

28.072

МИНИСТЕРСТВО ВЫСШЕГО И СРЕДНЕГО СПЕЦИАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ БССР А 497

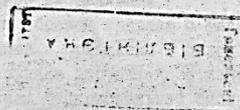
С.Ф. Алешко, Г.А. Савенок

**БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ**

(Белки. Нуклеиновые кислоты. Углеводы. Липиды)

Тексты лекций

Часть I



Гомель 1988

РЕПОЗИТОРИЙ

ОРИНАЛ

Рецензенты: А.И.Заболотный, ведущий научный сотрудник  
Института экспериментальной ботаники им. В.И.Купренича  
АН БССР, кандидат биологических наук; И.М.Миронович, доцент  
кафедры химии и физики Гомельского кооперативного инсти-  
тута, кандидат технических наук

В предлагаемом тексте лекций в краткой и доступной  
форме излагаются основные сведения о составе, строении и  
классификации важнейших биологических соединений - белков,  
нуклеиновых кислот, углеводов и липидов. Приводятся данные  
о нахождении их в живых тканях и биологической роли соедине-  
ний указанных классов у животных, растений и микроорганизмов.  
Текст предназначен студентам-биологам.

1803000000 - 017 3 - 88  
и 339 - 88

© Гомельский государственный  
университет (ГГУ), 1988

## В в е д е н и е

Биологическая химия - это наука, изучающая химический состав  
живой материи и те химические процессы, которые протекают в ор-  
ганизме в процессе его жизнедеятельности.

Биологическая химия разделяется на статическую, динамическую  
и функциональную.

Основная задача статической биохимии - изучение химического  
состава живых организмов, выделение из тканей и органов индиви-  
дуальных веществ, выяснение их химической структуры. Изучение  
биохимической статистики имеет исключительно важное значение, так  
как без знания химической структуры веществ невозможно было бы  
изучать их обмен в организме, заниматься синтезом целого ряда  
биологически активных соединений, целенаправленно воздейство-  
вать на биохимические процессы в организме.

Характерной чертой живых организмов является обмен веществ,  
который складывается из процессов ассимиляции, то есть образования  
сложных веществ за счет питательного материала, получаемого из  
окружающей среды, и одновременно протекающих процессов распада  
органических соединений или диссимиляции. Оба этих процесса со-  
вершаются одновременно и составляют две стороны единого процес-  
са обмена веществ. Изучение процессов обмена веществ тесно свя-  
зано с изучением химической природы продуктов, образующихся в  
организме, составляет предмет динамической биохимии. Обмен ве-  
ществ лежит в основе проявления самых разнообразных функций жи-  
вых существ, и поэтому биологическая химия закономерно является  
важнейшей биологической дисциплиной.

Биохимия теснейшим образом связана с физиологией, которая  
изучает функции органов и организма в целом. Тесная связь био-  
химии и физиологии создала определенное направление в биохимии,  
известное под названием функциональной биохимии. Задачей функ-  
циональной биохимии является изучение химических закономерно-  
стей обмена веществ, которые протекают при функционировании от-  
дельных органов и организма в целом.

Наряду с физиологией биохимия самым тесным образом связана с  
развитием химии, физики, молекулярной биологии, генетики, мик-  
робиологии, биотехнологии и других наук.

Изучение химических процессов, происходящих в живом организ-  
ме, имеет большое значение для решения важнейших вопросов био-

лоти, медицины, сельского хозяйства и ряда отраслей промышленности. Данные биохимии широко используются в медицинской практике для установления причины и успешного лечения целого ряда заболеваний, для выяснения действия на организм отравляющих и других вредных веществ, для решения проблемы рационального питания. Биохимия имеет большое значение для решения многих вопросов в области физиологии и гигиены труда, физической культуры и спорта. Кроме того, биохимия играет огромную роль во многих отраслях промышленности, особенно пищевой. Биохимические процессы используются при хлебопечении, приготовлении вин, спирта, сыров, при производстве чая, различных кисло-молочных продуктов.

Методологической основой (эпистемологической химии (как и других естественных наук) является диалектический материализм. На диалектико-материалистической основе советским биохимиком А.И. Опариным разработана теория происхождения жизни на Земле, которая пользуется широким признанием не только в Советском Союзе, но и в других странах.

Большой вклад в развитие биохимии внесли выдающиеся естествоиспытатели нашей Родины: Д.И. Менделеев, А.М. Бутлеров, И.И. Мечников, И.М. Сеченов, И.П. Павлов, К.А. Тимирязев и другие. Значительную роль в развитии биохимии сыграли новаторские работы А.Я. Данилевского, посвященные изучению природы и выяснению структуры белков. Ученым была создана первая в России кафедра биохимии в Казанском университете.

В совместном труде И.П. Павлов и М.Б. Немцкой выяснили вопрос о превращении аммиака в организме и о роли печени в синтезе мочевины. Исследования А.Н. Баха и В.П. Палладина дали возможность выяснить и понять один из основных процессов жизнедеятельности - процесс окисления, в результате которого в организме освобождается энергия. Развитию биохимии растений связано с именем К.А. Тимирязева, которого по праву считают отцом растительной биохимии. Большую роль в развитии современной биологической химии сыграли работы отечественных исследователей Н.И. Лунина, В.А. Энгельгардта, А.Б. Дрябинштейна, А.Н. Белозерского, Д.Л. Фермана и других. Неопечный вклад в биохимическую науку внесли и зарубежные ученые: Э. Фшер, Э. Абдергальден, Г. Корана, С. Очоа, О. Варбург, Д. Нортроп, Дж. Самнер, Ф. Сангер и другие.

#### Химический состав организма

Химический состав животных и растительных тканей сложен. Его изучение началось уже в XVII-XVIII веках. Несовершенство (с точки зрения современной науки) исследования того времени все же имели большое теоретическое и практическое значение, так как показывали возможность познания и изучения веществ, которые входят в состав органов и тканей живых организмов.

В XIX веке в тканях были обнаружены белки, жиры, углеводы и целый ряд веществ более простого химического строения - альдегиды, аминокислоты, жирные кислоты, циклические соединения и др.

Несколько позже в составе тканей были обнаружены ферменты, гормоны, витамины и другие соединения, обладающие высокой физиологической активностью и играющие важную роль в обмене веществ.

Благодаря высокочувствительным методам исследования (рентгеноструктурный анализ, спектроскопия и др.) в животных и растительных тканях обнаружено около шестидесяти химических элементов. Часть из них - азот, водород и кислород - присутствуют в организме в относительно больших количествах и являются структурным материалом для построения белков, жиров, углеводов и ряда других биологически активных веществ. Кроме того, довольно высоким в живых тканях является содержание натрия, калия, кальция, магния, фосфора, серы, хлора и других элементов. Все они носят название макроэлементов. Те же элементы, которые присутствуют в организме в незначительных количествах, называют микроэлементами. К ним относят железо, йод, цинк, медь, селен, молибден, марганец и некоторые другие элементы. В состав живого вещества входят и радиоактивные элементы - рубидий, уран, радий и другие. Все химические элементы находятся в организме в виде разнообразных неорганических и органических соединений различной степени сложности. Некоторые элементы преимущественно концентрируются в определенных тканях: например, железо - в крови человека и высших животных; йод - в щитовидной железе; медь - в печени; фтор - в костной и зубной тканях и т.д.

Более половины массы тела живых организмов составляет вода. Частично она находится в тканях в свободном состоянии. Однако основная масса ее входит в состав коллоидных растворов организма и носит название связанной. Вода является средой, которая обеспечивает протекание почти всех биохимических реакций.

**Белки: химическая структура, физико-химические и биологические свойства**

Из органических веществ, входящих в состав живых организмов, наиболее важными в биологическом отношении и наиболее сложными по своей химической структуре являются белки. Белки составляют основу протоплазмы, и с ними мы встречаемся всюду, где имеет место проявление жизни. Это дало основание Ф.Энгельсу сказать, что "жизнь - это способ существования белковых тел, существенным моментом которого является постоянный обмен с окружающей средой." Дальнейшее развитие биологической химии блестяще подтвердило это высказывание. Исключительно важная роль белков в живых организмах отмечалась уже в прошлом столетии. В 1838 г. Мульдер предложил для них название протеины ("протос" - древнегречески - гравейший). Название же "белки" возникло впервые в связи с обнаружением в тканях животных и растений веществ, похожих по некоторым своим признакам на яичный белок. В настоящее время оба названия (белки и протеины) удерживаются в науке, хотя ни одно из них не выражает роли белковых веществ в проявлении жизни.

Биологическая роль белков настолько велика, что биохимия прежде всего является биологической химией белковых веществ.

Основная функция белков в организме - это пластическая, т.е. белки в первую очередь используются для построения органов и тканей животных и человека. У растений пластическую функцию выполняют углеводы, но и там в каждой клетке мы встречаем белок.

Белки являются также материалом для построения ферментов, некоторых гормонов, участвуют в образовании антител и выработке иммунитета, способствуют передвижению животных и человека в пространстве посредством механизма мышечных сокращений. Сложные белки нуклеопротеиды участвуют в процессах роста и размножения растительных и животных организмов.

Белки могут использоваться и как энергетический материал (при полном окислении 1 грамма белка выделяется 16,9 кДж энергии), однако животные и растения используют белки для энергетических целей очень экономно.

По своему элементарному составу белки характеризуются наличием в них наряду с углеродом, кислородом и водородом азота, серы и часто фосфора. Процентное содержание отдельных элементов

в белковых веществах следующее: углерод - 50,6 - 54,5; кислород - 21,5-23,5; водород - 6,5- 7,3; азот - 15- 17,6; сера - 0,3- 2,5%. Обычно среднее содержание азота в белке принимает равным 16 %.

Белки являются высокомолекулярными азотсодержащими органическими соединениями. В клетках они находятся преимущественно в коллоидном состоянии.

Молекулярную массу белков устанавливают различными методами (по осмотическому давлению, путем ультрацентрифугирования, рентгеноструктурным анализом и другими методами). Все эти методы показывают, что молекулярная масса белков колеблется от десятка тысяч до миллиона и больше. Например, яичный альбумин имеет молекулярную массу 44 000, химотрипсин - 41 000, гемоглобин эритроцитов - 70 000, а каталаза - 225 000.

По форме частиц белки разделяются на глобулярные и фибриллярные. Глобулярные белки имеют округлую форму и встречаются в сыворотке крови, слюлке, пищеварительных соках. Фибриллярные белки имеют форму тончайших нитей. Они присутствуют в сухожилиях, коже, мышцах, волосах, рогах. Между фибриллярными и глобулярными белками существуют различные переходные формы.

Белки способны коагулировать или денатурировать, т.е. необратимо переходить в нерастворимое состояние под действием минеральных и некоторых органических кислот, спирта, алкалоидных реактивов, солей тяжелых металлов. Соли легких металлов, таких как, например, насыщенный раствор сернистого аммония, высаливают белки. Этот процесс обратимый. Белки также дают цветные реакции, которые обусловлены наличием отдельных группировок атомов или отдельных аминокислот в белке.

При нагревании белков в присутствии кислот или щелочей получаются конечные продукты гидролиза - аминокислоты. Аминокислоты - это соединения, производные карбоновых кислот, которые содержат одновременно аминную и карбоксильные группы. Они являются структурными компонентами белковой молекулы. Образно выражаясь, аминокислоты - это тот структурный материал, те кирпичики, из которых построено величественное здание белковой молекулы.

Все выделенные из белковых гидролизатов аминокислоты могут быть разделены на две группы:

- а) алифатические - аминокислоты жирного ряда;

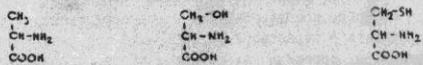
б) циклические - аминокислоты ароматического ряда.

По количеству в молекулах аминокислот amino- и карбоксильных групп они разделяются на:

- 1) моноаминомонокислоты - в молекуле каждой из них имеется одна amino- и одна карбоксильная группы;
- 2) моноаминодикарбоновые кислоты - содержат одну amino- и две карбоксильные группы;
- 3) диаминомонокислоты - содержат две amino- и одну карбоксильную группу.

Первым представителем моноаминомонокислот является аминокислота, глицил или гликокол  $H_2N-CH_2-COOH$ . Глицин обладает сладким вкусом, эта аминокислота не содержит асимметричного углеродного атома, поэтому не обладает оптической активностью. Аминокислота широко распространена в растительных белках. Она входит в состав альбуминов, гликохолевой (желчной) кислоты, глутамина, участвует в образовании креатина и других процессах.

Производными пропионовой кислоты являются аланин, серин и цистеин.



аланин	серин	цистеин
α-аминопропионовая кислота	α-амино-β-окси-пропионовая кислота	α-амино-β-тиопропионовая кислота

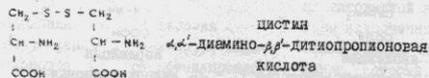
Начиная с аланина, все известные аминокислоты содержат асимметрический углеродный атом и являются оптически активными.

Аланин является обычной составной частью белков. Две последние аминокислоты интересны тем, что они, помимо amino- и карбоксильной групп, содержат другие функциональные группы: серин - гидроксильную группу, а цистеин - сульфгидрильную. Серин входит в состав всех белков как растительного, так и животного происхождения. Много серина находится в белке молока - казеине.

Сульфгидрильные группы, которые встречаются в цистеине играют важную биологическую роль в ферментативных процессах, в возбудимости клеток и тканей. Установлено, что многие отравляющие вещества, а также релакция при действии на живой организм в первую

очередь блокируют сульфгидрильные группы.

Цистеин легко отщепляет при определенных условиях водород, и тогда две молекулы цистеина образуют новую аминокислоту - цистин, единственный представитель диаминомонокислот:



Группа атомов -S-S- называется дисульфидным мостиком.

К производным масляной кислоты относятся метионин и треонин.



метионин	треонин
----------	---------

α-амино-β-метилтио-масляная кислота	α-амино-β-окси-масляная кислота
-------------------------------------	---------------------------------

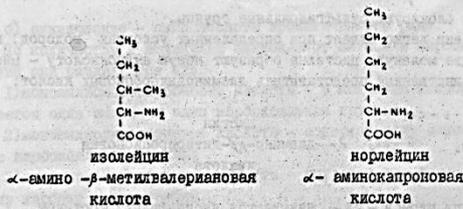
В метионине имеется полезная метильная группа, которая является фактором, предупреждающим патологическое ожирение печени. Особенно много метионина находится в белке молока казеине, поэтому исключительно полезным для организма является творог.

Все серусодержащие аминокислоты входят в состав белков, которые находятся в значительных количествах в рогах, копытах, шерсти, ногтях и других роговых образованиях.

К производным валериановой кислоты относят валин, а капроновой - лейцин, изолейцин и норлейцин.



валин	лейцин
α-аминоизовалериановая кислота	α-аминоизокапроновая кислота



Моноаминомонокарбоновые кислоты в водном растворе проявляют нейтральную реакцию, так как имеют одинаковые количества карбоксильных групп, которые определяют кислые свойства, и аминогрупп, обуславливающих основные свойства.

К моноаминодикарбоновым кислотам относятся аспарагиновая и глутаминовая кислоты. В водной среде эти аминокислоты проявляют кислые свойства, так как у них преобладают карбоксильные группы. Эти аминокислоты принимают участие в нейтрализации аммиака в организме, а также играют важную роль в процессах переаминирования.

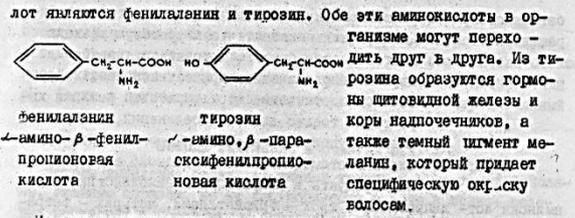
К кислотам, которые содержат две амино- и одну карбоксильную группы, относятся аргинин и лизин:



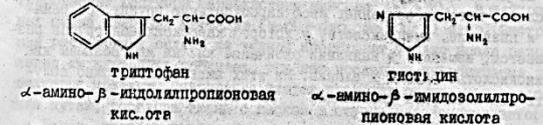
Аргинин играет важную роль в организме. При участии аргинина образуется креатинин и мочевины. Водные растворы дивалентных карбоновых кислот имеют основную реакцию.

Циклические аминокислоты имеют в своей структуре кольцо. Они подразделяются на гомоциклические, у которых замкнутое кольцо образовано только атомами углерода, и гетероциклические, у которых в кольцо кроме атомов углерода входят также атомы других элементов. Важнейшим представителем гомоциклических аминокислот являются пролин и оксипролин.

