикалов и их полярности. Напишите формулы аминокислот.
2. Напишите формулы аминокислот с анионными и катионными радикалами.
3. Разберитесь, какой заряд будут иметь нейтральные аминокислоты с анионными и катионными радикалами в нейтральной, очень кислой и очень щелочной среде. Напишите реакции.

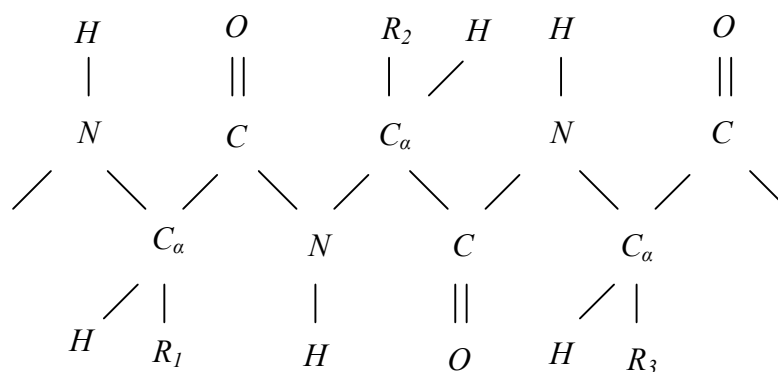
Тема: Полипептидная теория строения белков.

Полипептидная теория развита и экспериментально доказана Э.Фишером (1902-1919) на основе высказанного ранее А.Я. Данилевским предположения, что **пептидная группа является основной связью в белковой молекуле.**

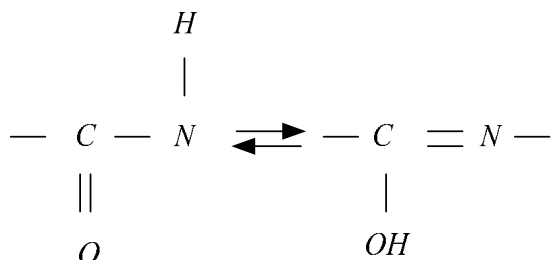
Главные вопросы, на которых необходимо акцентировать внимание при освоении материала данной темы, – это: особенности пептидной связи; принципиальные отличия белков и пептидов; типы связей, определяющих конформацию белковой молекулы.

Особенности пептидной связи.

1. Аминокислоты соединяются в полипептидные цепи в реакции поликонденсации с образованием **пептидной связи** за счет α -карбоксильной группы одной аминокислоты и α -аминогруппы другой.
2. Повторяющиеся группы $-\text{NH}-\text{CH}-\text{CO}-$ образуют **пептидный остов**. Атомы N и C в нем располагаются примерно в одной плоскости, а атомы H и радикалы $-\text{CH}-\text{R}$ группировок направлены к этой плоскости под углом 109° . При этом в соседних аминокислотных остатках расположение атомов H и радикалов (R) противоположно.



3. Пептидная связь является промежуточной между простой и двойной связями, т.к. расстояние между C и N в ней меньше (0,1325 нм), чем между C_α и N той же цепи (0,146 нм). Но оно больше, чем расстояние между C и N, соединенных двойной связью (0,127нм). Поэтому по месту пептидных связей легко осуществляется перегруппировка атомов и переход пептидной связи из кето-формы в енольную, которая отличается повышенной реакционной способностью.



4. Вращение вокруг C – N связи является запретным. Поэтому все четыре атома пептидной связи лежат в одной плоскости, образуя достаточно жесткую планарную (плоскостную) структуру. Однако возможно вращение между N и соседним C_α (связь N - C_α) и C пептидной связи и соседним C_α (связь C-C_α). Благодаря этому линейная структура полипептидной цепи может приобретать более сложную пространственную конфигурацию.

5. Пептидная связь имеет транс-конфигурацию, т.е C_α-атомы располагаются по разные стороны от пептидной связи. Такая структура энергетически более выгодна. Образуются прочные ковалентные связи, формирующие энергетический остов молекулы.

6. Каждая пептидная связь может образовывать по две водородные связи с другими группами, в том числе пептидными. Исключение составляют пептидные связи, в образовании которых участвует пролин (формируется одна водородная связь). Там, где находится пролин, полипептидная цепь легко изгибается.

Полимеры, состоящие из аминокислот, образуют пептиды или белки **в зависимости от числа входящих в них аминокислотных остатков**. Но переход от пептида к пространственно структурированной молекуле белка определяется не механическим удлинением цепи, а **специфической последовательностью аминокислот**. **К белкам относят полипептиды, способные самопроизвольно формировать и удерживать определенную пространственную структуру**. Таким образом, **отличительный признак белков – это самосборка пространственной структуры**, стабилизация которой требует хорошо развитой системы нековалентных взаимодействий. Это может быть достигнуто лишь начиная с некоторой длины полипептидной цепи.

Разбирая вопрос о формировании пространственной структуры (конформации) белковой молекулы, необходимо уяснить что:

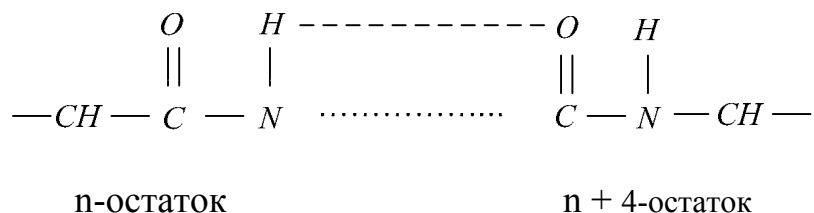
1. Вся информация о пространственной организации находится в первичной структуре белка (линейной последовательности аминокислот в полипептидной цепи). Белки, имеющие одинаковую первичную структуру, образуют в растворе одинаковую конформацию.

2. В белках реализуются далеко не все теоретически возможные варианты первичной структуры. Лишь их небольшая часть может принять **стабильную пространственную структуру**.

3. Вторичная структура – это структура, образующаяся в результате взаимодействий **между функциональными группами пептидного остова**.

α - Спираль формируется при закручивании пептидного остова за счет образования водородных связей между атомами **O** и **N** разных

пептидных групп остова, отстоящих друг от друга на четыре аминокислотных остатка.



В образовании водородных связей участвуют практически все атомы Н и О пептидных групп, что обеспечивает максимальную стабильность спирали.

Характеристика спирали: на один виток приходится 3,6 аминокислотных остатка; шаг спирали (расстояние между витками) – 0,54 нм; закручивание по часовой стрелке.

β-Структура формируется за счет образования множества водородных связей между атомами пептидных групп линейных областей одной или разных цепей. Образуется **β-складчатый слой**: **параллельный** (N- и C-концы цепей совпадают) или **антипараллельный** (N- и C-концы цепей направлены противоположно).

4. Третичная структура – это пространственная структура, образующаяся за счет взаимодействия **между радикалами аминокислот**: гидрофобных, ионных и водородных связей.

Ковалентные связи S=S , образуемые между радикалами цистеина принимают участие в **стабилизации** третичной структуры. Большинство внутримолекулярных белков не имеет S=S- связей. Их наличие характерно для секретируемых во внеклеточное пространство белков.

5. Четвертичная структура- это объединение нескольких полипептидных цепей (протомеров) в пространстве с образованием **олигомерного** белка. В объединении протомеров участвуют те же слабые связи, что и при формировании третичной структуры, но они возникают между радикалами **разных** полипептидных цепей. Связывание протомеров **специфично**, что определяется пространственным и химическим соответствием взаимодействующих поверхностей (**их комплементарностью**). Поэтому

ошибки в формировании четвертичной структуры белков практически исключены.

Задания для самостоятельной работы

Напишите все возможные трипептиды, содержащие аланин, аспарагиновую кислоту и цистеин. Дайте названия этим пептидам. Используйте принятые сокращения.

Объясните, почему полипептидная цепь делает изгиб там, где находится пролин. Напишите пептидную связь, в которой участвует пролин.

Напишите в общей форме полипептидную цепь и покажите образование водородных связей между пептидными группами при формировании α -спирали.

Покажите, между радикалами каких аминокислот возникают ионные, водородные и ковалентные связи.

Какие из перечисленных аминокислот при формировании третичной структуры окажутся внутри и на поверхности белковой глобулы: лейцин, серин, фенилаланин, тирозин, цистеин, валин, аланин, аспарагин, лейцин, триптофан. Объясните, почему?

6. Укажите различия в строении белков и пептидов. Дайте характеристику некоторых физиологически активных пептидов и покажите их биомедицинское значение.
7. Разберите строение олигомерных белков на примере гемоглобина.
8. Раскройте особенности первичной структуры гомологичных белков. Приведите примеры.

Тема: Свойства, функции, классификация белков.

