

12. Обмен веществ.

Обмен веществ и превращение энергии — основа жизнедеятельности клетки.

Для химических реакций, протекающих в клетке, характерны высокая организованность и упорядоченность: каждая реакция протекает в строго определенном месте. Ферменты располагаются в один слой на мембранах митохондрий и эндоплазматической сети в том порядке, в котором идут реакции. В клетке обнаружено до 2 тыс. ферментов, осуществляющих разнообразные химические реакции. Выделяют два типа реакций: синтеза и расщепления.

12.1 Распад и окисление органических веществ в клетках (диссимиляция).

Энергетический обмен в клетке и его сущность.

Сложные вещества распадаются в клетке на более простые, высокомолекулярные — на низкомолекулярные. Белки распадаются на аминокислоты, крахмал — до глюкозы, а далее — до еще более простых соединений и, наконец, — до CO₂ и H₂O. Эти реакции с высвобождением энергии. Совокупность реакций расщепления называется энергетическим обменом клетки (или диссимиляцией). Ассимиляция и диссимиляция находятся между собой в неразрывной связи. Совокупность всех ферментативных реакций клетки, т.е. совокупность пластического и энергетического обменов (ассимиляции и диссимиляции), связанных между собой и с внешней средой, называется обменом веществ и энергии. Этот процесс является основным условием поддержания жизни клетки, источником ее жизни и развития.

12.1.1 Генерация, трансформация, аккумуляция, транспорт и использование энергии.

Значение ATP в энергетическом обмене.

12.1.1.1 Свойства ATP.

Аденозинтрифосфорная кислота (ATP) является нуклеотидом. Она играет важную роль в энергетике клетки. ATP содержится в каждой клетке животных и растений. Количество ATP колеблется и в среднем составляет 0,04% (на сырую массу клетки). Наибольшее количество ATP содержится в скелетных мышцах — 0,2–0,5%. ATP состоит из азотистого основания (аденин), пентозы (рибоза) и фосфорной кислоты. ATP отличается от других нуклеотидов тем, что содержит не одну, а три молекулы фосфорной кислоты. Это очень неустойчивая структура: под влиянием фермента в ATP разрывается связь между Р и О и к освободившимся связям присоединяется одна или две молекулы воды и отщепляется одна или две молекулы фосфорной кислоты. При отщеплении одной молекулы фосфорной кислоты ATP переходит в ADP (аденозиндифосфорную кислоту), а при отщеплении двух молекул фосфорной кислоты ATP переходит в AMP (аденозинмонофосфорную кислоту). Реакция отщепления каждой молекулы фосфорной кислоты сопровождается высвобождением энергии: при гидролитическом отщеплении двух концевых фосфатных групп выход свободной энергии на каждую из них составляет около 30,6 кДж, тогда как при отщеплении третьей фосфатной группы ATP выделяется только 13,8 кДж. Принято говорить, что ADP и ATP содержат богатые энергией (высокоэнергетические или макроэнергические) связи (их часто обозначают знаком ~). Это название неверно, поскольку энергия этих связей, как таковая, не отличается от прочих связей в молекуле. Правильнее говорить, что соответствующая группа обладает высоким потенциалом переноса куда-либо (в случае фосфата — на воду), в процессе которого эта энергия и выделяется (благодаря изменению упорядоченности системы, перераспределению зарядов и тд). Таким образом, в ATP имеется две группы, обладающие высоким потенциалом переноса на воду. Гидролиз ATP под влиянием фермента происходит следующим образом: ATP + H₂O → ADP + H₃PO₄. Аденозинтрифосфат мобилен и может доставлять энергию в любую часть клетки. В реакциях с участием ATP постоянно происходит отщепление фосфорного участка и его присоединение, т.е. ATP является связующим звеном между дыханием и процессами, требующими затраты энергии, при этом фосфатные группы непрерывно отщепляются и заменяются новыми. Основной синтез ATP происходит в митохондриях, на синтез ATP из ADP затрачивается энергии (поглощается) около 40 кДж (или 10 000 ккал) на грамм/моль, т.е. энергия снова переходит в форму ATP. Под «энергией» здесь понимается общая энергия системы, складывающаяся из энергий химических связей, степени неупорядоченности (хаотичности) системы, гидрофильных и гидрофобных взаимодействий (перераспределение и изменение количества водородных, ионных, гидрофобных связей).