10

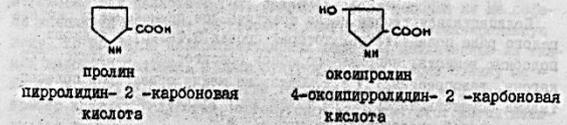


Из гетероциклических аминокислот наиболее важными в биологическом отношении являются триптофан и гистидин:



Триптофан используется в организме для синтеза некоторых витаминов, при его гниении образуются ядовитые продукты. Из гистидина образуется биологически активное вещество гистамин, которое называют медиатором боли.

В состав белков входят также две аминокислоты, содержащие иминогруппу - это пролин и оксипролин:



Каким же образом отдельные аминокислоты соединяются между собой в молекулы белка? Согласно общепринятой полипептидной теории строения белковых веществ, связь между отдельными аминокислотами осуществляется посредством соединения аминогруппы одной аминокислоты с карбоксильной группой другой. Авторами этой теории являются наш отечественный ученый А.Н.Данилевский и немецкий биохимик Э. Фишер. Еще ранее было известно, что белки дают биуретовую реакцию (при добавлении к раствору белка щелочи и раз-

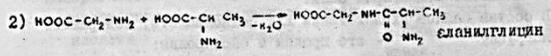
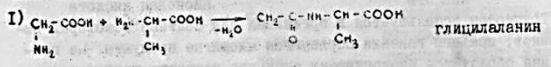
11

бавленного раствора медного купороса появляется фиолетовое окрашивание). А.Л. Данилевский показал, что биуретовую реакцию



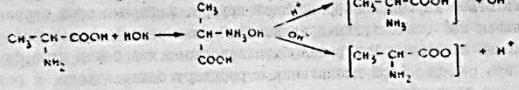
**мочевина**

аминокислот - дипептидами, трех - трипептидами, четырех - тетрапептидами, многих аминокислот - полипептидами. Пептиды называются по названию образовавших их аминокислот. При этом та аминокислота, которая сохраняет свою карбоксильную группу, сохраняет и название, аминокислота, у которой карбоксильная группа разрушается, изменяет в названии окончание  $\text{NH}_2$  на  $\text{NH}$ . Возьмем две аминокислоты: глицин и аланин. Из этих аминокислот можно получить два изомерных дипептида:



Полипептидная теория нашла практическое применение в синтезе целого ряда полипептидов, который провел Э.Фишер, и белково-подобных веществ, например гормонов (окситоцина, инсулина, глюкагона, вазопрессина) и т.д. Связь же между отдельными полипептидами осуществляется посредством дисульфидных мостиков, водородных связей, карбоксильных групп и т.д.

Белки являются амфотерными электролитами, в кислой среде они диссоциируют как основания, а в щелочной - как кислоты. Это обусловлено амфотерными свойствами составляющих их аминокислот:



В изоэлектрической точке белки практически не диссоциируют. Изоэлектрическая точка - это величина pH, при которой электролит не передвигается в электрическом поле. Для большинства белков изоэлектрическая точка находится в области слабосильных значений pH. Белки в организме в большинстве случаев имеют отрицательный заряд.

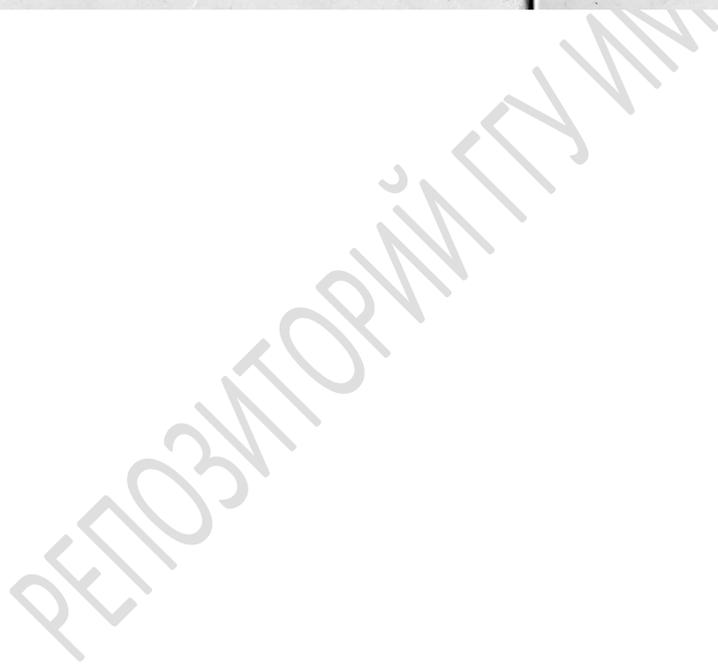
**Методы выделения и очистки белков**

Методы выделения белков из тканей животных и растений основаны, главным образом, на их растворимости в воде и водно-солевых растворах с последующим осаждением водостнимающими (дегидратирующими) средствами - такими как спирт, ацетон, концентрированные растворы сернокислого аммония  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  и нейтральных солей щелочных металлов  $(\text{NaCl}, \text{K}_2\text{SO}_4, \text{MgSO}_4)$  и др. Экстракция растворимых белков из тканей происходит только после разрушения их клеточных оболочек, так как последние непроницаемы для белковых молекул. Разрушение клеток проводят обычно механическим путем, растирая ткань с песком в ступке или гомогенизаторе.

Белки, подобно многим высокомолекулярным веществам, растворяясь в воде, образуют коллоидные растворы. Вследствие своего исключительно большого размера молекулы почти неспособны проникать через поры животных и растительных мембран, в то время как молекулы низкомолекулярных веществ свободно проходят через такие мембраны. В качестве мембран используют обычно коллоиды, пергамент или целлофан. Так, например, если мешочек из целлофана наполнить белковым раствором и поместить в дистиллированную воду, то молекулы низкомолекулярных веществ, извлеченные из ткани вместе с белками, и соли будут проходить через стенку мешочка в воду, а белки и другие высокомолекулярные вещества, например крахмал, гликоген, останутся в мешочке. Этот метод называется диализом.

**Фракционирование белковых смесей**

Одним из распространенных методов разделения белковых смесей является высаливание. Метод основан на том, что каждый ионный белок разделяемой смеси осаждается из нее при определенной концентрации той или иной соли, в то время как другие белки при данной концентрации соли остаются в растворе. При дальнейшем насыщении солью выпадает следующий белок и, таким образом,



последовательно наращивая содержание соли в реакционной среде, можно выделить относительно чистые индивидуальные белки.

Для фракционирования белков используют также метод электрофореза, основанный на способности белков, несущих электрический заряд, перемещаться в постоянном электрическом поле. Скорость, а также характер передвижения белковых молекул определенного вида зависят от величины электрического заряда, молекулярной массы, формы белковых частиц, ионной силы, pH, состава буферных растворов, а также величины приложенных потенциалов. Сочетание перечисленных факторов всегда специфично для каждого индивидуального белка и вполне естественно, что разные белки обладают различной электрофоретической подвижностью. В качестве поддерживающей среды может использоваться бумага, обработанная специальным образом, агар, агароза, крахмал. Особенно перспективным для разделения сложных многокомпонентных смесей оказался метод электрофореза в полиакриламидном геле, где наряду с вышеперечисленными факторами, такими как величина заряда белка, размер частиц, pH среды используется также эффект молекулярного сита.

Для разделения биологических смесей широко используется метод хроматографии на бумаге, основанный на различиях в коэффициентах распределения аминокислот между органической и водной фазами. Хроматография на бумаге с использованием какой-нибудь одной системы растворителей обычно не дает возможности осуществить полное разделение всех аминокислот. Значительно большей разрешающей способностью обладает метод двумерной хроматографии. При этом после разделения в одном направлении (с использованием определенной системы растворителей) хроматограмму поворачивают на 90 градусов и продолжают разделение в другом направлении с помощью системы новых растворителей.

Наиболее эффективным оказался метод разделения белковых смесей при пропускании их через хроматографическую колонку, заполненную адсорбентом. В качестве адсорбентов применяют различные вещества: крахмал, целлюлозу и её производные, силикагель и другие. В том случае, если для хроматографии используются ионообменные смолы, хроматография называется ионообменной.

Для разделения белков используют также метод молекулярных сит или метод гельфильтрации на сефадексах. Принцип этого мето-

да основан на способности низкомолекулярных веществ проникать внутрь частиц наполнителя, в то время как крупные частицы высокомолекулярных соединений проходят мимо частиц геля. В гель-фильтрации широко применяются различные сефадексы - продукты обработки эпихлоргидрином полисахарида декстрана. Сефадексы отличаются сетчатой структурой, прекрасно набухают и используются в качестве молекулярных сит.

#### Молекулярная масса белков

Молекулярные массы белков выражаются величинами, измеряемыми десятками и сотнями тысяч единиц. Для определения молекулярных масс белков разработаны специфические методы. Наиболее распространенный из них метод ультрацентрифугирования, предложенный шведским ученым Сведбергом. При помощи ультрацентрифуги можно создать центробежное ускорение, в 250 000 раз превышающее ускорение земного притяжения. Исследуемый раствор белка помещают в небольшую прозрачную для световых лучей ячейку, которая помещается в специальное гнездо ротора. Измеряя скорость оседания - седиментации - белковых молекул при вращении ротора ультрацентрифуги при помощи специальной фотоприставки или время, необходимое для достижения седиментационного равновесия, по специальным формулам рассчитывают молекулярную массу белка.

Существуют и другие методы определения молекулярных масс белков: по осмотическому давлению белковых растворов, по светорассеянию, по вязкости, по данным рентгеноструктурного анализа и электронной микроскопии. Если данные, полученные в результате применения различных методов, сходны, среднюю величину из них и считают истинной молекулярной массой белка.

#### Форма белковых молекул

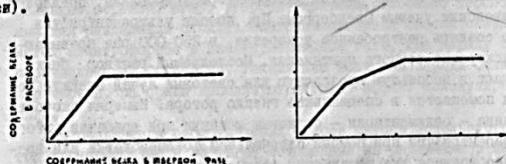
О форме белковых молекул можно судить, например, на основании математической обработки данных, полученных при ультрацентрифугировании белковых растворов. Кроме того, форма белковых частиц может быть установлена при непосредственном наблюдении в электронном микроскопе.

#### Критерии чистоты белка

Существует ряд критериев для определения чистоты белковых препаратов.

**Кристалличность.** Хотя получение какого-либо белка в кристаллическом виде всегда большая удача, считать кристаллизацию достоянным критерием чистоты не представляется возможным, так как многие белки, являясь гетерогенными, кристаллизуются совместно.

**Кривые растворимости.** Одним из наиболее важных и надежных критериев чистоты белка является метод построения кривых растворимости. Белок признают гомогенным, если его растворимость не зависит от количества белка в твердой фазе. Это легко обнаруживается графически при исследовании растворимости белка. Если каждая вновь добавленная порция белка с какого-то момента (точки насыщения) не увеличивает количества белка в растворе, белок считается гомогенным. Если же кривая растворимости дает два или несколько перегибов, то белок гетероген (содержит примеси).



А - чистый белок

Б - продажный препарат

**Исследование в ультрацентрифуге.** При ультрацентрифугировании чистого белка оптически обнаруживается острый, тонко очерченный пик. Примеси обнаруживаются по появлению дополнительных пиков, "плеч" на главном пике, по оси метрии главного пика или по увеличению ширины пиков.

**Электрофоретическое исследование.** Хорошим критерием чистоты белка является вид электрофореграмм, полученных при разных значениях pH. При электрофорезе чистого белка проявляется одна фракция. В случае смеси белков на электрофореграмме обнаруживается несколько фракций.

**Определение молекулярной массы.** Оценить чистоту белкового препарата можно, сравнивая результаты нескольких независимых определений молекулярной массы, выполненных с помощью разных методов (гель-фильтрация, измерения осмотического давления растворов, ультрацентрифугирования, рентгеноструктурного анализа,

электрофореза и других).

**Функциональные тесты.** Небольшое количество примесей можно обнаружить, если эти примеси обладают какой-либо специфической биологической активностью (ферментативной или гормональной).

Необходимо отметить, что ни один из рассмотренных выше критериев сам по себе не дает возможности однозначно установить гомогенность белкового препарата. Во всех случаях необходимо использовать несколько различных методов определения чистоты белка.

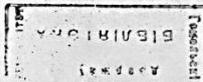
#### Классификация белков. Характеристика отдельных групп простых и сложных белков

В основе классификации белков лежат их химические и физические свойства, а также биологическая роль, которую они выполняют в организме.

Все белковые вещества разделяются на две большие группы: простые белки или протеины и сложные - протеиды. Простые белки при гидролизе образуют только аминокислоты, сложные, кроме аминокислот, дают еще вещества небелкового характера (простетические группы). Следует отметить, что существующее деление белков не дает нам истинного представления об их разнообразии и, кроме того, не охватывает все известные белки.

Простые белки разделяются на альбумины и глобулины, протеины и гистоны, пролаины и глутелины, протеиноиды. Из последних наиболее важными являются кератин, коллаген, эластин.

Альбумины - наиболее распространенные простые белки. Они найдены в крови, спинномозговой жидкости, а также в клетках всех животных, растений и микроорганизмов. Хорошо растворимы в воде, отличаются от глобулинов незначительным содержанием глицина, содержат относительно много серусодержащих аминокислот. Сернистый аммоний осаждает альбумины при 100% насыщении. Альбумины сыворотки обнаруживают в своем составе до 19 наиболее важных аминокислот. Они отличаются видовой специфичностью. В зависимости от продукта, из которого они получены, альбумины имеют соответствующее название: альбумины яичного белка - овалбумины, сыворотки молока - лактальбумины и т.д. Альбумины находятся в более мелкодисперсном состоянии, чем глобулины, их молекулярная масса колеблется от 35 000 до 70 000, поэтому при электрофорезе



РЕПОЗИТОРИЙ ГГУ ИМ. П. П. СМЫСЛОВСКОГО

сывороточных белков альбумины продвигаются в постоянном электрическом поле на большее расстояние, чем глобулины. Альбумины легко вступают в связь с различными веществами с образованием комплексов. Изоэлектрическая точка лежит в пределах значений рН 4,6- 4,7.

Глобулины почти всегда встречаются вместе с альбуминами. Они практически нерастворимы в воде, но легко растворяются в солевых растворах слабой концентрации, чем и пользуются для отделения их от альбуминов. Глобулины содержат в своем составе от 14 до 17 аминокислот. В отличие от альбуминов, в глобулинах всегда больше глицина. Глобулины гете; эгенины, они находятся в более грубодисперсном состоянии, чем альбумины. Методом электрофореза их можно разделить в зависимости от носителя на 4- 25 фракций, основные из них - альфа-, бета- и гамма-глобулины. Молекулярная масса гамма-глобулинов колеблется от 90 000 до 150 000 и более. Изоэлектрическая точка различных глобулинов лежит в пределах рН от 5,0 до 7,5.

Гистоны широко распространены в природе в составе сложных белков, главным образом, в ядерных белках. У высших животных и человека в свободном состоянии не встречаются. В их составе преобладают остатки диметиламинокарбоновых кислот ( аргинина и лизина) и циклической аминокислоты гистидина. Гистоны содержат очень мало триптофана и серусодержащих аминокислот. Благодаря содержанию значительного количества диметиламинокарбоновых кислот эти белки имеют резко основной характер. Представителем гистонов является белок глобин, который входит в состав гемоглобина. Гистоны встречаются также в значительных количествах в белках эритроцитов и эосиной железы. Молекулярная масса всех гистонов не превышает 15 000.

Протеины - группа белков, отличающихся особенно высоким содержанием диметиламинокарбоновых кислот (до 80 %). Поэтому у них еще более ярко выражены основные свойства по сравнению с гистонами. У высших животных и человека в свободном виде не встречаются. Молекулярная масса их колеблется от 2 000 до 10 000. Протеины не содержат серы. Высоким содержанием протеинов отличаются сперма и икра рыб, а также ткани, богатые клетками с ядрами. Протеины и гистоны составляют белковую часть нуклеопротеидов, поэтому представляют значительный биологический интерес.

Проламинны и глителлины - группа белков растительного происхождения, встречаются в значительных количествах в семенах злаков. Проламинны хорошо растворяются в 60-80 % этиловом спирте (другие белки под влиянием спирта денатурируют и выпадают в осадок). Проламинны слабо растворяются в воде. Содержат значительное количество аминокислот: пролина (отсюда и получили своё название) и глутаминовой кислоты. Проламинны почти не содержат лизина. К проламинам относятся глиадин пшеницы, гордеин ячменя, зеин кукурузы и т.д.

Глителлины также являются белками растительного происхождения и встречаются обычно совместно с проламином в семенах злаков, образуя вязкую массу клейковины. Глителлины растворимы только в щелочах, содержат значительное количество глутаминовой кислоты. К глителлинам относятся орзенин ржи и глителлин пшеницы.