Свойства белков определяются количеством и составом входящих в полипептидную цепь аминокислотных остатков.

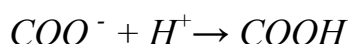
В предыдущих разделах достаточно подробно были рассмотрены физико-химические свойства аминокислот. Все они присущи белкам.

Индивидуальные белки различаются по физико-химическим свойствам:

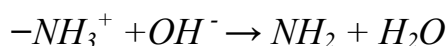
1) форме молекулы (фибриллярные и глобулярные белки); 2) молекулярной массе; 3) суммарному заряду; 4) соотношению полярных и неполярных групп на поверхности молекулы; 5) растворимости.

Белки являются **амфотерными полиэлектролитами**, поскольку на поверхности белковой глобулы имеются как положительно, так и отрицательно заряженные радикалы, а также большая часть полярных R-групп. Они определяют амфотерные свойства и заряд молекулы. **Кислые свойства** белку придают **аспарагиновая и глутаминовая аминокислоты**, которые являются источниками отрицательных зарядов на поверхности глобулы. **Основные** свойства придают белку **лизин, аргинин и гистидин**, радикалы которых способны к протонированию и определяют тем самым количество положительных зарядов на поверхности глобулы. **Амфотерная природа белков обуславливает их буферные свойства.**

Суммарный заряд белковой молекулы зависит не только от соотношения кислых и основных радикалов, но и от pH среды. **В кислой среде** подавляется диссоциация карбоксильных групп и **уменьшается отрицательный заряд:**



В щелочной среде связывание избытка OH с протонами, которые образуются при диссоциации аминогруппы, приводит к **уменьшению положительного заряда белков:**



Подобно аминокислотам, белок может находиться в изоэлектрическом состоянии, когда количество положительно и отрицательно заряженных групп одинаково, т.е. белок имеет суммарный нулевой заряд. **То значение pH, при котором белок находится в изоэлектрическом состоянии, (имеет**

суммарный нулевой заряд) , называется **изоэлектрической точкой (ИЭТ)**.

ИЭТ: у кислых белков ниже 7;

у нейтральных – около 7;

у основных – выше 7.

При рН ниже ИЭТ белок находится в форме поликатиона. При рН выше ИЭТ – в форме полианиона.

Изоэлектрические свойства белков лежат в основе таких методов разделения смеси белков как **электрофорез, ИЭТ-фокусирование в градиенте рН.**

Гидрофильность белков, т.е. способность белков связывать воду, является следствием действия электростатических сил притяжения между диполями воды и ионными и полярными группами, находящимися на поверхности белковой глобулы (водородные связи и ион-дипольные взаимодействия). В результате этого поверхность глобулы покрывается гидратной оболочкой, что определяет растворимость белка. **Растворимость** белка зависит от количества полярных и особенно ионизируемых групп: чем больше ионизируемых групп, т.е суммарный заряд, тем выше растворимость. Минимальная растворимость белков в ИЭТ. При этом они легко могут агрегировать и выпадать в осадок. Растворимость белка снижается по мере увеличения гидрофобных радикалов на поверхности глобулы. Глобулярные белки обладают лучшей растворимостью, чем фибриллярные. При достаточно большом содержании поверхностных гидрофобных радикалов белки полностью не растворяются, а набухают.

На растворимость влияет рН и солевой состав растворителя, температура и другие органические вещества, которые могут взаимодействовать с белком. Влияние рН на растворимость связано с изменением суммарного заряда белковой молекулы. Нейтральные соли ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NaSO_4 низкой концентрации способствуют растворимости белков. Высокие концентрации этих солей, напротив, осаждают белки, т.к.

оттягивают молекулы воды от ионизированных и полярных групп, лишая их гидратной оболочки. Изменяя концентрацию соли, можно поочередно осаждают разные белки из смеси белков при их разделении. **Чем больше гидрофильность белка, тем более высокую концентрацию соли необходимо использовать для его осаждения.** Это лежит в основе метода **высаливания**.

Белки обладают **коллоидными свойствами**, образуя коллоидные растворы, т.к. их молекулы крупные и не могут проходить через полупроницаемые мембраны. Характерными признаками коллоидных свойств белковых растворов являются их своеобразный блеск и светорассеивание. Поскольку радиус молекулы белка больше, чем длина волны света, то имеет место дифракция света. На этих свойствах белка основаны **методы диализа и ультрафильтрации**, используемые для очистки белков от низкомолекулярных примесей. Светорассеивающая способность белков используется при определении концентрации белков **методом нефелометрии** (сравнение интенсивности светорассеивания растворов).

Для определения степени спирализации белков и упорядоченности вторичной структуры используют методы, основанные **на их оптических свойствах - дисперсия оптического вращения и гипохромный эффект**. При изменении пространственной структуры белка, особенно вторичной, изменяется угол вращения плоскости поляризации падающего света (ДОВ) и поглощение света длиной волны. 190 нм – оно снижается при нарушении α -спирали и β -структуры (гипохромный эффект).

Белкам свойственна конформационная лабильность – склонность к небольшим изменениям пространственной структуры за счет разрыва одних и образования других слабых связей. Конформация белка может меняться под действием различных факторов и при взаимодействии белка с другими молекулами (лигандами). При этом происходит изменение пространственной

структуры всей молекулы в целом. Конформационная лабильность лежит в основе функционирования белков и выполнения ими определенных функций.

Задания для самостоятельной работы.

Определите суммарный заряд пептида при $pH=7$: глу-арг-лиз-вал-асп. Как он изменится при $pH<7$ и при $pH>7$.

Определите ИЭТ пептидов ($>$, $<$, $=7$):

а) про-лиз-тир-глюн-три; б) ала-сер-глу-асн-мет.

3. Какой трипептид из указанных более растворим при $pH=7$:

а) ала-лей-мет; б) асп-лиз-глу.

Для определения каких белков – глобулинов или альбуминов нужно использовать насыщенный раствор $(NH_4)_2SO_4$? Ответ аргументируйте.

5. Что лежит в основе метода высаливания?

6. Опишите стадии и методы разделения и очистки белков. На каких свойствах они основаны?

7. Дайте краткую характеристику физико-химическим методам изучения пространственной структуры белков.

8. Дайте классификацию белков по растворимости и по выполняемым функциям.

9. Каковы функции альбуминов и глобулинов в плазме крови? Дайте краткую характеристику.

10. Дайте характеристику α -, β -, $\alpha + \beta$, α / β -белков.

11. Каковы особенности строения белков актина и миозина в связи с их участием в мышечном сокращении?

12. Приведите примеры денатурирующих агентов и покажите, как они действуют, вызывая денатурацию.

Тема: Общие принципы строения и механизма действия ферментов

В этой теме нужно, прежде всего, усвоить специфические особенности структуры и механизм действия ферментов, отличающих их от неорганических катализаторов; основные принципы ферментативного

катализа и показатели, характеризующие эффективность ферментативных реакций.

Поскольку ферменты - это белки, им присущи все признаки, свойственные для белков. В то же время, они обладают особенностями, которые характеризуют их как катализаторы.

Ферменты - это катализаторы **белковой** природы (за исключением некоторых молекул РНК, способных к автокатализу и называемых «рибозимами»). Ферменты, выполняя функцию катализатора, подчиняются общим законам катализа и обладают всеми свойствами неорганических катализаторов:

а) **катализируют энергетически возможные** реакции, т.е ферменты не “возбуждают” реакции, а **ускоряют уже существующие**, которые могут протекать и без катализатора, но с малой скоростью;

б) увеличивая скорость реакции, они не расходуются в процессе катализа и не претерпевают необратимых изменений, выходя из реакции в первоначальном виде;

в) **не изменяют состояние равновесия и направление химической реакции**, а лишь **ускоряют его достижение**, как в прямой, так и в обратной реакции в равной степени;

г) повышают скорость реакции, понижая энергию активации. **Энергия активации** - это дополнительное количество кинетической энергии, необходимое молекулам вещества, чтобы они вступили в реакцию или: **тот энергетический барьер, который отделяет одно состояние системы (исходное вещество) от другого (продукт реакции).**

Признаками, отличающими ферменты от неорганических катализаторов являются:

а) **действуют очень эффективно**. Скорость ферментативных реакций в 10^6 - 10^{12} раз выше, чем соответствующих реакций, катализируемых неорганическими катализаторами;

б) **действуют в мягких условиях**, которые создаются в клетке: физиологическом значении рН, температуры и постоянном атмосферном давлении, тогда как химические катализаторы действуют, как правило, в жестких условиях;

в) **обладают высокой специфичностью действия**, т.е. способностью взаимодействовать лишь с одним или несколькими субстратами (**субстратная специфичность**) и катализировать превращение субстрата по одному из возможных путей (**каталитическая специфичность**);

г) **обладают способностью к регуляции**. Каталитическая активность фермента зависит от концентрации субстрата и фермента, наличия кофакторов и коферментов, физических факторов. Как белковые молекулы, они обладают конформационной лабильностью вследствие разрыва слабых связей, что может вызывать изменение активности фермента.

Ферменты могут быть **однокомпонентными** (представлены только белковой молекулой) и **двухкомпонентными**. Эти ферменты помимо белковой части, называемой **апоферментом**, содержат еще небелковую часть. Если небелковая часть **органической природы**, то ее называют **коферментом**, если она представлена ионами металлов, то - **кофактором**. Вместе апофермент и кофермент (кофактор) образуют **холофермент**. Кофермент может быть связан с апоферментом прочно (ковалентно или нековалентно), в этом случае он называется **протетической группой**. При непрочном (нековалентном) взаимодействии кофермент связывается с апоферментом только на время реакции. Он может существовать самостоятельно, не проявляя заметной каталитической активности, и рассматриваться как второй субстрат.

В любом ферменте имеется **активный центр** – это относительно **небольшой участок молекулы фермента, в котором происходит связывание и превращение субстрата**.

У **однокомпонентных ферментов** активный центр формируется в результате определенной ориентации аминокислотных остатков

полипептидной цепи, которые могут быть весьма удалены друг от друга, но сближаются при формировании **третичной структуры**.

У **двухкомпонентных** ферментов в образовании активного центра участвует кофермент и примыкающие к нему некоторые аминокислотные остатки. Он окончательно формируется только тогда, когда произойдет связь кофермента и апофермента. В апоферменте есть **коферментсвязывающий домен**, с которым избирательно связывается кофермент. Кофермент стабилизирует белковую часть фермента, защищая от денатурирующих агентов. Апофермент в свою очередь резко повышает каталитическую активность кофермента и определяет специфичность его действия (один и тот же кофермент в составе разных ферментов осуществляет разные реакции).

В функциональном отношении **активный центр неоднороден**. В нем условно выделяют:

а) **зону связывания с субстратом (субстратсвязывающий центр)**. Она ответственна за формирование ферментсубстратного комплекса [ES], за выбор субстрата, его закрепление и правильную ориентацию относительно каталитического центра;

б) каталитическая зона – это **собственно каталитический центр**, функциональные группы которого непосредственно участвуют в превращении субстрата (в синтезе или расщеплении связей в молекуле субстрата).

Специфичность фермента к субстрату обусловлена комплементарностью структуры субстратсвязывающего центра структуре субстрата. Между субстратсвязывающим центром и субстратом имеется **соответствие по форме** (геометрическое соответствие), и между ними возникают специфические связи, чаще всего **гидрофобные, ионные, водородные**, т.е. устанавливается **электронное или химическое соответствие**. Связывание субстрата с активным центром фермента

многоточечное, т.е. с участием нескольких функциональных групп, которые затем могут участвовать в катализе.

Механизм действия ферментов с точки зрения энергетики химических реакций состоит в том, что они **снижают энергию активации** катализируемых реакций, т.е. уменьшают энергетический барьер, который нужно преодолеть реагирующим молекулам. Когда молекула субстрата связывается с ферментом, то она активируется и снижается ее энергетический барьер. В результате во взаимодействие могут вступать молекулы с меньшим запасом кинетической энергии, увеличивается количество реакционно-способных молекул и скорость реакции возрастает.

Снижение энергии активации связано с **многостадийностью** протекания ферментативных реакций, которые идут не в один этап, а ступенчато, через несколько промежуточных реакций. Активационный барьер реакции разбивается при этом на несколько более низких барьеров каждой промежуточной реакции, которые легче преодолеть, чем один большой активационный барьер.

Выделяют несколько этапов ферментативной реакции:

- а) **этап сближения и ориентации субстрата** относительно активного центра. Субстраты в активном центре располагаются так, чтобы участвующие в реакции функциональные группы находились в непосредственной близости друг от друга;
- б) **образование ферментсубстратного комплекса ES** в результате индуцированного соответствия между ферментом и субстратом;
- в) **деформация субстрата и образование нестабильного комплекса фермент-продукт [EP]**. Это наиболее медленный этап. Длительность этапа зависит от энергии активации реакции. Происходит разрыв связей в молекуле субстрата, образование новых связей и формирование продукта;
- г) **распад комплекса EP** с высвобождением из активного центра фермента продуктов и фермента.



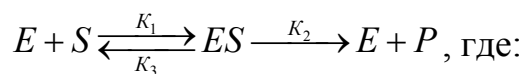
Решающее значение в реакции ферментативного катализа имеет образование нестойкого промежуточного продукта, соответствующего переходному состоянию – ES^* , который превращается в нестабильный переходный комплекс EP и мгновенно распадается на свободный фермент и продукт реакции. **При связывании субстрата с активным центром и активный центр и субстрат претерпевают конформационные переходы.**

Скорость ферментативного катализа определяется изменением количества молекул субстрата или продукта за единицу времени. Она является мерой каталитической активности фермента:

1. Зависимость скорости реакции от концентрации фермента: **при условии, если концентрация субстрата постоянна, скорость реакции пропорциональна концентрации фермента.**

2. Зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата **при постоянной концентрации фермента описывается гиперболой.** При увеличении количества субстрата начальная скорость реакции возрастает. Дальнейшее повышение концентрации субстрата не приводит к увеличению скорости реакции, поскольку все молекулы фермента насыщены субстратом. Это соответствует максимальной скорости реакции (V_{\max})

Ферментативный процесс можно выразить:



K_1 - константа скорости образования фермент-субстратного комплекса (ES);

K_2 - константа скорости распада ES до конечных продуктов;

K_3 – константа скорости распада ES до исходных продуктов.

На концентрацию ES влияет **скорость образования ES (K_1) и скорость распада ES (K_2+K_3).** Соотношение этих скоростей называют **константой Михаэлиса:**

$$K_m = \frac{K_2 + K_3}{K_1}$$

Чем больше K_m , тем больше скорость распада ES и реакция идет медленно. K_m фактически свидетельствует о степени сродства фермента субстрата и о способности образовывать продукт реакции. Численно K_m равна концентрации субстрата, при которой достигается половина максимальной скорости.

Зависимость скорости ферментативных реакций от концентрации субстрата выражается уравнением Михаэлиса-Ментен:

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

K_m и V_{\max} – это кинетические характеристики эффективности фермента. V_{\max} определяет максимальную возможность образования продукта при данной концентрации фермента в условиях избытка субстрата. K_m - величина постоянная, не зависящая от концентрации фермента. Чем больше K_m , тем меньше сродство фермента субстрату и меньше начальная скорость реакции.

Задания для самостоятельной работы:

Напишите уравнение Михаэлиса-Ментен и объясните значение величины K_m для характеристики свойств ферментов.

В каких единицах выражают каталитическую активность фермента?

Изобразите графически зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата и концентрации фермента. Прокомментируйте ход кривых.

Рассчитайте реальную скорость двух реакций, катализируемых разными ферментами, если у одного фермента: $V_{\max} = 1,5$ мкмоль/мин/г.

$K_m = 10$ ммоль/л; у другого фермента: $V_{\max} = 0,1$ мкмоль/мин/г, $K_m = 0,2$ ммоль/л. Как изменится скорость этих реакций, если концентрация субстрата увеличится вдвое?

Разберите, как изменится скорость ферментативной реакции в зависимости от температуры рН. Что лежит в основе изменения скорости реакции в каждом из этих случаев.

Тема: Номенклатура и классификация ферментов.

В названии большинства ферментов имеется окончание «аза», прибавленное либо к названию субстрата реакции (мальтаза, амилаза, липаза т.д.), либо к названию химического превращения субстрата (пируватдекарбоксилаза, лактатдегидрогеназа). Сохранились **тривиальные названия**, которые не дают представления ни о субстрате, ни о типах химического превращения (пепсин, трипсин, тромбин и др.)

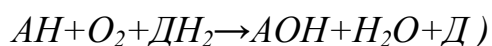
В 1961 разработана международная **систематическая номенклатура**, согласно которой все ферменты разбиты на 6 классов **в зависимости от типа катализируемой реакции**, каждый из которых имеет **строго закрепленный порядковый номер**. Систематическое название служит для **однозначной идентификации** фермента. Принято кодовое четырехзначное цифровое обозначение: первая цифра- класс фермента; вторая – подкласс (учитывает преобразуемую группу); третья цифра – подподкласс (группа) – уточняет дополнительных участников реакции (донора и акцептора); четвертая – порядковый номер в данном подподклассе.

Нужно запомнить нумерацию и названия классов ферментов, типы катализируемых реакций и привести примеры ферментов с систематическим и/или тривиальным (рабочим) названием.