Среди протеиноидов наиболее распространенными являются кератинны. Это белковподобные вещества, которые находятся главным образом в составе волос, копыт, ногтей, рогов. Кератинны нерастворимы в воде, кислых, щелочных, солевых растворах и органических растворителях. В пищеварительном тракте животных и человека нет ферментов, расщепляющих кератин. Кератин имеет большую молекулярную массу, достигающую 2 000 000, содержит значительные количества цистеина, лейцина и глутаминовой кислоты.

Коллагены - это белки соединительной ткани. Они входят в состав сухожилий, связок, хрящей и т.д. Нерастворимы в воде, но очень легко набухают с образованием студней. Коллагены содержат значительное количество глицина. Молекулярная масса коллагенов достигает 350 000.

Эластины находятся в эластических волокнах и составляют основную связку и сухожилий. Они нерастворимы в воде и не способны к набуханию. Содержат значительное количество глицина и лейцина.

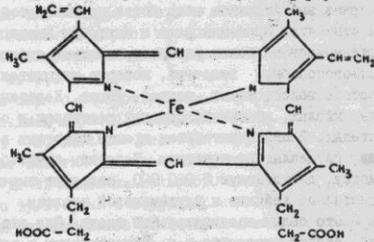
Сложные белки или протеиды при гидролизе наряду с аминокислотами дают еще вещества небелкового характера - простетические группы. Под простетическими группами обычно понимают органические соединения, которые входят в состав сложных белков и придают белку ряд новых химических, физико-химических и биологических свойств.

Классификация сложных белков базируется на химических особенностях их небелковых компонентов. Исходя из этого они разделя-

итс: на хромопротеиды, фосфопротеиды, гликопротеиды, липопротеиды, нуклеопротеиды.

Хромопротеиды - это сложные белки, в состав которых входят окрашенные простетические группы. Наиболее важными представителями хромопротеидов являются гемоглобин, миоглобин, гемоглобинин и флавиновые ферменты.

Гемоглобин состоит из белка глобина и простетической группы - гема (производного протопорфирина). Гем у разных животных и человека имеет одинаковую структуру, а белок глобин в каждом случае имеет специфическое, присущее только ему строение. Глобин содержит 4 полипептидные цепи, первичная структура которых установлена. Строение гема было выяснено работами М.В. Ненцкого и Г. Фишера. Оно выражается следующей формулой:



Гем представляет собой соединение, в молекулу которого входит атом двухвалентного железа и 4 пиррольных кольца, соединенных метиновыми группами. Скелетом молекулы гема является порфин. В геме порфин находится в форме протопорфирина, представляющего собой порфин, в молекулу которого введены 2 винильные группы, 4 метильные и 2 остатка пропионовой кислоты. Протопорфин, связанный с двухвалентным железом, и является гемом.

Основная роль гемоглобина - перенос кислорода от легких к тканям и освобождение тканей от избытка углекислоты. Гемоглобин крови высших животных и человека сосредоточен в эритроцитах. При обработке гемоглобина концентрированной уксусной кислотой в присутствии хлористого натрия образуется солиноксиль гемин в виде кристаллов ромбовидной формы. Эта реакция является од-

ной из важнейших качественных реакций на кровь. Молекулярная масса гемоглобина колеблется в пределах 65-68 тысяч.

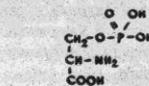
С кислородом воздуха гемоглобин образует нестойкое соединение - оксигемоглобин ( $HbO_2$ ), железо в этом соединении двухвалентно. При действии на гемоглобин некоторых окислителей и ядов образуется стойкое соединение метгемоглобин, содержащий трехвалентное железо. К гемоглобину легко присоединяется окись углерода (угарный газ) с образованием карбоксигемоглобина. Образовавшееся прочное соединение вытесняет кислород с оксигемоглобина и нарушает процесс доставки кислорода от легких к тканям.

В мышечной ткани содержится белок миоглобин, близкий по структуре к гемоглобину, но отличающийся от последнего строением белкового компонента. Миоглобин рассматривают как дыхательный пигмент, обеспечивающий в мышцах кратковременный резерв кислорода, используемый мышечными волокнами. Особенно важна роль миоглобина в жизни водных животных.

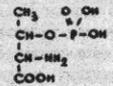
Гемоглобинин - белок, который по структуре напоминает гемоглобин, но вместо железа содержит медь. Имеется у ракообразных и моллюсков. Присутствие меди обуславливает окрашивание крови в голубой цвет.

К флавопротеидам относятся белки, окрашенные в желтый цвет. Содержат в качестве простетической группы флавинадениннуклеотиды. Выполняют роль окислительных ферментов.

Фосфопротеиды содержат относительно много фосфорной кислоты, которая освобождается при гидролизе наряду с аминокислотами. Важнейшими представителями этой группы белков являются казеиноген молока, овоальбумин - белок, выделенный из яиц, иктулин - белок, полученный из рыбьей икры, и некоторые другие. К фосфопротеидам относятся также некоторые ферменты (фосфогликомутаза, пепсин, фосфоорилаза и другие). В составе фосфопротеидов в значительном количестве обнаружена сернистая кислота, а также фосфорные эфиры других оксисамонийкислот.



сернистая кислота

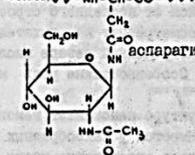


теллурическая кислота

Говоря о физиологической роли фосфопротеидов, необходимо отметить, что в тканях они активно превращаются, интенсивно отщепляя и присоединяя к себе снова фосфорную кислоту. Фосфопротеиды являются питательным материалом для растущих организмов и являются источником фосфорной кислоты.

• К гликопротеидам относятся сложные белки, имеющие в своем составе кроме аминокислот, глицеролы и производные углеводов: глицероновою кислоту, гексозамины, нейрминовую кислоту. Кроме того в состав этих белков входят остатки серной и уксусной кислот и других соединений. Ковалентная связь между белковой и

белок  $\sim\sim\sim\text{NH}-\text{CH}-\text{CO}\sim\sim\sim$



N-ацетилглюкозамин

углеродной частями гликопротеидов образуется с помощью различных группировок. Например, очень распространен гликозиламинный тип связи между N-ацетилгексозамином и β-амидным азотом аспарагина. Гликопротеидами являются также важные в физиологическом отношении белки как трансферрин и церулоплазмин крови, рибонуклеаза, хлоридстераза, гонадотропный и фолликулостимулирующие гормоны и другие.

У некоторых гликопротеидов углеводная часть прочно связана с белковым компонентом и легко от него отщепляется. Простетические группы некоторых гликопротеидов, известные под общим названием мукополисахаридов, встречаются в тканях и в свободном виде. Главнейшими мукополисахаридами являются гиалуроновая и хондротинсерная кислоты. Гликопротеины, в состав которых входят мукополисахариды, получили название мукопротеидов. Наиболее важными представителями мукопротеидов являются муцины и мукоиды. Вязкость слюны зависит от наличия в ней муцина. Муцины, обволакивая и ослизняя пищевую ком, способствуют лучшему продвижению его по пищеводу в желудок. Он также предохраняет слизистую оболочку рта от механических повреждений и раздражения химическими веществами, а стенки желудка и кишечника от воздействия протеолитических ферментов. Мукоиды обнаружены в связках и сухожилиях, хрящевой и костной тканях.

Липопротеиды — это комплексные соединения, состоящие из белков и липидов (холестеридов, фосфатидов, нейтральных жиров).

В отличие от липидов липопротеиды растворимы в воде и нерастворимы в органических растворителях. Липопротеиды широко распространены в животных и растительных тканях. Они входят в состав клеточной мембраны, внутриклеточных мембран ядра, митохондрий, микросом. Особенно много липопротеидов в нервной ткани. К липопротеидам относятся также липовителлин желтка куриного яйца, тромбопластический белок тканей легких, фосфолипиды молока, белок-липидные комплексы плазмы крови и другие.

• Нуклеопротеиды впервые открыты в ядрах клеток ("нуклеус" — ядро), откуда и получили свое название. Как и другие сложные белки они состоят из простого белка (протамины и гистоны) и протетической группы. Кроме протаминов и гистонов в состав нуклеопротеидов могут входить в небольшом количестве альбумины и глобулины. Протетической группой нуклеопротеидов являются нуклеиновые кислоты или полинуклеотиды.

#### Нуклеиновые кислоты: строение, свойства, биологические функции

Нуклеиновые кислоты — это высокомолекулярные органические соединения, которые при гидролизе распадаются на пуриновые и пиримидиновые основания, пентозу и фосфорную кислоту. Говоря об элементарном составе, необходимо отметить, что в их состав входят фосфор — 8-10%, азот — 15-16%, а также углерод, кислород и водород.

В настоящее время установлено, что нуклеопротеиды являются не только структурными элементами клетки, но и играют важную биологическую роль. Такие процессы как биосинтез белков, хранение и передача наследственной информации, разнообразные ферментные функции тесно связаны с нуклеопротеидами и нуклеиновыми кислотами. Нуклеиновые кислоты впервые были получены в свободном от белка состоянии в конце прошлого века из животных тканей и дрожжей, а в 1936 г. А.Н. Белозерским и сотрудниками — из растительного материала.

#### Выделение нуклеиновых кислот

Большая часть нуклеиновых кислот в растительных, животных и бактериальных клетках находится в соединении с белками. Чтобы разорвать связь между нуклеиновой кислотой и белком, материал чаще всего обрабатывают 10% раствором NaOH при нагревании на

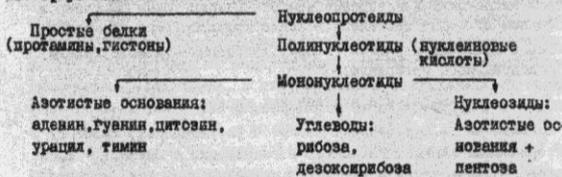
водной бане в течение часа. Одновременно осуществляется извлечение нуклеиновых кислот. После удаления твердого остатка нуклеиновые кислоты осаждают из охлажденного до 0°C раствора этианолом или трихлоруксусной кислотой. Осадок нуклеиновых кислот отделяют центрифугированием, тщательно промывают и высушивают.

Нуклеиновые кислоты можно получить и с помощью так называемой фенольной депротенизации. Для этого измельченную в гомогенизаторе при охлаждении ткань заливают водонасыщенным раствором фенола, энергично встряхивают смесь в течение часа, а затем подвергают её центрифугированию. При этом содержимое центрифужной пробирки разделяется на четыре четко ограниченных друг от друга слоев по консистенции и цвету слоев. В верхнем водном и подстилающем его вязком слое белого цвета сосредоточена основная масса нуклеиновых кислот. В третьем (желеобразном) желтоватого цвета слое находится фенол с растворенными в нем белками. Четвертый (самый нижний) слой коричневого цвета содержит остатки ткани, денатурированные белки и ничтожную примесь нуклеиновых кислот.

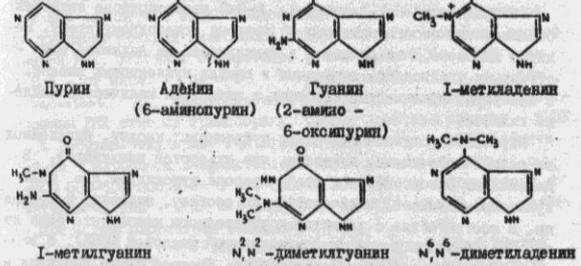
#### Химический состав нуклеотидов

Для выделения отдельных компонентов нуклеиновых кислот чаще всего пользуются хлорной кислотой (HClO<sub>4</sub>). Другие кислоты (например, соляная) вызывают резкую деструкцию нуклеиновых кислот с выделением аммиака.

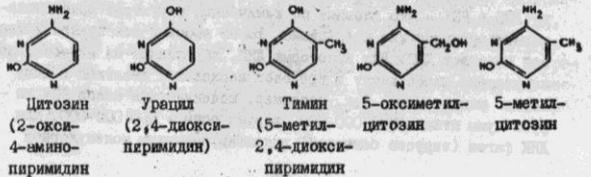
При нагревании нуклеиновых кислот с хлорной кислотой получают пуриновые и пиримидиновые основания, углеводы и фосфорная кислота - продукты полного расщепления. При осторожном воздействии на нуклеиновые кислоты получают продукты неполного гидролиза - нуклеозиды (азотистое основание + пентоза) и фосфорные эфиры пентоз.



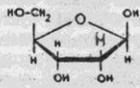
Пуриновые азотистые основания являются производными бипиримидинового гетероцикла - пурина, в молекуле которого сочетаются пиримидиновый и имидазольный циклы. В гидролизатах нуклеиновых кислот всегда обнаруживаются два производных пурина: аденин и гуанин. Помимо главных азотистых оснований в составе нуклеиновых кислот найдены вторичные (экзотические) основания - метилированные производные аденина и гуанина (1-метиладенин, 2-метиладенин, N<sup>6</sup>,N<sup>2</sup>-диметиладенин, 1-метилгуанин, N<sup>7</sup>,N<sup>3</sup>-диметилгуанин и другие).



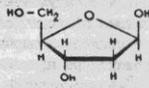
Пиримидиновые основания являются производными гетероциклического соединения пиримидина. В составе нуклеиновых кислот обнаружены следующие производные пиримидина (пиримидиновые основания): цитозин, урацил, тимин, 5-метилцитозин, 5-оксиметилцитозин. Цитозин, урацил и тимин найдены в нуклеиновых кислотах в значительных количествах. Содержание 5-метилцитозина и 5-оксиметилцитозина незначительно (обнаруживается далеко не всегда), поэтому они носят названия вторичных.



Углеводная составляющая нуклеиновых кислот представлена рибозой и дезоксирибозой. В составе нуклеиновых кислот оба моносахарида находятся в  $\beta$ -D-фуранозной форме



$\beta$ -D-рибоза



$\beta$ -D-2-дезоксирибоза

По сравнению с  $\beta$ -D-рибозой,  $\beta$ -D-2-дезоксирибоза является соединением, восстановленным по второму углеродному атому. Недавно выяснено, что рибоза и дезоксирибоза не являются единственными углеводами, входящими в состав нуклеиновых кислот. В некоторых нуклеиновых кислотах в небольшом количестве найдена глюкоза.

Изучение продуктов гидролиза нуклеиновых кислот, выделенных из разных источников, показало, что их состав неодинаков. В дальнейшем было показано, что в природе существует два типа нуклеиновых кислот, отличающихся по составу, строению и функциям. В соответствии с характером углеводного компонента одна из них была названа дезоксирибонуклеиновой кислотой (ДНК), а вторая - рибонуклеиновой кислотой (РНК). Имеется также различия и в составе азотистых оснований ДНК и РНК. Как ДНК, так и РНК содержат аденин, гуанин и цитозин. В качестве четвертого азотистого основания в ДНК входит тимин, в РНК - урацил. В ДНК значительно больше минорных оснований, только в ДНК найдена глюкоза. И в ДНК и в РНК всегда обнаруживается небольшое количество прочно связанных с ними аминокислот.

Молекулярная масса, содержание и локализация нуклеиновых кислот в организме

ДНК и РНК - это сложные по химической структуре высокополимерные органические соединения. Более высокой молекулярной массой обладает ДНК. Для некоторых ДНК, выделенных из вирусов, молекулярная масса лежит в пределах нескольких десятков и даже сотен млн. единиц. Так, например, молекулярная масса ДНК вируса чумы птиц - 200 000 000, вирус оспы - 160 000 000, для ДНК фагов (вирусов бактерий) выявлены величины молекулярной

массы от 1 500 000 до 120 000 000.

Молекулярные массы ДНК растительных, животных и микроорганизмов зависят от объекта, из которого они выделены. Так, молекулярная масса ДНК из зоной железы телят варьировала в пределах от 6 000 000 - 36 000 000, кишечной палочки - 1 000 000 000.

По величине молекулярной массы РНК делят на низкомолекулярные и высокомолекулярные. Эти две группы РНК резко отличаются и по функциям в организме.

Низкомолекулярные РНК имеют молекулярную массу от 18 000 до 35 000. В связи с тем, что в процессе выделения нуклеиновых кислот они остаются в надосадочной жидкости, или так называемой растворимой фракции клеточного содержимого, их называют растворимыми РНК. Условное обозначение растворимых РНК - сРНК (или s-РНК - от англ. soluble - растворимый, sup - сок, supernatant - надосадочная жидкость, супернатант). К растворимым РНК относят транспортную рибонуклеиновую кислоту - тРНК.

К высокомолекулярным РНК относят рибосомную - рРНК (локализована в рибосомах и представлена двумя видами молекул: с  $M=500\ 000-600\ 000$  и  $M=1\ 000\ 000-1\ 200\ 000$ ) и информационную (матричную) РНК - иРНК или мРНК ( $M=25\ 000-1\ 200\ 000$ , служит шаблоном для биосинтеза белка).