Наиболее крупные классы ферментов это **оксидоредуктазы и трансферазы** (примерно по 500 ферментов).

Характерная особенность оксидоредуктаз – способность образовывать цепи окислительно-восстановительных реакций, в которых осуществляется перенос H или e^- от первичного субстрата к конечному акцептору – кислороду с образованием воды.

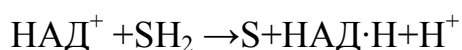
Те оксидоредуктазы, которые переносят H или e^- - непосредственно на кислород называются **аэробные дегидрогеназы или оксидазы**. Если оксидоредуктазы катализируют отнятие H (e^-) непосредственно от окисляемого субстрата (первичного субстрата), то – это первичные дегидрогеназы. Если ферменты катализируют отнятие H (e^-) от вторичного субстрата (им может быть кофермент первичной дегидрогеназы), то они называются **вторичными дегидрогеназами**. Если оксидоредуктазы катализируют непосредственное присоединение атома кислорода (одного или двух) к субстрату, то их называют **оксигеназы (или гидроксилазы**, т.к. осуществляют реакцию гидроксилирования по схеме:



Другая характерная особенность оксидоредуктаз состоит в том, что они являются двухкомпонентными ферментами, всегда имеют кофермент, но число коферментов ограничено. Соединяясь с разными апоферментами, эти немногочисленные коферменты образуют каждый раз новую оксидоредуктазу, обеспечивая большое разнообразие окислительно-восстановительных реакций

Более половины всех оксидоредуктаз содержат в качестве кофермента никотинамидадениндинуклеотид – НАД или НАДФ (пиридиновые дегидрогеназы или пиридинпротеины). Соединяясь с апоферментом, НАД⁺ резко усиливает способность восстанавливаться и отнимает H от субстратов в виде гидрид-ионов (H^-) и протонов (H^+). Первичным субстратом для пиридиновых дегидрогеназ являются спирты, альдегиды, дикарбоновые- и кетокислоты, амины и др. Окисление-восстановление осуществляется по никотинамиду (вит. РР), который входит в состав НАД.

При окислении субстрата к пиридиновому кольцу никотинамида присоединяется один H^+ и два e^- . Происходит восстановление положительно заряженного азота и СН-группы пиридинового кольца, а второй H^+ выходит в среду:



Все пиридиновые дегидрогеназы анаэробные, т.е. не передают H или e⁻ на кислород. НАД-зависимые дегидрогеназы, главным образом принимают участие в процессах расщепления (брожение, дыхание), а НАДФ-зависимые – в окислительно-восстановительных реакциях биосинтеза. У многих дегидрогеназ входят в состав в качестве простетической группы ФАД (флавинаденин-динуклеотид) или ФМН (флавинмоноклеотид).

Краткая характеристика разных классов ферментов.

Класс	Тип катализируемой реакции	Формула системати-ческого (или рабочего) названия	Основные подклассы группы
1. Оксидоредуктазы	Окислительно-восстановительные реакции с участием двух субстратов (перенос e⁻ или H с одного субстрата на другой) $AH_2 + B \rightarrow AH + B$	Систематическое: «донор: акцептор-оксидоредуктаза» рабочее: «субстрат-подкласс-оксидоредуктаза»	Дегидрогеназы, оксидазы, оксигеназы (гидроксилазы), редуктазы.
2. Трансфераза	Перенос функциональных групп от одного соединения к другому. $XY + Z \rightarrow YZ + X$	«Донор:акцептор-транспортируемая группа-трансфераза»	Киназы - перенос фосфатных групп. Трансаминаза-перенос аминогрупп. Гликозилтрансфераза-перенос гликозидных групп и др.
3. Гидролазы	Гидролиз связей (пептидных, эфирных, гликозидных, С-С, Р-N), с присоединением молекулы воды по месту разрыва. $XU + HOH \rightarrow XU + HOH$	«Субстрат-гидролаза» или «субстрат+ «аза»	В зависимости от расщепляемой связи: эстеразы, фосфатазы, липазы, нуклеазы, протеазы, пептидазы и др.
4. Лиазы	Отщепление от субстрата определенной группы негидролитическим путем . Разрыв связей С-С, С-О, С-N, С-S с образованием двойной связи. В обратной реакции присоединение H ₂ O, NH ₃ и др. по двойной связи.	«Субстрат-отщепляемая или присоединяемая группировка»	Дегидратазы, декарбоксилазы, альдегидлиазы, углерод-кислород-лиазы
5. Изомеразы	Внутримолекулярные превращения: *окислительно-восстановительные реакции; *перенос групп; *перемещение двойных связей внутри молекулы.	- Изомеразы - Мутазы	Триозофосфатизомераза, фосфоглицерат-фосфомутаза.

6.Лигаза (синтетаза)	Присоединение друг к другу двух молекул с образованием ковалентной связи, сопряженное с гидролизом АТФ или других марозэргических связей. $A+B+ATP \rightarrow A-B+ADP + P_H$	- если источник энергии АТФ, - это синтетаза (лигаза) - если источник энергии другой, кроме АТФ, - это синтаза	Синтетаза, карбоксилаза.
---------------------------------	--	---	-----------------------------

Это флавиновые дегидрогеназы или флавопротеины. Они как правило, являются вторичными дегидрогеназами. Активной частью ФАД и ФМН является рибофлавин (вит.В₁₂). Он содержит изоаллоксазиновую группу, где N₁ и N₁₀ может окисляться-восстанавливаться двумя атомами Н, отнятыми от субстрата. Восстановленные формы этих дегидрогеназ с трудом окисляются молекулярным кислородом (т.е. не переносят e⁻ на O₂). Поэтому конечным акцептором e⁻, отщепляемых от флавиновых дегидрогеназ, являются цитохромы.

Задания для самостоятельной работы

Разберите строение коферментов, часто встречающихся в составе ферментов: КоА, пиридоксальфосфат, тиаминпирофосфат, НАД, ФАД. Напишите схематично их формулы. Выучите их активные группы, тип катализируемых реакций. Укажите, в состав каких ферментов они входят. Для лучшего запоминания составьте таблицу.

Составьте таблицу витаминов, входящих в состав коферментов. Укажите ферменты и типы катализируемых реакций.

Укажите классы ферментов, катализирующих реакции:

а) пируват+ CO₂ +АТФ +Н₂О → оксалоацетат +АДФ +Фн;

б) фумаровая кислота + Н₂О → яблочная кислота (малат).

Дайте определение изоферментов. Разберите изоферменты лактатдегидрогеназы, характерные для сердечной мышцы и скелетной мускулатуры.

Приведите примеры использования ферментов в медицине. Примеры заболеваний, связанных с нарушением синтеза ферментов и примеры использования ферментов для диагностики.

Тема: Ферменты и метаболизм.

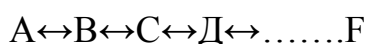
Изучение вопросов организации и регуляции метаболизма, как правило, представляет трудность для освоения, поскольку **требует анализа и обобщения** конкретных знаний о биохимических процессах и реакциях, протекающих в клетке. Поэтому необходимо рассмотреть **общие принципы** организации метаболизма и роль ферментов в его регуляции.

В клетке постоянно происходит множество химических ферментативных реакций. Действие ферментов в клетке строго упорядочено: продукт одной реакции является субстратом другой, образуя «**метаболические пути**» –**последовательное превращение одних соединений в другие. Метаболизм –это совокупность всех метаболических путей.** Среди всех метаболических путей выделяют противоположно направленные процессы: **катаболизм и анаболизм. Катаболизм** – это распад сложных веществ до простых с высвобождением энергии. **Анаболизм** – синтез из простых соединений более сложных.

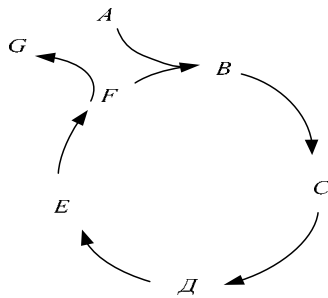
Метаболические пути согласованы между собой по месту, времени и интенсивности протекания.

По структуре метаболических путей выделяют несколько типов:

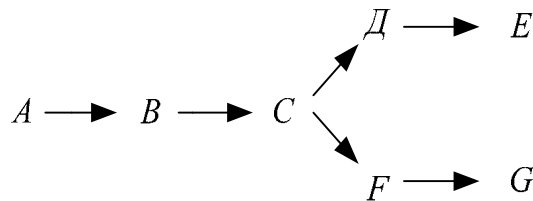
Линейный – субстрат через ряд ферментативных реакций превращается в один конечный продукт (например, гликолиз).



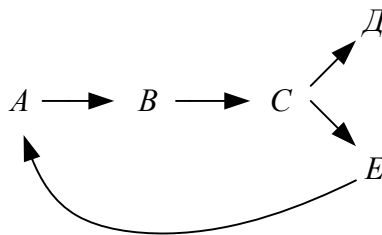
Циклический – субстрат включается в цикл, превращается в продукт, который является промежуточным и выводится из цикла, а цикл замыкается вновь на исходный субстрат (цикл Кребса, орнитинный цикл синтеза мочевины).



Разветвленный – субстрат, превращаясь, образует два разных продукта (синтез нуклеотидов).



Спиральный – субстрат дает два продукта, один из которых идет на регенерацию субстрата (β -окисление жирных кислот).



Для метаболических путей характерна:

1. Пространственная локализация ферментов. Все ферменты одного пути, как правило, находятся в одном компартменте клетки. Особенно важно пространственное разделение для противоположно направленных процессов катаболизма и анаболизма (например, синтез жирных кислот происходит в цитозоле, а их окисление в митохондриях). Промежуточные продукты одного пути могут высвобождаться и использоваться в других метаболических путях, т.е. пути между собой связаны. Примером ярко выраженной пространственной локализации ферментов является образование **мультиферментных комплексов**, которые обычно связаны с мембранами. Мультиэнзимные комплексы, образованные разными протеолитическими ферментами называются **протеосомами**. Еще более крупные метаболические

пути, носят название **метаболонов** (ферменты гликолиза, цикла Кребса). В мультиэнзимные комплексы и метаболоны объединяются обычно ферменты, содержащиеся в цитозоле и лишенные контактов с мембраной. В таких ансамблях имеется один центральный (коровый) фермент, с которым слабыми связями объединяются другие ферменты, сходные по каталитическим параметрам.

2. Органоспецифичность. Ферменты, выполняющие функцию жизнеобеспечения, имеются во всех клетках. Но при дифференцировке и специализации клеток, ферментный состав изменяется в связи с особенностями функций этих клеток. Так, в клетках сердечной мышцы повышенное содержание креатинкиназы и аспартатаминотрансферазы, а в клетках печени – аланинаминотрансферазы.

3. Компартиментализация – это строгая локализация отдельных ферментов в различных компартментах клетки. Например, в ядре сосредоточены ферменты синтеза ДНК и РНК, в цитозоле – гликолиза, в матриксе митохондрий – цитратный цикл, во внутренней мембране митохондрий – цепь переноса электронов (ЦПЭ). Более того, изоферменты одного и того же фермента, имея разную компартиментализацию, могут осуществлять разные реакции. Например, цитозольная малатдегидрогеназа катализирует превращение оксалацетата в яблочную кислоту, а митохондриальный изофермент – способен превращать малат в оксалацетат. Такая субклеточная локализация способствует упорядоченности биохимических процессов и увеличивает скорость обмена веществ.

В метаболических путях среди множества ферментов имеются **ключевые (регуляторные) ферменты**, активность которых может изменяться в зависимости от потребности клетки в конечном продукте пути. Они, как правило, расположены в начале и/или в месте разветвления пути (метаболические вилки). Катализируют либо самые медленные (скорость-лимитирующие), либо необратимые реакции.

Регуляция скорости ферментативных реакций в метаболическом пути осуществляется на уровне:

- а) изменения содержания фермента;
- б) доступности молекул субстрата и кофермента;
- в) изменения каталитической активности фермента.

Содержание фермента определяется регуляцией синтеза и распада фермента. Наличие субстрата, особенно первого и коферментов – это важный фактор, контролирующий протекание пути. Чем больше концентрация исходного субстрата, тем выше скорость метаболического пути.

В изменении скорости метаболического пути играет важную роль каталитическая активность регуляторных ферментов. Это быстрый способ регуляции метаболизма.

Основные способы регуляции активности фермента:

- а) аллостерическая регуляция;
- б) с помощью белок-белковых взаимодействий;
- в) путем фосфорилирования-дефосфорилирования молекул фермента;
- г) частичным протеолизом.

Задания для самостоятельной работы

1. Дайте определение **аллостерическим ферментам**. Каковы особенности их строения, локализации в метаболических путях и функционирования.
2. Раскройте характер регуляции активности фермента путем **ограниченного протеолиза**. Дайте понятие и приведите примеры.
3. Разберите механизмы регуляции активности фермента по принципу **обратной связи**.
4. При изучении реакций гликолиза и цикла Кребса покажите возможные точки регуляции этих метаболических путей, указав обратимые и необратимые реакции.
5. Какую роль могут выполнять ионы металлов, являясь кофакторами ферментов? Приведите примеры таких ферментов.

Тема: Структура, свойства и функции нуклеиновых кислот. ДНК и РНК.

Химическое строение нуклеиновых кислот обычно хорошо описывается в учебной литературе. Тем не менее, необходимо остановиться на некоторых моментах, характеризующих их структуру и свойства.

Нуклеиновые кислоты (НК) – это **линейные полимеры**, т.е. не образуют боковых цепей. Их мономеры – нуклеотиды, каждый из которых состоит из трех компонентов: азотистое основание, пентоза и остаток фосфорной кислоты.

Азотистые основания, входящие в состав НК, разделяют на 2 группы.

Производные пурина:

- Аденин (А)
- Гуанин (G)

2. Производные пиримидина:

- Тимин (Т)
- Цитозин (С)
- Урацил (U)

Свойства азотистых оснований: плохо растворимы в воде; существуют в кето (лактам) – и енольных (лактим) формах; атом азота в кольцах имеет слабо основной характер (рК в области рН 9-10), рК аминогрупп лежит в области кислых значений рН 3-4. При рН 7 аминогруппы не протонированы, основания находятся в форме лактама. Поглощают УФ-лучи с максимумом 260 нм, что используется для определения оснований, нуклеозидов, нуклеотидов.

В составе НК встречаются **минорные** основания, у которых в кольце имеются замещающие группы (5-метилцитозин, 4-тиоурацил) и др. Особенно их много в составе тРНК. Азотистые основания, присоединяя пентозу (рибозу или дезоксирибозу), образуют соответствующие **нуклеозиды**: аденозин, гуанозин, тимидин, цитидин, уридин. Соединение пентозы и азотистого основания осуществляется через **β -N-гликозидную связь**, которая образуется между гликозидной ОН-группой у С₁ пентозы и атомом азота в первом положении пиримидина (N₁) или в девятом положении пурина (N₉).

Нуклеозиды лучше, чем основания, растворимы в воде, устойчивы к щелочам, но легко гидролизуются кислотами. Ферменты, расщепляющие нуклеозиды по N-гликозидной связи называют **нуклеозидазами**.

Нуклеотиды – это гликозиды с присоединенной эфирной связью фосфатной группой. Присоединение фосфатного остатка осуществляется через OH-группу у C₅ пентозы. Связь фосфатной группы с пентозой может осуществляться через OH любого углеродного атома, но у всех нуклеотидов, входящих в состав НК, эта связь только в C₅-положении. В зависимости от того, какая пентоза (рибоза или дезоксирибоза) входит в состав нуклеотида, образуются соответственно рибонуклеотиды или дезоксирибонуклеотиды. В зависимости от числа остатков фосфорной кислоты образуются нуклеозид-5'-моно-, -ди- и три- фосфаты.

Нуклеотиды – сильные кислоты. При pH 7 группы остатков фосфорной кислоты диссоциированы, нуклеотиды находятся в форме анионов и могут образовывать комплексы с двухвалентными катионами Ca²⁺, Mg²⁺. Сложноэфирная связь между нуклеозидом и фосфорной кислотой устойчива при кислотном гидролизе. Она разрывается ферментом **5'-нуклеотидазой**. Нуклеотиды интенсивно поглощают УФ 260 нм.

Функция нуклеотидов состоит не только в том, что они входят в состав НК. Находясь в клетке в свободном виде, играют важную роль в энергетическом обмене, в аккумуляции и переносе энергии, синтезе олиго- и полисахаридов, жиров, служат коферментами оксидоредуктаз.

Соединение нуклеотидов в полинуклеотидную цепь осуществляется через **3'-5'-фосфодиэфирную связь**. Она образуется между OH у C₃-атома пентозы одного нуклеотида и фосфорным остатком у C₅-атома пентозы другого нуклеотида. Эта связь гидролизуеться **нуклеазами**. Тот конец цепи, у которого остается свободный, не вступивший в связь, OH у C₃-атома пентозы называется **3'-конец**. Тот, у которого остается свободный остаток фосфорной кислоты у C₅-атома пентозы – **5'-конец**. **Связь между азотистыми основаниями одной цепи не происходит.** Поэтому по всей

длине цепи образуется остов, состоящий из чередующихся групп **-пентоза-фосфат-пентоза (сахарофосфатный остов)**. Присоединение нуклеотидов идет всегда только с 3'-конца, т.е. цепь синтезируется в направлении 5'-3'.