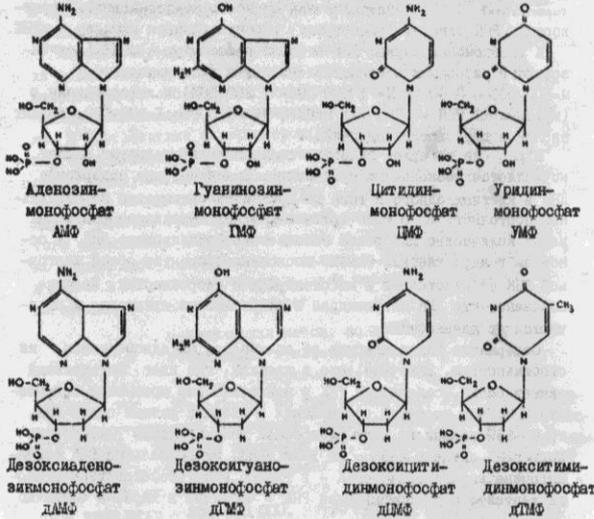
В расчете на сухое вещество содержание нуклеиновых кислот исчисляется несколькими процентами. Выяснено, что содержание ДНК в клетках одного и того же организма отличается поразительным постоянством. В тоже время в клетках организмов различных видов количество ДНК резко отличается. Локализована ДНК в основном в ядре клетки. Однако несколько процентов общей клеточной ДНК сосредоточено в митохондриях и хлоропластах. Недавно показано, что ДНК митохондрий и хлоропластов автономны и отличаются от ядерной ДНК.

Содержание РНК в клетках не отличается ни однообразием, ни стабильностью. Замечено, что в клетках, где идет интенсивный синтез белка, содержание РНК в несколько раз превышает содержание ДНК. Что касается соотношения в клетках разных видов РНК, то 80-85% падает на долю рибосомной РНК, примерно 10-20% - на долю тРНК и всего 2-3% - на долю иРНК. Рибосомальная РНК сосредоточена в рибосомах, сРНК - в гялоплазме (бесструктурной части клеток), а информационная РНК - частично в ядре, а частично

в цитоплазме.

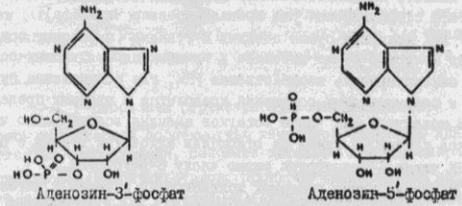
### Строение нуклеиновых кислот

При осторожной обработке РНК водным раствором щелочи ( $1 \text{ M NaOH}$  при комнатной температуре в течение 18 часов), а также действия рибонуклеазы на РНК или дезоксирибонуклеазы на ДНК, выделяются структурные единицы нуклеиновых кислот, которые содержат остатки пуринового или пиримидинового основания, рибозы или дезоксирибозы и фосфорной кислоты. При гидролизе РНК образуются рибонуклеотиды, при гидролизе ДНК — дезоксирибонуклеотиды. Азотистые основания, пентозы и фосфорная кислота связаны в молекулах нуклеотидов совершенно одинаково. Названия индивидуальных нуклеотидов зависят от характерного азотистого основания, наличие дезоксирибозы указывает приставкой "дезокс-", например:



Так как остаток фосфорной кислоты в природных нуклеотидах присоединен к остатку рибозы (или дезоксирибозы) по гидроксильной группе при третьем или пятом углеродном атомах, существуют два типа нуклеотидов ( $3'$  и  $5'$  нуклеозидфосфатов).

Чтобы указать местонахождение остатка фосфорной кислоты в молекуле нуклеотида, нумеруют углеродные атомы в остатке рибозы. Во избежание путаницы с соответствующей нумерацией атомов в пуриновых или пиримидиновых основаниях, эти цифры отмечают значком ' (штрих). Например:



При отщеплении от нуклеотидов остатков фосфорной кислоты получают нуклеозиды. Нуклеотиды, таким образом, можно рассматривать как фосфорные эфиры нуклеозидов. Так как нуклеозидфосфаты представляют собой довольно сильные кислоты, их часто называют цитидиловой, тимидиловой, уридилиловой, адениловой и гуаниловой кислотами и т.д.

Отдельные мононуклеотиды объединяются в громадные полинуклеотидные цепи. При этом соединение полинуклеотидных остатков в молекулах нуклеиновых кислот осуществляется с помощью эфирных связей, возникающих по месту третьего атома углерода рибозы или дезоксирибозы одного нуклеотидного остатка и пятого атома углерода пентозы другого остатка. Гидроксил при втором атоме углерода рибозы никогда не вовлекается в образование эфирного мостика.

В гидролизатах нуклеиновых кислот всегда находят некоторое количество аминокислот (0,1-0,2% для ДНК). Аминокислоты в виде пептидных фрагментов соединяют друг с другом дезоксиполинуклеотидные цепи. Следовательно ДНК не представляет собой непрерыв-

ной полинуклеотидной цепи, а состоит из полинуклеотидных фрагментов. Возможно их молекулярные массы близки к 500 000 (то есть к молекулярной массе тех субъединиц, до которых ДНК деградирует в процессе выделения).

#### Первичная структура нуклеиновых кислот

Основу химического строения РНК и ДНК составляют полинуклеотидные цепи той или иной длины. Порядок чередования нуклеотидных остатков в этих цепях и есть первичная структура нуклеиновых кислот. На основе анализа нуклеотидного состава ДНК и РНК, Чаргафф сформулировал ряд правил (правила Чаргаффа):

У ДНК молярная сумма аденина и гуанина (пуриновых оснований) равна молярной сумме цитозина и тимина (пиримидиновых оснований). Эта закономерность несвойственна РНК, где соотношение пуриновых и пиримидиновых оснований колеблется в широких пределах.

В молекулах ДНК число остатков аденина всегда равно числу остатков тимина. В таком же отношении находятся гуанин и цитозин. В ДНК число 6-аминогрупп равно числу 6-кетогрупп.

Отношение суммы молярных концентраций гуанина и цитозина к сумме молярных концентраций аденина и тимина у ДНК (или аденина и урацила у РНК) у обоих видов нуклеиновых кислот сильно варьирует. Особенно широки границы изменчивости этого показателя в ДНК. Эта закономерность в соотношении пуриновых и пиримидиновых оснований связана со специфичностью ДНК и РНК.

Большую роль в выявлении видовой специфичности ДНК и РНК сыграли работы академика Белозерского А.Н. и его школы. Установлено, что в природе преобладают ДНК АТ-типа и РНК ГЦ-типа. Каждый вид организмов характеризуется неповторимым строением своей ДНК, что может служить отличным таксономическим (т.е. определяющим видовую принадлежность) признаком.

Однако выявление указанных закономерностей не могло дать представления об истинной последовательности расположения структурных элементов, составляющих молекулы нуклеиновых кислот. Решающие сдвиги в выяснении первичной структуры простейших нуклеиновых кислот (сРНК) были достигнуты благодаря усовершенствованию методов ступенчатой (осуществляющейся с одного конца молекулы по одному нуклеотидному остатку) деградации полинуклеотидов. Чередование отдельных звеньев низкомолекулярных РНК было выяснено

после того, как был найден простой способ разбивать длинные полинуклеотидные цепи на короткие олигонуклеотиды: это делают при помощи специфических ферментов при низкой температуре.

В настоящее время уже расшифрована первичная структура ряда низкомолекулярных РНК, однако работы по расшифровке полной первичной структуры ДНК и высокомолекулярной РНК еще далеки от завершения.

В первичной структуре ДНК и информационной РНК есть одна интересная особенность: последовательность нуклеотидных остатков в иРНК полностью совпадает с последовательностью нуклеотидных остатков (с заменой урацила на тимин соответственно) в определенных участках ДНК. Это обстоятельство очень важно для понимания закономерностей специфического биосинтеза макромолекул в живой природе.

#### Вторичная структура нуклеиновых кислот

Самой характерной особенностью вторичной структуры ДНК и РНК является их спирализация. Наиболее детально изучена спирализация полидезоксирибонуклеотидов. Процесу спирализации подвергаются одновременно две молекулы полидезоксирибонуклеотида, при этом они закручиваются друг около друга, образуя громадное число водородных связей между сближающимися парами оснований. Одновременная спирализация двух полинуклеотидных цепочек может идти лишь в том случае, когда чередование нуклеотидных остатков в одной цепи комплементарно такому же в другой цепи. Сущность комплементарности или дополнительности состоит в том, что пуриновым основаниям всегда соответствуют пиримидиновые, молярная сумма аденина соответствует сумме тимина, молярная сумма гуанина — молярной сумме цитозина, количество кетогрупп равно количеству аминогрупп. Таким образом, две первые особенности в строении нуклеиновых кислот, открытые Чаргаффом и объясняющие комплементарность в строении молекулы ДНК и РНК, связаны с особенностями их вторичной структуры.

Цепи из полинуклеотидов в молекуле ДНК располагаются таким образом, что их основания находятся внутри, а углеводные и фосфорные группы снаружи. На один виток образующейся спирали затрачивается 10 нуклеотидных остатков, шаг спирали (расстояние между витками) составляет 3,4 нм, а диаметр спирали около 2,0 нм. На основе изученных закономерностей в составе и строении ДНК

Д. Уотсон и Ф. Крик в 1953 г. предложили пространственную модель ДНК, согласно которой молекула ДНК содержит две полинуклеотидные цепи, спиралеобразно закрученные вокруг общей оси.

Характерной особенностью вторичной структуры РНК является то, что спирализовано примерно 50% полинуклеотидной цепи её молекулы, а строение остальных участков не организовано. Кроме того, конфигурация свернутых в спираль участков РНК не так совершенна как у ДНК.

#### Структурная организация нуклеиновых кислот высшего порядка

Общее расположение спирализованной полинуклеотидной цепи (третичная структура) достаточно полно выяснена для молекул РНК. В зависимости от условий среды (концентрации солей и температуры) РНК может существовать в виде беспорядочно расположенной в пространстве одиночной цепи или в виде клубка с некоторым числом дуспиральных фрагментов, или, наконец, в форме компактной палочки, где биспиральные участки расположены в свою очередь упорядоченно.

Что касается третичной структуры ДНК, то полагают, что её биспиральные молекулы очень жестки, но не представляют собой лептоподобных образований. Часто молекула ДНК каким-то образом свернута в пространстве. Одним из возможных вариантов упорядоченного свертывания ДНК может быть спирализация второго порядка, часто наблюдаемая в тех структурах (хромосомах), главной составной частью которых является ДНК. Не исключено, конечно, что ДНК свернута в виде беспорядочного клубка.

#### Свойства нуклеиновых кислот

Нуклеиновые кислоты — это вещества белого цвета, волокнистого строения, плохо растворимые в воде в свободном виде, но хорошо растворимые в виде солей щелочных металлов. Они также хорошо растворяются в солевых растворах: РНК — в разбавленных, а ДНК — в более крепких.

Нуклеиновые кислоты оптически активны, подвижны в электрическом поле, так как располагают большим отрицательным зарядом, обладают высокой вязкостью и двойным лучепреломлением (молекулы нуклеиновых кислот резко асимметричны).

При нагревании нуклеиновых кислот в интервале температур

86–90 °С происходит так называемое плавление нуклеиновых кислот, сопровождающееся изменением вязкости раствора и возрастанием поглощения в ультрафиолетовой части спектра (при 260 нм). Последнее явление получило наименование гиперхромного эффекта. В процессе плавления нуклеиновых кислот разрываются водородные связи между пуриновыми и пиримидиновыми основаниями, возникшие при спирализации полинуклеотидных цепей. В результате частично упорядоченное строение молекулы сменяется неупорядоченным, так как одиночные полинуклеотидные цепи существуют в этих условиях в виде беспорядочных клубков. Однако при охлаждении происходит почти полное восстановление структуры нуклеиновых кислот. Более сильное нагревание, как правило, приводит к необратимой денатурации нуклеиновых кислот.

Одна из цепей ДНК обычно является более тяжелой, чем комплементарная ей, так как в одной из цепей неизбежно выше процентное содержание пуриновых оснований. Искусственно утяжелив одну из цепей (вводя тяжелый изотоп водорода или азота), можно отделять цепи с помощью ультрацентрифугирования в специальных условиях и затем соединять их в различных комбинациях. Эти опыты позволяют выявлять степень родства молекул нуклеиновых кислот, а следовательно и организмов, из которых они выделены.

В химическом отношении нуклеиновые кислоты довольно инертны, поэтому их долгое время считали индифферентными структурными элементами клеточного содержимого. Однако постепенно накопились данные о ряде химических реакций, свойственных нуклеиновым кислотам. Они прочно связывают многовалентные ионы металлов ( $\text{Ca}^{2+}$ ), легко вступают во взаимодействие с полиаминами (спермидином —  $\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_3-\text{NH}-(\text{CH}_2)_6-\text{NH}_2$ , спермином —  $\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_5-\text{NH}-(\text{CH}_2)_5-\text{NH}-(\text{CH}_2)_5-\text{NH}_2$ ). Для нуклеиновых кислот характерны реакции алкилирования амногрупп аденина, цитозина и гуанина, а также их дезаминирования путем обработки азотистой кислотой. Алкилирование и дезаминирование нуклеиновых кислот лежит в основе работ по химическому мутагенезу, т.е. по изменению наследственности с помощью химических средств.

#### Функции нуклеиновых кислот

Выяснение роли нуклеиновых кислот в организме человека, животных, растений и микроорганизмов является одной из самых угле-

кательных глав современной биохимии. Эти работы находятся сейчас на переднем крае биохимической науки, они открывают захватывающие перспективы проникновения в самые сокровенные тайны жизни.

Можно считать доказанным, что нуклеиновым кислотам принадлежит решающая роль в обеспечении специфического биосинтеза макромолекул, в том числе белковых тел, являющихся материальным субстратом жизненных процессов. ДНК в силу комплементарности строения её двухцепоччатой структуры способна обеспечить специфический синтез новых молекул нуклеиновой кислоты. Действительно, если допустить, что к одиночной цепи ДНК могут последовательно подстраиваться за счет водородных связей комплементарные нуклеотиды (из которых каким-то образом за счет возникновения эфирных мостиков будет постепенно формироваться вторая цепь, являющаяся точной копией первой, но с обратной последовательностью элементарных звеньев), то проблема специфического биосинтеза может считаться решенной. Вторая цепь ДНК с таким же успехом может служить шаблоном для синтеза первой. Этот процесс получил название гомологической репликации. Он осуществляется на каждой из полинуклеотидных цепей как на шаблоне (матрице) и поэтому обозначается так же как матричный механизм биосинтеза. Если допустить, что к матрице комплементарно присоединяются аминокислоты, объединяющиеся затем в молекулу белка, то такой процесс представляет пример гетерологической репликации. Современные данные говорят о том, что именно таким путем осуществляется специфический биосинтез белков, причем матрицей служит информационная РНК, а адаптером — растормаживаемая РНК, переносящая активированные аминокислоты.

Открытие принципа комплементарности в строении нуклеиновых кислот и его роли в процессе специфического воспроизведения биологических макромолекул — несомненно одно из величайших достижений человеческого разума. По своему значению оно сравнимо с капитальными открытиями в области ядерной физики или завоевания космоса. И поскольку нуклеиновым кислотам принадлежит ведущая роль в обеспечении функционирования комплементарного механизма биосинтеза природных соединений (полимеров), трудно переоценить их значение для процессов жизнедеятельности. Изучение функций нуклеиновых кислот открывает пути для выяснения механизмов на-

следственности и решения ряда других вопросов биологии и медицины.

#### Биосинтез белков

Вопрос о биосинтезе белков имеет большое научное и практическое значение. Ещё на заре изучения структуры белковых веществ встал вопрос о возможности синтеза белка вне организма. Ф.Энгельс в свое время писал, что белок не является непреодолимым барьером для химии, и лишь только будет известен состав белковых тел, химия может приступить к получению животного белка. Первая попытка в этом направлении принадлежит А.Л. Данилевскому, который осуществил биосинтез белковоподобных тел, названных им пластейнами. Он орудил продукты гидролиза белка пепсином и, изменив реакцию среды (в присутствии того же фермента), наблюдал их превращение в белковоподобные вещества. После А.Л. Данилевского наиболее серьезные попытки синтеза белков были предприняты Э. Фишером и другими исследователями. Однако синтез белков остается одной из наиболее трудных и наиболее сложных проблем современной биохимии.

Если в неживой природе принципиально новые пути получения энергии будут найдены человечеством благодаря успехам физики элементарных частиц, то в живой природе решение кардинального вопроса управления самой жизнью может быть получено в результате познания химии и биологии белковых тел.