Дезоксирибонуклеиновая кислота –ДНК.

Первичная структура ДНК – это последовательность (порядок чередования) дезоксирибонуклеозидмонофосфатов в полинуклеотидной цепи.

Э.Чаргафф установил закономерности химического состава ДНК (правила Чаргаффа):

Количество молекул пуриновых оснований равно количеству молекул пиримидиновых оснований ($A+G = T+C$);

Количество молекул аденина равно количеству молекул тимина ($A = T$);

Количество молекул гуанина равно количеству молекул цитозина ($G = C$);

Количество оснований с б-аминогруппами равно количеству оснований с б-гидроксигруппами ($A + C = G + T$);

5.Отношение $G + C / A + T$ постоянно для клеток одного вида организмов, но резко отличается у разных видов. Это отношение называют **фактором специфичности**.

Открытые закономерности совместно с рентгеноструктурным анализом ДНК позволили предложить модель и расшифровать структуру ДНК (Уотсон Дж., Крик Ф., 1953).

Вторичная структура ДНК: это две правозакрученные вокруг одной общей оси спирали, которые соединены между собой. **Цепи антипараллельны**, т.е. 3'-конец одной цепи соединяется с 5'-концом другой. Они соединены между собой водородными связями, которые возникают между азотистыми основаниями. Основания обращены внутрь спирали, а два сахарофосфатных остова расположены по периферии молекулы. Между аденином и тимином образуются две, а между гуанином и цитозином три водородные связи. Соединяются водородными связями пуриновые и пиримидиновые основания – это **принцип комплементарности**. Плоскости

оснований параллельны друг другу и уложены «стопкой». Расстояние между плоскостями соседних оснований 0,34 нм. Между ними возникают гидрофобные взаимодействия, стабилизирующие спираль. Ионизированные фосфатные группы и гидрофильные остатки дезоксирибозы находятся на поверхности молекулы и контактируют с молекулами воды.

На каждый виток спирали приходится 10 пар нуклеотидов. По длине молекула имеет постоянный диаметр – около 2 нм. Пространственная структура ДНК **не зависит** от нуклеотидного состава, в отличие от белков, у которых первичная структура определяет вторичную и третичную.

Третичная структура ДНК – это способ упаковки ДНК в хромосомах. Каждая молекула ДНК упакована в отдельную хромосому.

Синтез молекул ДНК осуществляется в процессе **репликации**. Репликация – это уникальное свойство ДНК. Разбирая этот вопрос, обратите внимание на то, что в основе репликации лежит **матричный принцип**. **Каждая** из двух цепей ДНК служит матрицей для синтеза новой ДНК-цепи. Ферменты, участвующие в репликации, объединены в **мультиферментный комплекс**. Субстратами и источниками энергии для синтеза ДНК являются дезоксирибонуклеозидфосфаты.

Молекулы РНК тоже синтезируются на основе **матричного принципа**. Матрицей для синтеза молекул РНК служит **определенный участок одной из цепей ДНК (ген)**. Процесс синтеза РНК называется **транскрипция**. При изучении этого процесса сравните его с процессом репликации ДНК. Имеется ли какое-то сходство между ними? Особое внимание обратите на строение молекул тРНК, с тем, чтобы понять, каким образом последовательность нуклеотидов в иРНК, являющейся матрицей для синтеза белка, «переписывается» в последовательность аминокислот в белке.

Задания для самостоятельной работы

1. Покажите различия между ДНК и РНК по составу азотистых оснований, нуклеотидов и вторичной структуре.

2. Напишите образование 3'-5' фосфорэфирной связи между нуклеотидами в полинуклеотидной цепи.
3. Рассчитайте размер молекулы ДНК, если она включает 1 млн пар нуклеотидов.
4. Опишите процесс репликации ДНК и транскрипции (синтеза РНК). Для этого составьте таблицу, куда внесите ответы на следующие пункты: субстрат реакции; источники энергии; ферменты, кофакторы, направление синтеза новых цепей; локализация процесса.
5. Дайте понятия «репликон», «репликативная вилка», точка начала репликации.
6. Какие повреждения могут возникать в молекуле ДНК под действием различных факторов, и каким путем они могут быть устранены.
7. Покажите изменения в физико-химических свойствах ДНК происходят при ее денатурации. Гиперхромный эффект ДНК, плавление ДНК.

Тема: Основные принципы биоэнергетики клетки. Биологическое окисление.

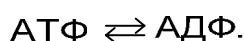
В предыдущих разделах мы касались понятий «метаболизм», «катаболизм», «анаболизм», «метаболические пути». В данной теме эти **процессы** должны быть рассмотрены с позиций **биоэнергетики**. Биоэнергетика представляет собой совокупность процессов превращения энергии в биологических системах: извлечение из окружающей среды, ее аккумуляция и использование для жизнедеятельности клетки.

Каждое органическое вещество обладает определенным запасом **внутренней энергии (E)**. Та часть **внутренней энергии**, за счет которой **может быть совершена полезная работа**, называется **свободной энергией (G)**. Уровень свободной энергии исходных соединений и продуктов реакций различны. В процессе биохимических реакций происходит перераспределение свободной энергии между компонентами реакции. Изменение свободной энергии компонентов реакции – ΔG . Изменение

свободной энергии в стандартных условиях (температура 25°, концентрация исходных веществ и продуктов реакции 1М) обозначается ΔG° .

Величина ΔG° химической реакции равна разности между суммой стандартных свободных энергий продуктов реакции и суммой свободной энергии исходных веществ. Если свободная энергия продуктов реакции уменьшается, т.е. реакция идет с выделением свободной энергии ($-\Delta G$), то она называется **экзергонической**. Такие реакции идут самопроизвольно, являются термодинамически выгодными и могут быть использованы для совершения полезной работы. Если свободная энергия продуктов реакции увеличивается, т.е. ΔG реакции положительно ($+\Delta G$), это означает, что реакция может идти только с затратой дополнительной энергии (называется **эндергонической**). Изменение свободной энергии реакции ΔG° зависит от рН среды, в которой протекает реакция. Поэтому принято за стандарт значение ΔG° при рН7, обозначается $\Delta G^{\circ'}$. Эта величина дает представление о направлении биохимической реакции в нейтральной среде.

В биологических системах эндергонические реакции могут протекать лишь за счет энергии экзергонических. Такие реакции называются энергетически сопряженными. Все организмы используют для сопряжения реакций, идущих с выделением или потреблением энергии систему



АТФ играет роль сопрягающего фактора между реакциями катаболизма и анаболизма. Почему именно АТФ? Это связано с особенностью химического строения. АТФ представляет собой адениловый нуклеозид, связанный с тремя остатками фосфорной кислоты. Первый из них (α -остаток) связан сложноэфирной связью с C_5 пентозы. Это обычная связь. Изменение свободной энергии реакции $\Delta G^{\circ'}$ не превышает 12,5кДж/моль, как и у большинства связей в органических соединениях. Второй фосфатный остаток

(β) и третий (γ) связаны с α-остатком и друг с другом фосфоангидридными связями, у которых ΔG° (при pH 7, температуре 37°, концентрации реагентов 1М и избытке Mg^{2+}) составляет (-30,6) кДж/моль (макроэргические связи). Они легко гидролизуются с выделением энергии. Макроэргическими принято считать те связи, при гидролизе которых ΔG° составляет более 21 кДж/моль (> 5ккал). Соединения, у которых изменение свободной энергии реакции меньше 21кДж/моль называются низкоэнергетическими.

В клетках кроме АТФ имеется еще много соединений, у которых ΔG° выше 21 кДж/моль: фосфоэнолпируват ($\Delta G^{\circ} = -61,2$ кДж/моль); 1,3-трифосфоглицерат ($\Delta G^{\circ} = -48,8$ кДж/моль), креатинфосфат ($\Delta G^{\circ} = -42,6$ кДж/моль) и др. Эти соединения являются еще более высокоэнергетическими, чем АТФ. Уникальность АТФ заключается в том, что в термодинамической шкале соединений она занимает промежуточное положение. Функция системы

АТФ↔АДФ состоит именно в том, что она служит посредником—переносчиком фосфатных групп от высокоэнергетических к низкоэнергетическим фосфатам по схеме:



В клетке **никогда не происходит прямого переноса** фосфатных групп от высокоэнергетического к низкоэнергетическому соединению, а также от высокоэнергетического донора фосфатной группы к высокоэнергетическому акцептору или от низкоэнергетического к низкоэнергетическому. Почти все реакции переноса фосфатных групп идут с участием АТФ ↔ АДФ.

Процесс синтеза АТФ из АДФ называется фосфорилированием. **Выделяют субстратное и окислительное фосфорилирование.** При субстратном фосфорилировании для синтеза АТФ используется энергия непосредственно от окисляемого субстрата (например, отдельные реакции

гликолиза и цитратного цикла). Если на синтез АТФ используется энергия, выделяемая при транспорте e^- в дыхательной (электрон-транспортной) цепи, то такое фосфорилирование называется окислительным.

АТФ – это главный донор свободной энергии в клетке. Использование АТФ как источника энергии возможно только при условии непрерывного синтеза АТФ за счет энергии окисления органических соединений.

Окисление органических веществ в клетках, сопровождающееся потреблением O_2 , образованием H_2O и CO_2 , называют тканевым дыханием.

Тканевое дыхание включает:

- а) постепенное отнятие водорода от субстрата (дегидрирование);
- б) многоэтапный процесс переноса электронов на кислород – электрон-транспортная (дыхательная) цепь.

Тканевое дыхание и синтез АТФ энергетически сопряжены.

Начальные этапы катаболизма углеводов, жиров, аминокислот – это **специфические пути катаболизма**. Они происходят при участии ферментов, специфичных для каждого класса органических соединений, и завершаются образованием **пировиноградной кислоты и ацетил-КоА**. Ацетил-КоА образуется **при катаболизме жирных кислот (β -окисление)** и некоторых аминокислот. Но главным источником ацетил-КоА служит пируват, образующийся при катаболизме глюкозы (гликолиз) и некоторых аминокислот. Именно **в форме ацетил-КоА** включаются в дальнейший путь распада промежуточные продукты начального этапа катаболизма углеводов, жиров, аминокислот.

Дальнейший путь распада веществ до конечных продуктов CO_2 и H_2O происходит одинаково при катаболизме углеводов, жиров, аминокислот и называется **общим путем катаболизма (ОПК)**. Он включает:

- а) **реакцию декарбоксилирования пирувата**, которая происходит при участии **набора ферментов**, организованных в **мультиэнзимный пируват-дегидрогеназный комплекс (ПДК)**;

б) **цикл Кребса (цитратный цикл или ЦТК)**, где ацетил-КоА окисляется до CO_2 и H_2O . В этих реакциях окисления принимают участие НАД- и ФАД-зависимые дегидрогеназы, которые передают протоны H^+ и e^- в электронтранспортную цепь (ЦПЭ) и далее на кислород.

Общий путь катаболизма (декарбоксилирование пирувата и цитратный цикл) **происходит в матриксе митохондрий**. Восстановленные коферменты дегидрогеназ передают H непосредственно на компоненты ЦПЭ, которые расположены во внутренней мембране митохондрий.

Начальный этап катаболизма глюкозы – это **гликолиз**. При аэробном гликолизе происходит окисление глюкозы до пирувата, который далее окисляется в общем пути катаболизма и в ЦПЭ.

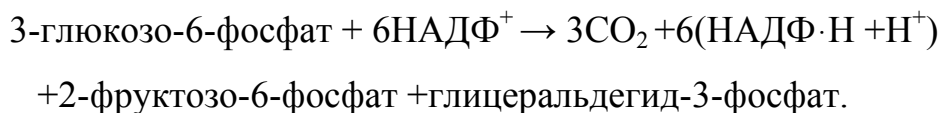
Выход АТФ при аэробном гликолизе составляет **8 молекул**, а именно: на втором этапе гликолиза происходит 2 реакции субстратного фосфорилирования с образованием 2 молекул АТФ. Кроме того, образуется НАДН, который передает H в ЦПЭ, где в процессе окислительного фосфорилирования образуются 3 молекулы АТФ. Учитывая, что из глюкозы образуется в процессе гликолиза 2 фосфотриозы, то нужно умножить все на коэффициент 2. Всего образуется 10 молекул АТФ. Но 2 молекулы АТФ использовались на первом этапе гликолиза, поэтому общий выход АТФ составляет 8 молекул.

Анаэробный гликолиз – процесс расщепления глюкозы до молочной кислоты (лактата). Он не связан с ЦПЭ, т.к. протекает без участия O_2 . АТФ образуется только в двух реакциях субстратного фосфорилирования. **Общий выход АТФ – 2 молекулы.**

При аэробном распаде глюкозы до конечных продуктов CO_2 и H_2O образуется 38 молекул АТФ: в общем пути катаболизма (ОПК) происходит 5 реакций дегидрирования – 4 реакции с образованием НАДН, который окисляясь в ЦПЭ, дает 12 молекул АТФ, и одна реакция дегидрирования идет с участием ФАДН_2 , окисление которого в ЦПЭ дает 2 молекулы АТФ. В цитратном цикле происходит одно субстратное фосфорилирование и

образуется 1 молекула АТФ. Умножив все на коэффициент 2, получаем: 30 мол. АТФ образуется в ОПК и 8 мол. АТФ при аэробном гликолизе.

Существует **альтернативный** путь окисления глюкозы – **пентозофосфатный путь (цикл)**, в результате которого образуются:



В окислительной фазе этого пути образуются рибулозо-5-фосфат и НАДФН. Значение этого пути состоит в том, что он обеспечивает клетки рибозой для синтеза нуклеотидов, а также НАДФ·Н, который используется для различных синтезов в клетках, особенно для синтеза жиров в клетках жировой ткани. **Пентозофосфатный путь локализован в цитозоле.**

Студентам необходимо более детально рассмотреть: последовательность реакций гликолиза; реакцию декарбоксилирования пирувата с указанием ферментов пируваткарбоксилазного комплекса; компоненты дыхательной цепи переноса электронов; указать точки сопряжения окисления НАДН и ФАДН₂ с образованием АТФ при участии фермента АТФ-синтазы. Обратите внимание на вопросы катаболизма и синтеза гликогена в организме человека, поскольку гликоген является запасным полисахаридом и участвует в поддержании уровня глюкозы в плазме крови. Обратите внимание на его роль в мышцах и печени.

Рассмотрев реакции синтеза и катаболизма жиров и жирных кислот, покажите, на каких этапах возможна взаимосвязь углеводного и жирового обменов, через какие реакции она может осуществляться. Изучая пути и реакции глюконеогенеза (синтеза глюкозы из неуглеводных продуктов), найдите общие этапы в синтезе и распаде глюкозы (амфиболический путь) и реакции, характерные только для глюконеогенеза.

Задания для самостоятельной работы

1. Напишите формулу АТФ, разберите типы связей, отметьте макроэргические связи. Объясните, почему система АТФ↔АДФ занимает центральное место в метаболизме клетки.
2. Какие реакции являются обратимыми и необратимыми с точки зрения изменения стандартной свободной энергии ΔG° реакции? Разберите путь гликолитического расщепления глюкозы в аэробных и анаэробных условиях и отметьте обратимые и необратимые реакции.
3. Покажите, в каких реакциях цитратного цикла и гликолиза осуществляется субстратное фосфорилирование. Напишите эти реакции.
4. Сравните субстратное и окислительное фосфорилирование по следующим параметрам: донор электронов; с чем сопряжено фосфорилирование; связь с мембранами. Составьте таблицу.
5. Разберите реакции общего пути катаболизма: декарбоксилирование пирувата и цитратный цикл. Какие ферменты и коферменты участвуют в декарбоксилировании пирувата.
6. Рассчитайте энергетический баланс (молекул АТФ) аэробного и анаэробного гликолиза, полного расщепления глюкозы до CO_2 и H_2O . Укажите конкретные реакции, которые сопряжены с синтезом АТФ.
7. Составьте таблицу, где укажите все компоненты дыхательной цепи и изменения окислительно-восстановительных потенциалов. Покажите, в каких реакциях ЦПЭ транспорт e^- сопряжен с синтезом АТФ. Объясните, почему синтез АТФ возможен только в данных реакциях переноса e^- .
8. Почему при окислении НАД·Н в ЦПЭ синтезируются 3 молекулы АТФ (3 точки сопряжения окисления и фосфорилирования), а при окислении ФАДН₂ – только 2.
9. Сравните энергетический выход (количество молекул АТФ) при полном окислении глюкозы и жирных кислот (пальмитиновой кислоты).