В изучении строения и биосинтеза белка как в фокусе скрещиваются пути решения важнейших вопросов биологической науки: выяснение законов наследственности и изменчивости, управление ростом и развитием организмов, нахождение причин возникновения и методов лечения многих болезней и т.п. Вполне закономерно поэтому, что XX век физики называют веком атома, а биохимики — веком белка.

Очень важную роль в формировании современных представлений о механизме биосинтеза белков сыграли крупные успехи в изучении структуры, строения и механизма синтеза нуклеиновых кислот. В настоящее время на основании последних данных науки можно дать следующую общую схему сложного и многоступенчатого процесса биосинтеза белка (по А.С. Спирину).

Главная роль в определении специфической структуры белков

принадлежит ДНК - дезоксирибонуклеиновой кислоте. Молекула ДНК представляет собой чрезвычайно длинную линейную структуру, состоящую из двух взаимозакрученных полимерных цепей. Составными элементами (мономерами) этих цепей являются четыре сорта дезоксирибонуклеотидов, чередование или последовательность которых вдоль цепи специфична для каждой молекулы ДНК и каждого его участка. Различные (достаточно длинные) участки молекулы ДНК ответственны за синтез разных белков. Следовательно, одна молекула ДНК может определять синтез большого числа функциональных и химически различных белков клетки. За синтез каждого одного типа белков несет ответственность лишь определенный участок молекулы ДНК. Такой участок, связанный с синтезом одного какого-либо белка в клетке, часто обозначают термином "цис-трон". В настоящее время понятие цистрон рассматривается как эквивалентное понятие ген. В уникальной структуре гена (в определенном последовательном расположении его нуклеотидов вдоль цепи) заключена вся информация о структуре одного соответствующего белка.

Однако ДНК и отдельные ее функциональные участки, несущие информацию о структуре белков, сами непосредственного участия в процессе создания белковых молекул не принимают. Первым этапом на пути к реализации информации, записанной в цепях ДНК, является так называемый процесс транскрипции или "переписывания". В этом процессе на цепи ДНК как на матрице происходит синтез химически родственного полимера - рибонуклеиновой кислоты (РНК).

Молекула РНК представляет собой одну цепь, мономерами которой являются четыре сорта рибонуклеотидов, могущих рассматриваться как небольшая модификация четырех видов дезоксирибонуклеотидов ДНК. Последовательность расположения рибонуклеотидов в образующейся цепи РНК в точности повторяет последовательность расположения соответствующих дезоксирибонуклеотидов одной из двух цепей ДНК.

Таким образом, нуклеотидная последовательность генов копируется в виде молекул РНК, то есть информация, записанная в структуре данного гена, целиком переписывается на РНК. С каждого гена может сниматься большое (теоретически неограниченное) количество таких "копий" - молекул РНК. Эти молекулы РНК, являющие-

ся переписанными во многих экземплярах "копиями" генов, и стало быть, несущие ту же информацию, что и гены, расходятся по клетке. Они то непосредственно и вступают в связь с белок-синтезирующими частями клетки и принимают участие в процессах создания белковых молекул. Такие молекулы РНК являются переносчиками информации от места, где она хранится, в места ее реализации. Эти РНК называют информационными или матричными рибонуклеиновыми кислотами (иРНК, мРНК).

Таким образом, рассмотренная часть схемы описывает поток информации, идущий от ДНК в виде молекул мРНК к внутриклеточным частям, синтезирующим белки. Теперь необходимо обратиться к потоку иного рода - к потоку того материала, из которого должен быть получен белок. Элементарными единицами (мономерами) белковой молекулы являются аминокислоты, из которых наиболее часто встречается около 20 видов. Для создания (синтеза) белковой молекулы свободные аминокислоты, присутствующие в клетке, должны быть привлечены в соответствующий поток, поступающий в белок-синтезирующую частицу и уже там восстановлены в цепочку определенным уникальным способом, диктуемым информационной РНК. Такое привлечение аминокислот - строительного материала для создания белка - осуществляется через присоединение свободных аминокислот к особым молекулам РНК относительно небольшого размера. Эти РНК, служащие для присоединения к ним свободных аминокислот, не являются информационными, а несут явную - адапторную - функцию. Аминокислоты (по одной аминокислоте на одну молекулу РНК) присоединяются к одному из концов небольших цепочек адапторных или транспортных РНК (тРНК). В таком (названном на РНК) виде аминокислоты и вступают к белок-синтезирующим частицам.

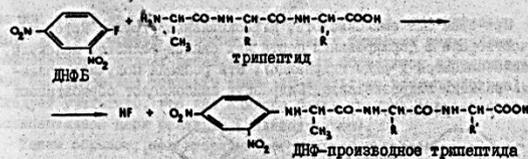
Центральным моментом процесса биосинтеза белка является слияние этих двух внутриклеточных потоков - потока информации и потока материала - в белок-синтезирующих образованиях клетки, называемых рибосомами. Рибосомы представляют собой ультрамикроскопические биохимические "машины" молекулярных размеров, где из поступающих аминокислотных остатков, согласно плану, заключенному в информационной РНК, собираются специфические белки. Каждая клетка содержит тысячи рибосом, количество которых определяет общую интенсивность белкового синтеза в клетке. По своей химической природе рибосома является рибонуклеопротеидом. Она состоит

из особой рибосомальной РНК (это третий известный нам класс РНК, в дополнение к информационной и адапторной РНК) и молекул структурного рибосомального белка. Вместе это сочетание нескольких десятков макромолекул образует идеально организованную и надежную "машину", обладающую свойством прочитывать информацию, заключенную в цепи мРНК, и реализовывать ее в виде готовой белковой молекулы специфического строения. Поскольку при этом линейная расстановка аминокислот в цепи белка однозначно детерминруется (обуславливается) расположением четырех сортов нуклеотидов в цепи химически совсем иного полимера — нуклеиновой кислоты (мРНК), то этот процесс, происходящий в рибосоме, в настоящее время принято обозначать, термином "трансляция" или "перевод", то есть перевод как бы с 4-буквенного алфавита цепей нуклеиновых кислот на 20-буквенный алфавит белковых (полипептидных) цепей. Как видно, в процессе трансляции участвуют все три известных класса РНК — информационная РНК (являющаяся объектом трансляции), рибосомная РНК (играющая роль организатора белок-синтезирующей рибонуклеопротеидной части — рибосомы) и адапторная РНК (осуществляющая функции переводчика). Рибосома в целом является той минимальной биологической частью, в пределах которой осуществляется необходимая организация всех ступеней процесса синтеза белка в пространстве и времени.

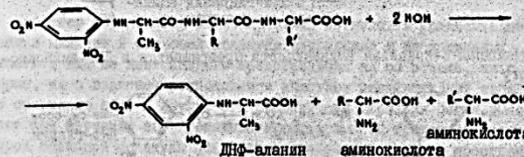
#### Первичная структура белка

Под первичной структурой белка понимают последовательность в расположении аминокислотных остатков в одной или нескольких полипептидных цепях, составляющих молекулу белка. Зная первичную структуру белка, можно написать полную его химическую формулу. Учитывая, что в белковой молекуле содержится как минимум несколько десятков аминокислотных остатков, установление местоположения каждого из них можно провести путем определения входящих в состав молекулы белка аминокислот.

Для определения аминокислотного остатка, которым начинается белковая молекула, чаще всего пользуются методом Сангера, за разработку которого автор был удостоен Нобелевской премии. По этому методу белок обрабатывают динитрофторбензолом (ДФФБ), который взаимодействуя со свободной аминогруппой, образует динитрофенилпроизводное (ДФН) полипептида:



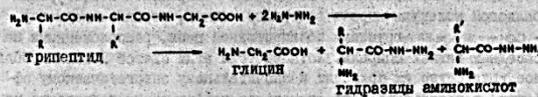
После гидролиза полученного соединения лишь одна аминокислота распадется до свободных аминокислот белковой молекулы будет находится в гидролизате в виде ДФН-аминокислоты:



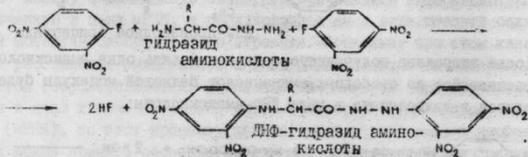
ДФН-аминокислота может быть легко определена как качественно, так и количественно (например, хроматографически) в присутствии всех других аминокислот.

Для расшифровки аминокислотной последовательности пептидов с n-конца могут быть использованы ферменты аминокатабазы, последовательно отщепляющие аминокислоты со свободной аминогруппой. Идентифицируя аминокислоты в полученном при этом гидролизате, получают представление о чередовании аминокислот на n-конце пептида.

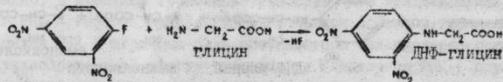
Для определения конечной аминокислоты со стороны карбоксильной группы также существует ряд методов. Простейший из них, предложенный японским ученым Акабори, состоит в том, что вначале белок обрабатывают гидразином:



При этом все аминокислоты, карбоксильные группы которых участвовали в формировании пептидных связей белковой молекулы, высвобождаются в виде гидразидов. Эта реакция получила название реакции гидразинолиза. Гидразиды аминокислот обрабатывают нитрофторбензолом:



Свободная С-концевая аминокислота превращается в ДНГ-аминокислоту



ДНГ-гидразиды отделяют от ДНГ-аминокислот с помощью экстракции уксусно-этиловым эфиром. ДНГ-аминокислоту определяют методом хроматографии на носителе. Так находят С-концевую аминокислоту белковой молекулы.

#### Вторичная структура белка

Строго линейная пептидная цепь присуща крайне ограниченному числу белков. Одним из таких белков является фиброин шелка — белок, выделяемый гусеницами шелкопряда. Однако в последнее время (главным образом, методом рентгеноструктурного анализа) было установлено, что полипептидная цепь в молекулах подавляющего числа белков свернута в виде спирали. При этом спирелизованные участки полипептида закономерно чередуются с линейными. Громадную роль в формировании и поддержании спиральной конфигурации белковой молекулы играют водородные связи, возникающие между —СО— и —NH— группами полипептидной цепи, расположенными на соседних витках спирали. Хотя энергия этих связей невелика, большое количество их приводит к значительному энергетическому эффекту, в результате чего спиральная конфигурация достаточно устойчива и жестка. В белках отмечено также явление суперспирали-

зации, когда две спирали полипептидов скручены относительно друг друга, образуя суперспираль. Между боковыми радикалами аминокислот соседних цепей суперспирали образуются дополнительные нековалентные контакты (ван-дер-ваальсово взаимодействие). Следует учитывать, что для каждого белка степень спирализации полипептидной цепи различна (индивидуальна).

Таким образом, под вторичной структурой белковой молекулы подразумевают ту или иную конфигурацию (упорядоченное пространственное расположение), характерную для одной или нескольких полипептидных цепей, входящих в состав молекулы.

#### Третичная структура белка

Характер чередования аминокислотных остатков в полипептидной цепи и наличие в белковой молекуле спиральных и неспиральных участков еще не дает полного представления ни об объеме, ни о форме, ни о взаимном расположении участков полипептидной цепи по отношению друг к другу. Эти особенности строения белка выясняют при изучении его третичной структуры. Под третичной структурой белковой молекулы понимают общее расположение в пространстве составляющих молекулу белка одной или нескольких полипептидных цепей, соединенных, главным образом, ковалентными связями. Ковалентное связывание осуществляется посредством образования дисульфидных мостиков —S—S— (между радикалами цистеинов, находящихся на разных участках полипептидной цепи) или изопептидных (псевдопептидных) связей (между NH-группами боковых радикалов лизина и аргинина и —COOH-группами боковых радикалов моноамнодидикарбоновых кислот). Значительную роль в поддержании третичной структуры белков и ее закреплении играют также ионные (электростатические или солевые), водородные и неполярные (ван-дер-ваальсовы или гидрофобные) взаимодействия. Установление третичной структуры белковой молекулы очень сложно. Исследования в этом направлении проводятся лишь в последние годы, и пока что установлена третичная структура очень немногих белков (таких как миоглобин, субъединица гемоглобина, рибонуклеазы, лизоцима, химотрипсиногена и некоторых других). Полагают, что третичная структура белковой молекулы определяется ее первичной структурой, так как решающая роль в поддержании характерного для третичной структуры расположения полипептидной цепи в пространстве

принадлежит взаимодействию радикалов аминокислот друг с другом. Необходимо отметить, что биологическая активность белков зависит от сохранения присущей им в нативном состоянии третичной структуры молекул.

#### Четвертичная структура белка

Крупные молекулы белков состоят, как правило, из субъединиц. Со сравнительно небольшой молекулярной массой. Взаимное пространственное расположение субъединиц в единой белковой молекуле называется четвертичной структурой белка. В настоящее время наиболее полные данные получены по четвертичной структуре гемоглобина и некоторых ферментов.

Белковые молекулы, составленные из субъединиц, принято называть мультимерами (олигомерами), а сами субъединицы - протомерами. Любой белок с молекулярной массой выше 50 000 - 60 000 представляет молекулами-мультимерами. Молекулярная масса протомеров укладывается в пределах 17 000 - 60 000, а число протомеров в мультимерах колеблется от двух до нескольких десятков у ферментов и до нескольких сотен у вирусов. При четвертичном уровне организации белки сохраняют основную конфигурацию третичной структуры (глобулярную или фибриллярную). Каждая отдельно взятая полипептидная цепь (протомер) чаще всего не обладает биологической активностью. Эту способность белок приобретает при определенном (упорядоченном) способе пространственного объединения входящих в его состав протомеров, то есть при образовании мультимера.

При соединении протомеров в мультимер реализуются нековалентные связи (аналогичные тем, которые обеспечивают стабильность третичной структуры) различных типов: гидрофобные взаимодействия, ионные, водородные и (иногда) дисульфидные связи. Как вне организма, так, видимо, и в клетках мультимеры обратимо диссоциируют на протомеры.

Необходимо отметить, что малейшее изменение третичной структуры протомеров делает невозможным соединение их в молекулу мультимера, что резко сказывается на биологической активности белка. А так как третичная структура задается первичной структурой, то даже незначительное изменение первичной структуры белка приводит к изменению функциональной активности белков. Указанные явления лежат в основе регуляторных процессов в организме.

#### Регуляция белкового синтеза

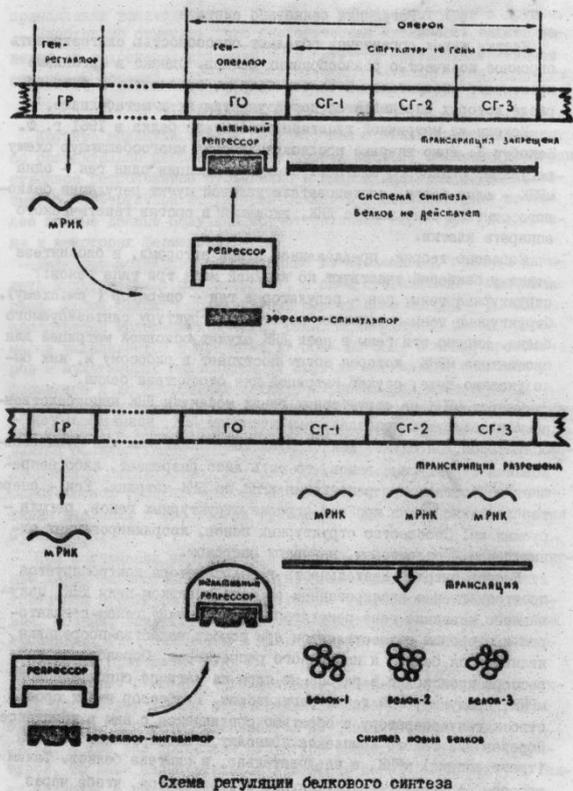
Клетки живых организмов обладают способностью синтезировать огромное количество разнообразных белков. Однако в организме происходит избирательный синтез белков, количества и разнообразия которых определяется долей участия их в метаболизме.

Исходя из матричной гипотезы биосинтеза белка в 1961 г. Ф. Жакоб и Я. Моно впервые предложили весьма многообещающую схему регуляции белкового синтеза. Следуя концепции один ген - одна мРНК - один белок, исследователи узловой пункт регуляции белкового синтеза связывают с ДНК, входящей в состав генетического аппарата клетки.

Согласно теории, предложенной этими авторами, в биосинтезе белка у бактерий участвуют по крайней мере три типа генов: структурные гены, ген - регулятор и ген - оператор (см. схему). Структурные гены определяют первичную структуру синтезируемого белка. Именно эти гены в цепи ДНК служат основной матрицей для биосинтеза мРНК, которая затем поступает в рибосому и, как было указано выше, служит матрицей для биосинтеза белка.

Синтез мРНК на структурных генах молекулы ДНК непосредственно контролируется определенным участком ДНК, называемым ген - оператором. Он служит как бы пусковым механизмом для функционирования структурных генов, то есть либо разрешает, либо запрещает гомологическую репликацию мРНК на ДНК-матрице. Ген - оператор локализован на крайнем отрезке структурных генов, регулируемых им. Сообщество структурных генов, координированных одним геном - оператором, называют опероном.

В свою очередь деятельность гена-оператора контролируется пространственно изолированным от него участком цепи ДНК, получившего название гена-регулятора. Связь между геном-регулятором и опероном осуществляется при помощи вещества-посредника, являющегося белком и названного репрессором. Образование репрессора происходит в рибосомах ядра на матрице специфической мРНК, продуцируемой геном-регулятором. Репрессор имеет сродство к гену-оператору и обратимо соединяется с ним в комплексе. Образование такого комплекса приводит к блокированию синтеза (транскрипции) мРНК, а следовательно, и синтеза белков. Таким образом, функция гена-регулятора состоит в том, чтобы через



44

белок-репрессор запрещает деятельность оперона (структурных генов), продуцирующих мРНК. Репрессор, кроме того, обладает способностью специфически взаимодействовать с некоторыми низкомолекулярными соединениями (аллостерическими эффекторами или индукторами). Соединяясь с эффектором-ингибитором репрессор так изменяет свою третичную структуру, что теряет способность связываться с геном-оператором, который, таким образом, выходит из-под контроля гена-регулятора, и начинается синтез мРНК. Эффекторы-стимуляторы же наоборот способствуют возникновению комплекса между репрессором и геном-оператором. В качестве аллостерических эффекторов часто выступают субстраты, конечные продукты тех или иных ферментативных процессов и другие метаболиты.

#### Углеводы

Углеводы — полиоксикарбонильные соединения и их производные являются органическими соединениями, которые входят в состав клеток и тканей всех живых организмов. В биосфере, по всей вероятности, больше углеводов, чем всех других органических соединений, вместе взятых. Это объясняется повсеместным распространением в больших количествах двух полимеров глюкозы — целлюлозы и крахмала.

Появление термина "углеводы" (К.Шмидт, 1844) связано с тем, что первые исследованные представители этого класса оказались как бы соединением углерода и воды и имели общую формулу  $C_n(H_2O)_n$ . Позднее было установлено, что целый ряд углеводов не удовлетворяет этой эмпирической формуле (дезоксирибоза и другие). В то же время некоторые органические соединения, не являющиеся углеводами, обладают такой же формулой (уксусная, молочная кислоты и другие).

Содержание углеводов в растениях достигает 80-90 процентов из расчета на сухое вещество, тогда как в организме человека и животных они составляют не более 2 процентов от сухой массы тела.

Экологические функции углеводов разнообразны и важны.

Во-первых, они являются основным источником энергии, необходимой для осуществления различных физиологических функций. Так, при полном окислении 1 г углеводов освобождается 16,9 кДж энергии.

45

Во-вторых, углеводы являются запасным питательным материалом, который откладывается у растений в виде крахмала, а у человека и животных в виде гликогена.

В-третьих, углеводы в виде полисахаридов являются важными компонентами жестких стенок бактериальных и растительных клеток и более мягких оболочек животных клеток. Целлюлоза и другие полисахариды оболочек растительных клеток не только защищают клетки от внешних воздействий, но и образуют прочный остов растения, его механические, опорные ткани. Полисахарид хитин служит многим беспозвоночным животным в качестве внешнего скелета. В комплексе с белками углеводы входят в состав хрящевых тканей (хондроитинсульфаты) и других соединительнотканых образований. Углеводы, следовательно, выполняют защитную и опорную функции в организме.

В-четвертых, углеводы используются на синтез многих важнейших для организма веществ: нуклеиновых и жирных кислот, а из них — аминокислот, белков, липидов и т.д., то есть выполняют пластическую функцию.

В-пятых, углеводы участвуют в регуляции некоторых процессов в организме. Так, клетчатка, вызывая механическое раздражение кишечника, способствует его перистальтике и тем самым улучшает пищеварение; моносахариды играют существенную роль в регуляции осмотических процессов.

В-шестых, углеводы выполняют многие специфические функции. В виде мукополисахаридов они являются составными частями слизистых веществ, субстанцией группоспецифических веществ крови, выполняют роль антикоагулянтов (гепарин) и т.д.

В-седьмых, углеводы необходимы для нормального окисления жиров и белков. Например, при нарушении углеводного обмена окисление жиров идет не до конца и останавливается на стадии образования промежуточных продуктов.

Углеводы обычно подразделяют на моносахариды, олигосахариды и полисахариды.

Моносахариды — простые углеводы, которые не расщепляются гидролитическим путем.

Олигосахариды — углеводы, которые гидролизуются с образованием небольшого числа моносахаридов (от 2 до 10). В этой группе наиболее распространенными являются дисахариды.

Полисахариды — высокомолекулярные полимеры моносахаридов и их производных. Число моносахаридных единиц в них колеблется от десяти до нескольких тысяч.

Среди полисахаридов выделяют гомополисахариды, состоящие из моносахаридных единиц одного типа (например, крахмал содержит остатки α-D-глюкозы), и гетерополисахариды, содержащие моносахаридные единицы двух или нескольких типов (гиалуроновая кислота, например, состоит из чередующихся остатков β-D-глюкуроновой кислоты и N-ацетил-β-D-глюкозамина).

Моно- и дисахариды образуют в воде истинные растворы, легко кристаллизуются. Полисахариды в водной среде образуют коллоидные растворы.

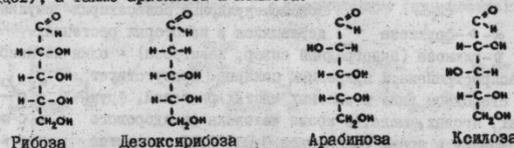
#### Моносахариды

По числу углеродных атомов в молекуле моносахариды разделяют на триозы, тетрозы, пентозы, гексозы, гептозы и т.д. Наиболее распространены в природе триозы, пентозы и гексозы.

По характеру функциональных групп моносахариды разделяют на альдозы (альдегидспирты) и кетозы (кетонспирты).

Простейшими представителями моносахаридов являются триозы — глициновый альдегид и диоксиацетон:  $\begin{matrix} \text{H}-\text{C}=\text{O} & & \text{CH}_2\text{OH} \\ | & & | \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} & & \text{C}=\text{O} \\ | & & | \\ \text{CH}_2\text{OH} & & \text{CH}_2\text{OH} \end{matrix}$  Оба эти соединения являются промежуточными продуктами распада углеводов в живых тканях. Они способны взаимно превращаться друг в друга.

Из пентоз наибольшее биологическое значение имеют уже известные нам рибоза и дезоксирибоза (входящие в состав нуклеотидов), а также арабиноза и ксилоза:



Арабиноза и ксилоза наиболее часто встречаются в растениях. Арабинозу можно получить путем кислотного гидролиза свеклович-

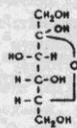
ного жема и вышневого клея, а ксилозу - при кислотном гидролизе солому или древесины.

Арабиноза (в виде  $\beta$ -формы) широко распространена в природе в составе гемипеллиоз, пектиновых веществ, слизи. Может обнаруживаться в свободном виде в моче после употребления больших количеств фруктов (алиментарная пентозурия).  $D$ -арабиноза является компонентом некоторых растительных гликозидов и полисахаридов ряда бактерий.

Ксилоза ( $D$ -форма) - древесный сахар - может быть обнаружена у растений в свободной форме. Значительно в большем количестве входит в состав гемипеллиоз, растительных слизи. Образующийся из ксилозы спирт ксилит используют вместо сахарозы в питании больных диабетом. Ксилоза входит в состав гликопротеинов человека, животных и микроорганизмов.

Рибоза и дезоксирибоза входят в состав нуклеиновых кислот в качестве структурного элемента нуклеотидных остатков, где они находятся в  $\beta$ - $D$ -фуранозных формах. Продукт восстановления рибозы - пятиатомный спирт рибитол (рибит) - принимает участие в построении многих биологически активных соединений (витаминов, ферментов и др.).

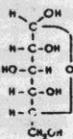
Из гексоз наиболее важными в биологическом отношении являются фруктоза, глюкоза, галактоза и манноза.



$\alpha$ - $D$ -фруктоза

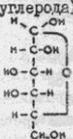
$D$ -фруктоза (плодовый сахар, левулеза) обычно встречается вместе с глюкозой. В свободном состоянии находится в плодах, нектаре, меде. В связанном виде входит в состав дисахарида сахарозы, образует высокомолекулярный полисахарид - инулин, содержащийся в некоторых растениях.

$D$ -глюкоза (виноградный сахар, декстроза) - один из наиболее распространенных природных сахаров. Присутствует в свободном виде в зеленых частях растений, фруктах, ягодах, меде, в крови человека (у здорового человека в крови содержится 0,08-0,12 процентов глюкозы). В связанной форме является основой таких важнейших природных соединений, как тростниковый сахар (саккариозный), крахмал, клетчатка, и других. При восстановлении глюкозы образуется  $\alpha$ - $D$ -глюкоза



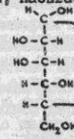
шестиатомный спирт сорбит, а при окислении - гликоновая и далее гликкероная (сахарная) кислота.

$D$ -галактоза является пространственным изомером  $D$ -глюкозы (различное расположение гидроксильной и водородной у четвертого атома углерода). В свободном виде в природных объектах не встречается. Входит в состав дисахаридов (лактозы и меллибиозы), трисахарида рафинозы, олигосахаридов (стахиозы, вербаскозы), целого ряда полисахаридов (как растительного, так и животного происхождения), а также сложных жироподобных веществ (пероброфидов, ганглиозидов). При окислении галактозы образуется плохо растворимая в воде слизевая (дикарбоновая) кислота.



$\alpha$ - $D$ -галактоза

$D$ -манноза образует природные сложные углеводы, называемые маннанами и являющиеся часто углеводными компонентами гликопротеинов. Встречается в растениях в составе высокомолекулярных полисахаридов - слизи, гемипеллиоз. У микроорганизмов манноза найдена в составе капсулярных полисахаридов и  $O$ -антигенных детерминант у грамотрицательных бактерий.

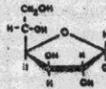


$\alpha$ - $D$ -манноза

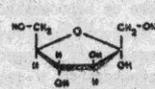
Выше были схематически представлены циклические (полуцеллюлозные) формы гексоз (формулы Фишера, Толлена). Наряду с этим циклическое строение углеводов часто изображают с помощью так называемых проекционных формул (формулы Хеуорса). В зависимости от того, гидроксильная группа какого из углеродных атомов принимает участие в образовании полуцеллюлозы или полукеталля, образуются пятичленные (фуранозные) или шестичленные (пиранозные) гетероциклы



$\alpha$ - $D$ -глюкопираноза



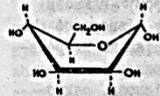
$\alpha$ - $D$ -глюкофураноза



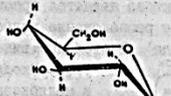
$\alpha$ - $D$ -фруктофураноза

Однако такие проекции могут создать неправильное представление, будто пяти- и шестичленные фуранозные и пиранозные кольца являются плоскими, что в действительности не так. Пиранозные

цикл глюкозы, например, может принимать форму кресла и форму лодки:



$\alpha$ -D-глюкоза  
(форма лодки)



$\alpha$ -D-глюкоза  
(форма кресла)

Такие конформации пиранозного цикла глюкозы (две типа кресла и шесть типа лодки) возникают без нарушения длины валентных связей и углов между ними. Конформации в виде кресла являются более жесткими, устойчивыми.

#### Стереизомерия моносахаридов

Все моносахариды за исключением диоксиацетона, содержат один или несколько асимметрических (хиральных) атомов углерода (то есть атомов углерода, связанных с четырьмя различными атомами или группировками). Простейшая альдоза (глицериновый альдегид) содержит только один асимметрический атом углерода и поэтому может существовать в виде двух различных стереоизомеров. Если гидроксигруппа у второго (асимметрического) углеродного атома расположена справа, изомер относят к D-ряду, если же она находится слева, изомер относят к L-ряду.



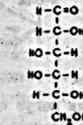
D-изомер



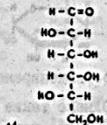
L-изомер

Для сахаров, содержащих два (и более) асимметрических атома углерода, основанием отнесения к D- или L-ряду служит расположение гидроксигруппы справа или слева у последнего (наиболее удаленного от карбонильной группы) асимметрического атома углерода.

С биологической точки зрения наиболее важны (и наиболее часто встречаются) D-формы углеводов. L-формы сахаров тоже встречаются в природе, но значительно реже. Два углевода, которые отличаются только по расположению гидроксильной группы относительно одного определенного атома углерода,



D-галактоза



L-галактоза

да, называются эпимерами. Так, D-глюкоза и D-манноза являются эпимерами по второму атому углерода, а D-глюкоза и D-галактоза — эпимерами по четвертому атому углерода. В зависимости от расположения водорода и гидроксильной группы у первого углеродного атома, различают  $\alpha$ - и  $\beta$ -формы углеводов (аномерные формы).

#### Мутаротация

В кристаллическом состоянии моносахариды находятся только в циклической форме. В частности, природная глюкоза является  $\alpha$ -D-глюкопиранозой. При растворении же в воде последняя таутомерно превращается в оксикарбонильную форму, которая может переходить во все четыре циклические полуацетальные формы (то же происходит при растворении в воде  $\beta$ -D-глюкопиранозы). Таким образом, в водном растворе D-глюкоза, так и другие моносахариды, существует (и способна участвовать в химических реакциях) в пяти таутомерных формах: одной оксикарбонильной и четырех циклических. Между всеми этими формами в растворе устанавливается динамическое равновесие. При этом в равновесной системе преобладают циклические  $\alpha$ - и  $\beta$ -пиранозные формы, мало циклических  $\alpha$ - и  $\beta$ -фуранозных форм, и совсем мало оксикарбонильной формы.

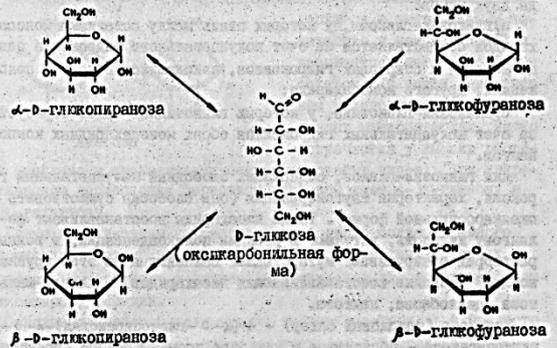


Схема таутомерных превращений D-глюкозы

Процесс растворения моносахаридов в воде сопровождается своеобразным оптическим эффектом, который получил название мутаротации. При этом угол вращения свежеприготовленного раствора моносахарида при стоянии постепенно изменяется, пока не достигнет некоторой постоянной величины, характерной для данного моносахарида. Явление мутаротации обусловлено таутомерными превращениями углеводов. Каждой из полуцетальных форм моносахарида присущ определенный угол вращения плоскости поляризации, который и наблюдается в свежеприготовленном растворе. Но вследствие превращения полуцетала (полукетала) в другие таутомерные формы угол вращения будет меняться до тех пор, пока в системе не установится равновесие. При этом угол вращения раствора будет равным алгебраической сумме углов вращения всех таутомерных форм углевода.

#### Дисахариды

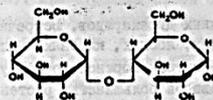
Дисахариды содержат в своем составе остатки двух моносахаридов. По химическому строению являются гликозидами моносахаридов, агликонами которых служат также остатки моносахаридов. В зависимости от способа соединения остатков моноз различают дисахариды двух типов:

а) гликозил-гликозы, у которых связь между остатками моносахаридов осуществляется за счет полуцетального гидроксила одной из молекул и спиртовых гидроксильных, находящихся в других положениях, другого моносахарида;

б) гликозил-гликозиды, у которых гликозидная связь образуется за счет полуцетальных гидроксильных обоих моносахаридных компонентов.

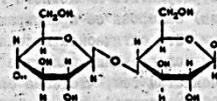
Для гликозил-гликозидов, содержащих свободный полуцетальный гидроксил, характерна таутомеризация (они способны существовать в оксикарбонильной форме). Такие дисахариды восстанавливают феллингову жидкость, вступают в реакцию поликонденсации, в водных растворах обнаруживают мутаротацию. Важнейшими из этой группы, носимой название восстанавливающих дисахаридов, являются мальтоза, целлобиоза, лактоза.