Темы и вопросы для коллоквиумов:

Тема « Белки: структура, свойства, функции»

- a. Протеиногенные аминокислоты, их структурные формулы.
- b. Классификация аминокислот (по числу amino- и карбоксильных групп, химическому строению, растворимости и др.).
- c. Кислотно-основные и электрохимические свойства аминокислот и белков.
- d. Пептидная связь: образование и свойства.
- e. Первичная структура белка. Этапы и методы расшифровки первичной структуры.
- f. Вторичная структура молекулы белка (α -спираль, β -структура). Природа и типы внутримолекулярных связей.
- g. Третичная и четвертичная структуры белковой молекулы. Типы внутримолекулярных связей.
- h. Физико-химические методы изучения конформации белковой молекулы.
- i. Методы определения молекулярной массы белков.
- j. Физико-химические свойства белков. Методы исследования.
- k. Домены в структуре белка, их функциональная роль.
- l. Глобулярные и фибриллярные белки. Характеристика отдельных белков.
- m. Классификация белков по растворимости, функциям и др.
- n. Биомедицинские аспекты изучения белкового состава. Биологически активные пептиды.
- o. Биохимические основы сокращения мышц.
- p. Защитные белки крови.

Тема « Ферменты. Особенности ферментативного катализа. Пути регуляции активности ферментов »

2. Отличие ферментов от неорганических катализаторов.
3. Структура ферментов: кофактор, апофермент, активный центр, аллостерический центр.
4. Общие представления о механизме действия ферментов.

5. Кинетические методы изучения ферментативных реакций: зависимость от температуры, pH, количества фермента и субстрата.
6. Кинетические характеристики эффективности ферментов: константа Михаэлиса, максимальная скорость реакции.
7. Принципы классификации ферментов. Характеристика отдельных классов.
8. Характеристика пиридиновых и флавиновых дегидрогеназ. Коферменты: НАД, ФМН, ФАД, их биологическая роль.
9. Пути регуляции активности ферментов.
10. Типы ингибирования ферментов. Биомедицинские аспекты.
11. Пространственная локализация, органоспецифичность и компартментация ферментов. Изоферменты.
12. Использование ферментов в медицине. Энзимодиагностика.

Тема « Обмен аминокислот и белков в организме человека»

Ферментативный гидролиз белков. Протеазы.

Катаболизм аминокислот: декарбоксилирование, окислительное дезаминирование.

Пути образования аминокислот.

Аминотрансферазы. Их диагностическое значение.

Пути обезвреживания аммиака.

Биосинтез мочевины (орнитинный цикл), его значение.

Амиды и амины. Биомедицинское значение.

Связь обмена аминокислот с обменом углеводов.

Тема « Нуклеиновые кислоты»

1. Нуклеотиды, нуклеозиды и азотистые основания.
2. Образование ковалентных связей в первичной структуре нуклеиновых кислот.
3. Первичная структура ДНК. Правила Чаргаффа, фактор специфичности.

4. Вторичная структура ДНК - двойная спираль, ее характеристика.
5. Физико-химические свойства ДНК. Методы изучения.
6. Репликация ДНК: локализация, основные принципы, биологическое значение.
7. Нарушения структуры и репарация ДНК. Экзо- и эндонуклеазы.
8. Транскрипция, синтез РНК.
9. Типы РНК, строение и их функции.
10. Строение рибосом. Матричный синтез белков. Трансляция.
11. Биохимические основы наследственных болезней.

Перечень вопросов для подготовки к зачету.

1. Значение биохимии для медицины, биотехнологии, промышленности и сельского хозяйства.
2. Аминокислоты, их строение и свойства. Классификация.
3. Полипептидная теория химического строения белков. Физико – химические свойства и методы их разделения.
4. Классификация белков. Биологические функции. Характеристика отдельных белков крови и мышц, их биомедицинское значение.
5. Первичная структура и уровни пространственной организации белковой молекулы. Типы внутримолекулярных связей.
6. Физико - химические методы расшифровки первичной структуры и конформации белковой молекулы.
7. Пептиды, их биомедицинское значение.
8. Белки как катализаторы. Строение и роль ферментов в обмене веществ.
9. Механизм действия ферментов. Особенности ферментативного катализа.
10. Кинетика ферментативных реакций. Кинетические характеристики эффективности действия ферментов. Константа Михаэлиса.
11. Коферменты. Их роль для функционирования ферментов. Витамины как коферменты.
12. Классификация ферментов. Характеристика отдельных классов.

13. Активаторы и ингибиторы ферментов. Обратимое и необратимое ингибирование. Биомедицинские аспекты.
14. Регуляция активности ферментов. Аллостерическая регуляция и регуляция по типу обратной связи.
15. Множественные формы ферментов, изоферменты. Ферменты в медицине. Энзимодиагностика.
16. Строение нуклеотидов. Пуриновые и пиримидиновые основания. Их биологическая роль.
17. Строение и физико – химические свойства ДНК, методы исследования ДНК.
18. Репликация ДНК. Биологическое значение. ДНК – технологии в медицине.
19. Транскрипция. Ферменты транскрипции. Механизм регуляция. Биологическое значение.
20. Строение и функции различных типов РНК.
21. Строение рибосом. Полирибосомы.
22. Трансляция. Пути регуляции.
23. Принцип матричного синтеза биомолекул (ДНК, РНК, белки).
24. Биологическая роль углеводов. Их разнообразие и свойства.
25. Моносахариды: строение, классификация. Изомеры. Производные моносахаридов – аминосахара, гликозиды, сахароспирты и др. Биомедицинское значение.
26. Полисахариды: разнообразие и биологические функции.
27. Гликоген: реакции биосинтеза и распада. Роль в регуляции содержания глюкозы в крови.
28. Основные пути метаболизма глюкозы в клетках.
29. Реакции анаэробного гликолиза. Обратимые и необратимые реакции. Энергетическая эффективность. Биологическая роль.
30. Цитратный цикл (цикл Кребса). Локализация, основные реакции. Энергетический баланс, биологическая роль.

31. Пентозофосфатный путь превращения глюкозы. Биологическая роль.
32. Глюконеогенез. Глюкогенные аминокислоты, значение.
33. Высокоэнергетические фосфаты, их роль в метаболизме клетки. Система АТФ-АДФ.
34. Структура дыхательной цепи, окислительное фосфорилирование. Механизмы сопряжения окисления и фосфорилирования.
35. Углеводный обмен в организме человека. Заболевания, связанные с нарушением углеводного обмена.
36. Липиды, классификация, биологическая роль. Строение и свойства жирных кислот.
37. Нейтральные жиры (триацилглицеролы); строение, свойства, биологическая роль. Ферментативный гидролиз.
38. Фосфолипиды: строение, свойства и биологическая роль.
39. Переваривание, всасывание и транспорт жиров в организме человека.
40. Реакции синтеза жирных кислот и нейтральных жиров.
41. β - окисление жирных кислот: локализация, энергетический выход, биологическая роль.
42. Заболевания, связанные с нарушением липидного обмена.
43. Азотистый обмен: ферментативный гидролиз белков, протеазы.
44. Общие реакции синтеза и распада аминокислот: окислительное дезаминирование, трансаминирование, декарбоксилирование.
45. Пути обезвреживания аммиака. Биосинтез мочевины, орнитиновый цикл. Локализация, биологическая роль.
46. Амины и амиды. Реакции синтеза, биологическое значение.
47. Взаимосвязь обмена углеводов с обменом аминокислот и белков.
48. Взаимосвязь углеводного и липидного обменов.
49. Взаимосвязь между обменом белков, углеводов и липидов. Амфиболические пути клетки.
50. Основные механизмы регуляции обмена веществ в организме.

51. Химическая природа и классификация гормонов. Механизмы действия. Физиологическая роль важнейших гормонов.

Рекомендуемая литература (основная)

1. Жеребцов Н.А., Попова Т.Н., Артюхов В.Г. Биохимия. Изд-во Воронежского ун-та, 2002.
2. Филлипович Ю.Б. Основы биохимии М.: Высшая школа, 1998.
3. Филлипович Ю.Б., Коничев А.А., Севастьянова Г.А., Кутузова Н.Н. Биохимические основы жизнедеятельности человека. М.: Владос, 2005.
4. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия. М.: Медицина, 1998.
5. Биохимия. Учебник для вузов. Под ред. Е.С. Северина. М.: ГЕОТАР-МЕДИА, 2005.

Рекомендуемая литература (дополнительная)

1. Николаев Н.Я. Биологическая химия. М.: Высшая школа, 2004. (Учебник для медвузов).
2. Мари Р., Греннер Д., Мейес П, Родуэлл В. Биохимия человека. М.: Мир, 2004.
3. Биохимия. Краткий курс с упражнениями и заданиями. (Под редакцией Е.С. Северина, А.Я. Николаева). М.: ГЕОТАР-МЕДИА, 2005.

Дополнительная литература

- Кнорре Д.Г., Мызина С.Д. Биологическая химия. М.: Медицина, 1998.
- Сингер М., Берг П. Гены и геномы. М.: Мир, 1998. В 2 -ух томах.
- Уилсон Дж., Хант Т. Молекулярная биология клетки. Сборник задач. М.: Мир, 1994.