Мальтоза (солодовый сахар) - 4-( $\alpha$ -D-гликопиранозил)- $\alpha$ -D-гликопираноза - образуется в качестве промежуточного продукта при действии амлаз (ферментативном расщеплении) крахмала или



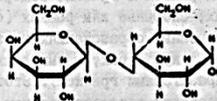
мальтоза

Целлобиоза - 4-( $\beta$ -D-гликопирозил)- $\beta$ -D-гликопироза - широко распространена в растительном мире. Она найдена в прорастающих семенах, косточках абрикосов, в соке некоторых деревьев. Образуется при ферментативном расщеплении целлюлозы (клетчатки), составляющей оболочку растительных клеток. Отличается от мальтозы тем, что в ее состав входят остатки не  $\alpha$ -, а  $\beta$ -D-гликозы.



целлобиоза

Лактоза - 4-( $\beta$ -D-галактопаранозил)- $\alpha$ -D-гликопироза - содержится в значительном количестве в молоке (5-6%) и называется поэтому молочным сахаром. Является единственным углеводом пищи новорожденных млекопитающих. Редко встречается у высших растений (найдена в пыльцевых трубках некоторых видов). При гидролитическом расщеплении ферментом лактазой дает  $\alpha$ -D-гликозу и  $\beta$ -D-галактозу.



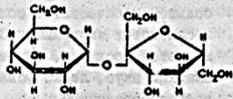
лактоза

Гликозил-гликозиды не содержат свободного полуцетального гидроксила, поэтому неспособны окисляться в мягких условиях, проявлять мутаротацию и другие (характерные для восстанавливающих сахаров) реакции.

Основными представителями этой группы дисахаридов (невосстанавливающих дисахаридов) являются сахароза и трегалоза.

Сахароза (тростниковый или свекловичный сахар) -  $\alpha$ -D-гликопирозил- $\beta$ -D-фруктофуранозид - один из самых распространенных

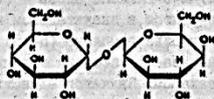
в природе и практически наиболее важных дисахаридов. Встречается в листьях, стеблях, корнях, фруктах, ягодах, клубнях. Является транспортной формой углеводов большинства растений и запасной формой у таких растений, как сахарная свекла и сахарный тростник, которые и служат сырьем для ее получения.



сахароза

Легко гидролизуется в кислой среде. В результате кислотного гидролиза (или действия фермента инвертазы) сахарозы ее правозащитный раствор становится левозащитным. Это оптическое явление (смена направления вращения плоскости поляризации) получило название инверсии. Причина инверсии объясняется тем, что сама сахароза, имея удельное вращение  $+66,5^\circ$ , распадается на  $\alpha$ -D-глюкозу (удельное вращение  $+52,5^\circ$ ) и  $\beta$ -D-фруктозу (удельное вращение  $-92^\circ$ ), что и приводит к смене знака оптического вращения на отрицательный. Гидролиз сахарозы наблюдается также у пчел при образовании меда.

Трегалоза (микоза) -  $\alpha$ -D-глицопиранозид- $\beta$ -D-глицопиранозид-



трегалоза

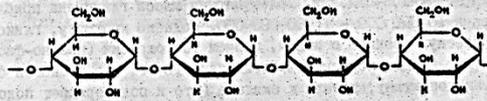
молекулы  $\alpha$ -D-глицозы.

#### Полисахариды

К полисахаридам относятся вещества, построенные из большого числа остатков моносахаридов или их производных. Если полисахарид содержит остатки моносахарида одного вида, его называют гомополисахаридом. В случае же, когда полисахарид составлен из номерных звеньев двух или более видов, его относят к гетерополисахаридам.

Крахмал - один из наиболее распространенных запасных полисахаридов растений (интенсивно накапливается в результате фотосин-

теза). Представляет собой смесь двух гомополисахаридов: амилозы (линейного) и амилопектина (разветвленного). Полисахариды крахмала построены из остатков  $\alpha$ -D-глицозы. В амилозе они соединены  $\alpha$ -1,4-глицозидными связями в линейную цепь



Участок молекулы амилозы

Молекулы же амилопектина составлены из множества коротких полиглицозидных цепочек (около 20 мономеров соединены  $\alpha$ -1,4-глицозидными связями), соединенных друг с другом в разветвленные образования посредством  $\alpha$ -1,6-глицозидных связей.

Как крахмал, содержание амилозы в природном крахмале составляет 10-30 процентов, амилопектина - 70-90 процентов. Амилопектин с трудом растворяется в горячей воде, образуя при этом вязкий раствор (клейстер), который при охлаждении застывает в студнеобразную массу. Амилоза же хорошо растворима в теплой воде и не образует клейстера.

Молекулярная масса препаратов амилозы, выделенных из различных источников, колеблется в пределах 100 000-400 000, амилопектина - около 20 000 000.

Обе фракции крахмала дают окрашивание с иодом (амилоза - синее, амилопектин - красно-фиолетовое).

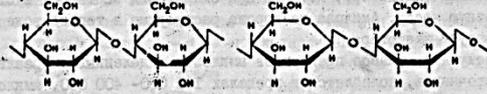
При гидролизе крахмала образуются промежуточные продукты - декстрины (амилодекстрины, эритродекстрины, ахродекстрины, мальтодекстрины).

Крахмал находит широкое практическое применение в медицине и многих отраслях промышленности (пищевой, текстильной, бумажной, кожевенной, фармацевтической и т.д.).

Гликоген (животный крахмал) - главный энергетический и углеводный резервный материал человека и животных. Однако он найден также в грибах, некоторых микроорганизмах, зернах кукурузы. Распадаясь до простых продуктов в процессе гликогенолиза, гликоген обеспечивает потребность организма в энергии для поддержания температуры тела, осуществления мышечного сокращения, протекания биохимических процессов и т.д.

Гликоген - это разветвленный полимер, образованный остатками  $\beta$ -D-глюкопиранозы, которая в линейных участках молекулы (8-12 мономерных звеньев) соединена  $\alpha$ -1,4-связями, а в точках ветвления -  $\alpha$ -1,6-связями. Молекулярная масса гликогена приближается к 10 000 000 - 1 000 000 000. Подобно крахмалу, гликоген дает цветную реакцию с йодом, причем тон окраски (красно-фиолетовый или красно-коричневый) свидетельствует, что гликоген ближе к амиллопектину, нежели к амилозе (что и подтверждает подобие их строения). В наибольшем количестве гликоген содержится в печени (10-20 процентов) и мышцах (до 4 процентов). В остальных органах содержание гликогена незначительно.

Целлюлоза (клетчатка) - наиболее широко распространенный структурный гомополисахарид растений. На ее долю приходится более 50 процентов всего органического углерода биосферы. Подобно амилозе имеет линейное строение, но в качестве мономеров выступают остатки  $\beta$ -D-глюкопиранозы, соединенные  $\beta$ -1,4-связями.



Фрагмент строения молекулы целлюлозы

Молекулярная масса целлюлозы точно не установлена, однако можно принять, что она колеблется от 300 000 до 10 000 000.

Длинные линейные молекулы целлюлозы обычно располагаются параллельно друг другу, между ними возникают водородные связи, образуются микрофибриллы. В виде микрофибрилл (которые "цементируются" другими полисахаридами, пектиновыми веществами или лигнином) целлюлоза образует клеточную стенку растений, имеющую многослойное строение.

Клетчатка не переваривается в желудочно-кишечном тракте человека, так как там нет ферментов, способных гидролизовать целлюлозу. У многих животных функция расщепления целлюлозы выполняют микроорганизмы пищеварительного тракта.

При гидролизе целлюлозы в присутствии фермента (целлюлазы), найденного у ряда бактерий, некоторых видов насекомых, плесневых грибов и в прорастающих семенах, образуется целлобиоза.

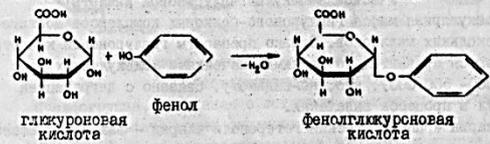
Глубокий гидролиз клетчатки приводит к образованию глюкозы.

Из других соединений этого класса углеводов наибольший интерес представляют кислые гетерополисахариды (мукополисахариды), в состав которых входят остатки аминокислот и гексуроновых кислот.

Аминосакхара - производные моносахаридов, у которых одна из спиртовых групп (чаще всего у второго атома углерода) замещена на аминогруппу. Наиболее важными из них в биологическом отношении являются гликоз- и галактозамин.

Аминосакхара встречается в слюне, мукоидах, хитине, соединительной ткани и т.д.

Из гексуроновых кислот наиболее распространена гексуронозная кислота. В свободном виде она служит для нейтрализации ядовитых продуктов (типа андала, скатола, фенола и других), образующихся в организме в результате обмена веществ, например:

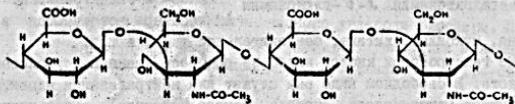


Важнейшими представителями кислых гетерополисахаридов (гликозаминогликанов) являются гиалуроновая кислота, гепарин, хондроитинсульфат.

Гиалуроновая кислота - важная составная часть соединительной ткани животных и человека. Наибольшее ее количество найдено в пупочном канатике, коже, стекловидном теле глаза, сухожилиях, хрящах, синовиальной (суставной) жидкости. В организме присутствует в свободном или ассоциированном с белками состоянии, образуя вязкие растворы. Гиалуроновая кислота служит биологическим цементом, заполняя пространства между клетками. Кроме того, сетка гиалуроновой кислоты в желе является своеобразным биологическим фильтром, задерживая микробные и иные

крупные молекулы, попадающие в организм. В ядах змеи и пчел, в некоторых бактериях, в сперме, в растущих опухолях содержится фермент гиалуронидаза, под влиянием которого гиалуроновая кислота быстро деполимеризуется (разрушается). Это способствует быстрому проникновению инфекции в организм, скапливанию воды и молекул в межклеточном пространстве (наступает отек) и другим артефактам.

Являясь гетерополисахаридом, гиалуроновая кислота содержит в своем составе две различные структурные единицы -  $\alpha$ -D-галактозамин и  $\beta$ -D-глицерононовую кислоту. Они соединены друг с другом в отношении 1:1 попеременно  $\beta$ -1,3- и  $\beta$ -1,4-гликозидными связями:



Участок молекулы гиалуроновой кислоты

Молекулярная масса гиалуронно-белковых комплексов достигает нескольких миллионов. Однако препараты гиалуроновой кислоты отличаются сравнительно низкими значениями молекулярных масс (270 000 - 500 000), что, по-видимому, связано с деградацией молекул в процессе выделения.

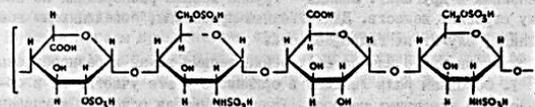
Гепарин - специфический гетерополисахарид - важнейший естественный антикоагулянт. Он принимает участие в обмене липидов (в комплексе с липопroteinазой расщепляет липиды), влияет на холестериновый обмен, является регулятором по отношению к ряду ферментов. Обычно присутствует на поверхности клеток, но является внутриклеточным веществом тучных клеток, в которых он синтезируется. Гепарин содержится в печени, легких, селезенке, крови и, вероятно, в других тканях и органах.

Основной повторяющейся единицей в молекулах гепарина служат, вероятно, тетрасахарид, содержащий остатки  $\alpha$ -2,6-дисульфо- $\alpha$ -D-галактозамина, 2-сульфо-L-аскорбиновой и  $\alpha$ -D-глицерононовой кислот, соединенных 1,4-связями.

Под действием ряда ферментов (гепариназа, сульфатаза, сульфогидролаза и другие) гепарин распадается до составляющих его

35

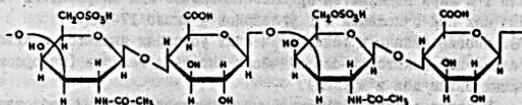
структурных элементов.



Структурное звено молекулы гепарина

В настоящее время используется в качестве стабилизатора крови при ее переливании, для лечения тромбозов, ожоговой болезни, сердечно-сосудистых заболеваний.

Хондроитинсульфаты - непременная составная часть хряща, костной ткани, сухожилий, сердечных клапанов и других подобных тканей. Структурными элементами хондроитинсульфатов являются  $\beta$ -D-глицерононовая кислота и  $\alpha$ -D-галактозаминсульфат, связанные попеременно  $\beta$ -1,3- и  $\beta$ -1,4-гликозидными связями:



Фрагмент молекулы хондроитин-6-сульфата (хондроитинсульфата С)

Сульфогруппа, связанная с остатком  $\alpha$ -D-галактозамина в хондроитинсульфате может занимать также 4-е положение (хондроитин-4-сульфат или хондроитинсульфат А). Есть и другие виды хондроитинсульфатов, отличающихся от указанных выше форм некоторыми деталями строения. Один из них - дерматансульфат (хондроитинсульфат В) - обладает антикоагулянтным действием, стабилизирует волокна коллагена.

Соединяясь в организме с гиалуронидазой, хондроитинсульфаты препятствуют расщеплению гиалуроновой кислоты и тем самым способствуют защите организма от инфекции.

#### Л и п и д ы

Липидами называют нерастворимые в воде органические соединения, которые содержатся в живых клетках и могут быть экстрагированы из них неполярными растворителями (хлороформом, ацетоном,

59

03

бензином и другими). Липиды – группа весьма разнородных по строению веществ. Единственным признаком, объединяющим все липиды, служит их гидрофобность.

Функции этого класса соединений весьма важны и разнообразны.

1. Основная роль липидов в организме – это участие их в образовании клеточных мембран. Будучи одним из основных компонентов биологических мембран (образуют двойной липидный слой, каждая из поверхностей которых покрыта молекулярным слоем белка), липиды влияют на их проницаемость, участвуют в передаче нервного импульса, создании межклеточных контактов. На мембране имеет место локализация многих ферментов и ферментных систем. Существует мнение, что липиды в этом случае обеспечивают высокоупорядоченное, ориентированное, гидрофобное окружение для определенных ферментативных реакций.

2. Липиды являются богатым источником энергии. Так, при окислении 1 г жира выделяется приблизительно 39 кДж энергии, в то время как при окислении 1 г углеводов – около 17 кДж.

3. Многие липиды в физиологических условиях являются растворителями для некоторых биологически активных веществ (жирорастворимых витаминов и других).

4. В связи с хорошо выраженными термоизоляционными свойствами липиды принимают самое активное участие в процессе терморегуляции, предохраняя организм от переохлаждения.

5. В виде жировой прокладки липиды выполняют и чисто механическую функцию. Они предохраняют от повреждений кровеносные сосуды и нервы, фиксируют некоторые внутренние органы (почки и другие).

6. Некоторые липиды (сфингомиелины, гликофосфолипиды) являются своеобразным электроизолирующим материалом в миелиновых оболочках нервов.

7. Жиры являются источником воды для организма. Так, при окислении 100 г жира образуется около 107 г воды (окисление такого же количества белков или углеводов приводит к образованию только 40–50 г воды).

8. Являясь липидами, все стероидные гормоны (кортикостероиды, половые гормоны) выполняют различные регуляторные функции.

9. Жиры, выделяемые кожными железами, служат смазкой для кожи (придавая ей эластичность), обеспечивают несмачиваемость перьев у птиц.

В зависимости от состава, строения и роли в организме все липиды можно разделить на простые и сложные.

Простые липиды представлены двухкомпонентными соединениями – сложными эфирами глицерина, высших и полициклических спиртов и высших карбоновых кислот. Среди простых липидов выделяют нейтральные жиры, стеролы и воска.

Нейтральные жиры – это сложные эфиры, образованные трехатомным спиртом глицерином и высшими карбоновыми кислотами. Если в молекуле глицерина этерифицированы все три гидроксогруппы, такие эфиры называют трицилглицеринами (триглицеридами):



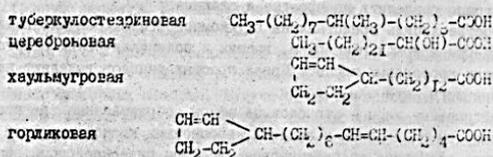
Номенклатура нейтральных жиров основывается на названиях кислот, входящих в их состав (тристеарин, олеопальмитостеарин и т.д.)

В составе природных жиров найдено несколько десятков различных жирных кислот. Все они отличаются друг от друга длиной углеводородной цепи и ее строением, числом и положением двойных связей, наличием различных группировок (гидрокси-, кето-, циклических и других). Важнейшими из них являются:

Насыщенные кислоты			
миристиная	$\text{СН}_3(\text{СН}_2)_2\text{СООН}$	пальмитиновая	$\text{СН}_3(\text{СН}_2)_{14}\text{СООН}$
капроновая	$\text{СН}_3(\text{СН}_2)_4\text{СООН}$	стеариновая	$\text{СН}_3(\text{СН}_2)_{16}\text{СООН}$
каприловая	$\text{СН}_3(\text{СН}_2)_6\text{СООН}$	арахиновая	$\text{СН}_3(\text{СН}_2)_{18}\text{СООН}$
каприновая	$\text{СН}_3(\text{СН}_2)_8\text{СООН}$	бегеновая	$\text{СН}_3(\text{СН}_2)_{20}\text{СООН}$
лауриновая	$\text{СН}_3(\text{СН}_2)_{10}\text{СООН}$	лигнопериновая	$\text{СН}_3(\text{СН}_2)_{22}\text{СООН}$
миристиновая	$\text{СН}_3(\text{СН}_2)_{12}\text{СООН}$	цериотиновая	$\text{СН}_3(\text{СН}_2)_{24}\text{СООН}$

Ненасыщенные кислоты	
пальмитолеиновая	$\text{СН}_3(\text{СН}_2)_5\text{-CH=CH-(СН}_2)_7\text{-СООН}$
олеиновая	$\text{СН}_3(\text{СН}_2)_7\text{-CH=CH-(СН}_2)_7\text{-СООН}$
эруковая	$\text{СН}_3(\text{СН}_2)_7\text{-CH=CH-(СН}_2)_{11}\text{-СООН}$
неролеиновая	$\text{СН}_3(\text{СН}_2)_7\text{-CH=CH-(СН}_2)_{13}\text{-СООН}$
линолевая	$\text{СН}_3(\text{СН}_2)_3\text{-CH}_2\text{-CH=CH-CH}_2\text{-(СН}_2)_7\text{-СООН}$
линоленовая	$\text{СН}_3(\text{СН}_2\text{-CH=CH})_3\text{-(СН}_2)_7\text{-СООН}$
арахидоновая	$\text{СН}_3(\text{СН}_2)_4\text{-(СН}_2\text{-CH=CH)}_4\text{-(СН}_2)_2\text{-СООН}$

Ненасыщенные кислоты

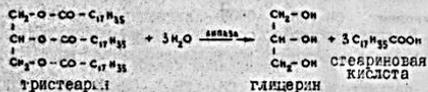


Присутствие в жирах большого количества ненасыщенных жирных кислот придает им жидкую консистенцию (растительные масла), особенно преимущественно насыщенных жирных кислот - твердую консистенцию (животные жиры). Жироты же жиры более разнообразны по набору высших карбоновых кислот, входящих в их состав.

В чистом виде жиры легче воды, не обладают летучестью (при высоких температурах разлагаются), в воде образуют эмульсии (в организме животных и человека роль эмульгатора выполняют желчные кислоты).

Среди триглицеридов различают простые и смешанные. Первые являются сложными эфирами глицерина и одной из высших кислот (например, триолеин), вторые построены из остатка глицерина и остатков разных карбоновых кислот (олеопальмитостеарин и т.д.). Природные жиры представляют собой смесь разнообразных триглицеридов, в которой преобладают смешанные триацетилглицерины.

При гидролизе жиров образуются жирные кислоты и глицерин. В живых организмах этот процесс катализируется липазой:



Гидролиз жиров под действием щелочей (или соды), называемый омылением, приводит к образованию глицерина и солей жирных кислот. При использовании в этом процессе гидроксида (или карбоната) натрия получают жидкие мыла, а при использовании гидроксида (или карбоната) натрия - твердые мыла.

По физиологическому значению жиры делят на резервные (запасные) и структурные (протоплазматические). Резервные жиры депонируются в жировых депо и затем расходуются по мере надобности.

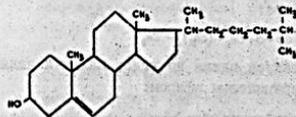
Содержание их варьирует в зависимости от условий питания, физиологического состояния организма. Протоплазматические жиры являются структурными элементами клеток и имеют постоянный химический состав. Содержатся в тканях в строго определенных количествах, не изменяющихся даже при патологическом ожирении.

При хранении жиры под действием света, кислорода и влаги приобретают неприятный вкус и запах. Этот процесс (прогоркание) обусловлен гидролизом жиров и окислением продуктов гидролиза, которое приводит к разрыву углеродной цепи (чаще всего по месту двойной связи ненасыщенных кислот) с образованием альдегидов и кислот с короткими цепями (типа масляной кислоты) с неприятным запахом и вкусом.

Жиры способны присоединять к себе при известных условиях водород, который присоединяется по месту ненасыщенных связей карбоновых кислот. Этот процесс получил название гидрирования. Гидрирование в значительной мере предохраняет жиры от прогоркания.

Стериды - сложные эфиры специфически построенных циклических спиртов (стеролов) и высших жирных кислот. Стериды входят в состав омыляемой фракции липидов.

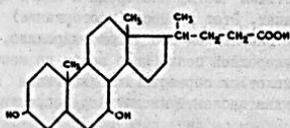
В природе гораздо более широко (чем стериды) представлена фракция неомыляемых, свободных стеролов (стеринов) и родственных им соединений, в основе строения которых лежит кольцо циклопентанпергидрофенантрена. Родоначальником значительного количества биологически важных соединений этой группы можно назвать холестерин:



В значительных количествах холестерин содержится в липидах нервной ткани, яиц и клетках спермы, печени, надпочечниках, стенках эритроцитов.

У животных и человека холестерин находится как в свободном состоянии, так и в виде сложного эфира с жирными кислотами (холестериды). Холестерин играет важную роль в биологических процессах: из него образуются женские и мужские половые гормоны, а также гормоны коры надпочечников; производные холестерина (эргостерин и другие) служат

материалом для построения витаминов группы D; при окислении боковой цепи холестерина в печени образуются желчные кислоты (холевая, дезоксихолевая, гликохолевая, таурохолевая и другие), обеспечивающие процесс эмульгирования и всасывания липидов в организме.



хенодезоксихолевая кислота

Есть данные об активации холестерином ферментов цикла трикарбоновых кислот.

Воска - сложные эфиры высших монокарбоновых кислот и высших спиртов жирного (реже ароматического) ряда. Природные воски помимо таких эфиров содержат некоторое количество свободных высших спиртов и кислот, углеводов, душистых и красящих веществ.

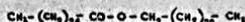
Пчелиный воск вырабатывается специальными железами рабочих пчел. По химическому составу это преимущественно пальмитиновомирициловый эфир:



Спермацет - воск животного происхождения, содержащийся в спермацетовом масле черепных полостей кашалота. Состоит в основном из пальмитиново-цетилового эфира:



Карнаубский воск вырабатывается одним из видов пальм и является в основном церотиново-мирициловым эфиром:



Воска выполняют в основном защитную функцию в организме. Они образуют защитную смазку на коже, шерсти и перьях, покрывают листья, стебли, плоды, семена, а также кутикулу внешнего скелета насекомых. Восковый налет предохраняет от смачивания, высыхания, проникновения микробов.

В отличие от нейтральных жиров воска более устойчивы к дей-

ствию света, окислителям, нагреванию, хуже гидролизуются.

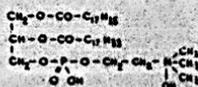
Сложные липиды имеют многокомпонентные системы, структурные элементы которых соединены химическими связями различных типов. Среди этой группы липидов важными являются фосфолипиды и гликолипиды.

**Фосфолипиды (фосфатиды)** - сложные эфиры многоатомных спиртов с высшими жирными кислотами, содержащие остатки фосфорной кислоты, соединенной сложной эфирной связью с какой-либо полярной группировкой (чаще всего азотсодержащей).

Фосфолипиды широко распространены в растительных и животных тканях, в микроорганизмах они являются преобладающей формой липидов. Содержатся практически только в клеточных мембранах и очень редко - в составе запасных отложений. Значительные количества фосфолипидов присутствуют в нервной ткани, печени и сердце человека и животных, в семенах растений, в яйцах птиц.

Среди фосфолипидов наибольшую биологическую значимость для организма проявляют фосфатидилхолины, фосфатидилэтаноламины, фосфатидилсерины, фосфатидилинозиты, фосфатидилацетат, фосфатидилглицерин и сфингофосфолипиды.

Фосфатидилхолины (холинфосфатиды, лецитины) содержат в своем составе остатки глицерина, двух высших жирных кислот (одна из которых часто ненасыщенная), фосфорной кислоты и аммоноспирта холина:

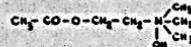


$\alpha$ -фосфатидилхолин ( $\alpha$ -лецитин)

Фосфатидилхолины в большом количестве содержатся в желтках яиц птиц, в мозговой ткани, семенах подсолнечника, бобах сои, зародках пшеницы, сперме, молоке, входят в состав липопротеидов крови, редко встречаются у бактерий. Азотистое основание (аминоспирт) холин может присутствовать в тканях и в свободном виде. Обладает высокой биологической активностью: является донором метильных групп в процессе синтеза различных соединений, стимулирует перистальтику кишечника. Соединяясь в организме с уксусной кислотой, образует ацетилхолин, который участвует в передаче нервного возбуждения.

При недостатке холина насл-

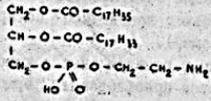
Фосфатидилхолины в большом количестве содержатся в желтках яиц птиц, в мозговой ткани, семенах подсолнечника, бобах сои, зародках пшеницы, сперме, молоке, входят в состав липопротеидов крови, редко встречаются у бактерий.



ацетилхолин

дается нарушение обмена веществ, в частности жировое перерождение печени.

Фосфатидилэтаноламин (коламинфосфатиды) по строению похожа на фосфатидилхолин, но вместо холина содержат аминокислоты этаноламин (коламин):

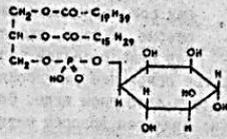


Δ-фосфатидилэтаноламин

Фосфатидилсерин по строению очень близки к рассмотренным выше фосфолипидам, но полярной группой у них является аминокислота серин (реже-треонин, тирозин, гидроксипролин):

Фосфатидилсерин распространены гораздо менее широко, чем фосфатидилхолин и фосфатидилэтаноламин. Их значение определяется в основном тем, что они участвуют в синтезе указанных групп фосфолипидов.

У фосфатидилинозитов полярной группой является остаток шестичленного циклического спирта инозита (или его фосфорпроизводных):

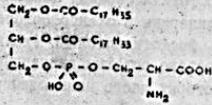


фосфатидилинозит

Фосфатидилинозиты найдены у животных, растений, микроорганизмов. Особенно высоко их содержание в миелиновых оболочках нервных волокон спинного мозга, в сердце, печени. Как считают, они играют важную роль в функциональной деятельности нервной системы. Фосфатидилинозиты представляют интерес как возможные предшественники простагландинов - важнейших регуляторов метаболизма.

В молекулах фосфатидилглицерина отсутствуют азотистые ос-

фосфатидилглицерин сопутствуют в тканях фосфатидилхолином. Физиологическая роль их сводится к участию в образовании внутриклеточных мембран и осуществлению процессов, протекающих в нервной ткани.



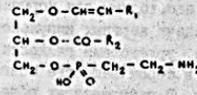
Δ-фосфатидилсерин

Фосфатидилсерин

вания (характерные для фосфолипидов), место которых занимает глицерин (или его производные):

Фосфатидилглицерин найдены в некоторых бактериальных мембранах в форме глино-кислотных производных. Предполагают, что они принимают участие в обмене веществ хлоропластов, служат их структурными элементами, а также могут выполнять роль запасного материала.

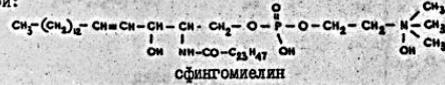
Фосфатидаль (плазмалогены) отличаются от других глицерофосфолипидов тем, что вместо одного из остатков жирной кислоты, содержит остаток ненасыщенного спирта, образующего простую эфирную связь:



фосфатидаль

Сфингофосфолипиды содержат те же компоненты, что и глицерофосфолипиды, но вместо глицерина включают двухатомный ненасыщенный аминокислотный сфингозин.

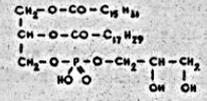
Самыми распространенными сфинголипидами являются сфингомиелины, построенные из остатков сфингозина, жирной, фосфорной кислоты и холина. В сфингомиелинах жирная кислота (лигноцереновая или нервоновая) соединяется с аминокислотом не эфирной связью, а пептидной:



сфингомиелин

Сфингофосфолипиды обнаружены в мембранах растительных и животных клеток, в составе липидов крови. Особенно богата ими нервная ткань.

Гликолипиды - сложные липиды, в состав молекул которых входят



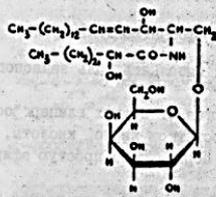
фосфатидилглицерин

Плазмалогены содержатся во всех тканях организма человека. Особенно много их в мембранах нервных клеток, мышц, в эритроцитах. В тканях некоторых беспозвоночных они составляют около четверти общего количества глицерофосфолипидов.

РЕПОЗИТОРИЙ ГГУ ИМ. П. П. СМЫСЛОВА

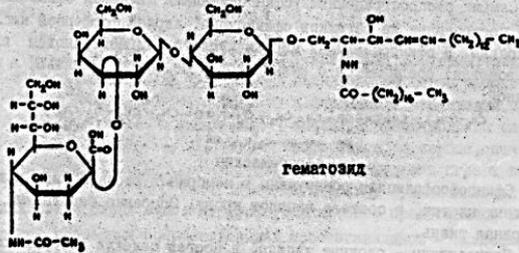
углеводные остатки (чаще D-галактозы или ее производных), фосфорная кислота в них отсутствует. Важнейшими среди гликолипидов являются цереброзиды и ганглиозиды.

Цереброзиды содержат в своем составе остатки аденозина, гексозы и жирной кислоты. Наиболее известными представителями цереброзидов являются цереброн, содержащий цереброновую кислоту, кераллин, в состав которого входит лимноцеривная кислота, и нервоин, содержащий нервоновую кислоту.



Цереброн

Ганглиозиды - очень сложные, богатые углеводными гликолипиды. В отличие от цереброзидов находятся в сером веществе мозга, на внешней поверхности клеточных мембран. В ганглиозиде обнаружены D-глюкоза, L-галактоза, N-ацетилглюкозамин, N-ацетилгалактозамин и N-ацетилдиаминовая кислота. В настоящее время описано более 20 различных ганглиозидов. Одним из простейших ганглиозидов является геметозид, выделенный из стромы эритроцитов:



Геметозид

Ганглиозиды вовлечены в процесс приема сигналов, поступающих в клетки. Они активно участвуют в контроле и регуляции межклеточных контактов, рецепции пептидных гормонов, серотонина, некоторых вирусов и бактериальных токсинов. Ганглиозиды обладают высокой тканевой специфичностью и выступают в роли антигенов клеточной поверхности.

СОДЕРЖАНИЕ

Введение .....	3
Химический состав организма .....	5
Белки: Химическая структура, физико-химические и биологические свойства .....	6
Методы выделения и очистки белков .....	13
Фракционирование белковых смесей .....	13
Молекулярная масса белков .....	15
Форма белковых молекул .....	15
Критерии чистоты белка .....	15
Классификация белков. Характеристика отдельных групп простых и сложных белков .....	17
Нуклеиновые кислоты: строение, свойства, биологиче- ские функции .....	23
Выделение нуклеиновых кислот .....	23
Химический состав нуклеотидов .....	24
Молекулярная масса, содержание и локализация нуклеиновых кислот в организме .....	26
Строение нуклеиновых кислот .....	26
Первичная структура нуклеиновых кислот .....	30
Вторичная структура нуклеиновых кислот .....	31
Структурная организация нуклеиновых кислот высшего порядка .....	32
Свойства нуклеиновых кислот .....	32
Функции нуклеиновых кислот .....	33
Биосинтез белков .....	35
Первичная структура белка .....	38
Вторичная структура белка .....	40
Третичная структура белка .....	41
Четвертичная структура белка .....	42
Регуляция белкового синтеза .....	43
Углеводы .....	45
Моносахариды .....	47
Стереизомерия моносахаридов .....	50
Мутаротация .....	51
Дисахариды .....	52
Полисахариды .....	54
Липиды .....	59

Степан Федорович Алезко,  
Георгий Анатольевич Сазонов

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

(Белки. Нуклеиновые кислоты. Углеводы. Липиды)

Тексты лекций

Часть I

Редактор Е.Ф.Зайцева

Подписано в печать 22.03.88.

Формат 60x84 1/16. Бумага писчая № 1. Печать офсетная.

Усл.п.л.4,09. Уч.-изд.л. 3, 2. Тираж 200 экз. Заказ 113.

Цена 11 к.

Отпечатано на роталпринте ГГУ, г.Гомель, ул.Советская, 104.

РЕПОЗИТОРИЙ ГГУ ИИ