12.1.1.2 Синтез ATP путем субстратного фосфорилирования.

Иногда субстрат реакции устроен так, что энергии, выделяемой при его превращении (более 8 ккал/моль), хватает на фосфорилирование ADP. Такие реакции дважды встречаются в цитоплазматическом гликолизе и 1 раз — в митохондриальном цикле трикарбоновых кислот (цикл

Клетка: основные химические компоненты

Кребса). Путем субстратного фосфорилирования образуется ATP у анаэробных организмов. Эффективность субстратного фосфорилирования невысока (остаются достаточно крупные неизрасходованные продукты, в которых остается значительная часть энергии и атомов углерода, которые можно было бы использовать).

12.1.1.3 Синтез ATP посредством окислительного фосфорилирования.

Образование ATP происходит главным образом в митохондриях, за что их называют "силовыми станциями" клетки. В клетках человека, многих животных и некоторых микроорганизмов главным поставщиком энергии для синтеза ATP является глюкоза. Расщепление глюкозы в клетке, в результате которого происходит синтез ATP, осуществляется в две следующих друг за другом стадии: первую называют гликолизом (греч. "glycos" - сладкий, "lysis" - расщепление) или бескислородным расщеплением, вторую - кислородным расщеплением. Подготовительный этап расщепления заключается в том, что крупные молекулы белков, углеводов, жиров и нуклеиновых кислот распадаются на более мелкие: из крахмала образуется глюкоза, из жиров - глицерин и жирные кислоты, из белков - аминокислоты, из нуклеиновых кислот - нуклеотиды. При таком распаде выделяется незначительное количество энергии, которая рассеивается в виде тепла. Оксилителем субстратов является кислород, за счет чего образуется трансмембранный разность потенциалов, при использовании которой синтезируется ATP.

12.1.2 Расщепление нуклеиновых кислот.

Нуклеиновые кислоты расщепляются до нуклеотидов, а последние - до мочевой кислоты, углекислого газа и аммиака. Поступившие извне нуклеотиды для собственных синтезов никогда не используются.

12.1.3 Расщепление белков.

Белки расщепляются на аминокислоты в желудке (пепсин) и в тонком кишечнике (трипсин, химотрипсин, эластаза). В цитоплазме аминокислоты превращаются в друг друга и используются для последующих синтезов, в органические кислоты (предшественники сахаров) и предшественники липидов.

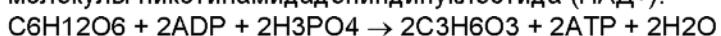
12.1.4 Расщепление липидов.

Расщепление липидов на глицерин и жирные кислоты происходит под действием фосфолипаз в тонком кишечнике. Продукты поступают в клетки, где используются для синтезов или направляются в митохондрии, где происходит распад жирных кислот до углекислого газа и воды с передачей электронов на НАДН.

12.1.5 Расщепление углеводов.

РАСПРОСТРАНЕННЫЙ В УЧЕБНИКАХ ВАРИАНТ:

Глюкоза - один из основных источников энергии для всех клеток. Бескислородное расщепление глюкозы (гликолиз) осуществляется ступенчато с участием многих ферментов. C₆H₁₂O₆ последовательно расщепляется до двух трехуглеродных молекул (C₃H₆O₃) органических кислот, содержащих карбоксильную группу (COOH), характерную для органических кислот. При этом она теряет четыре атома водорода, т.е. происходит окисление глюкозы. Акцептором водорода служат молекулы никотинамидадениндинуклеотида (НАД⁺):



Гликолиз - процесс сложный, многоступенчатый, происходящий с участием различных ферментов. В результате каждой реакции происходит небольшое изменение вещества, но в итоге из молекул шести-углеродной глюкозы образуются две молекулы двух углеродной органической кислоты. В результате каждой реакции освобождается небольшое количество энергии, а в сумме получается внушительная величина - 200 кДж/моль. Одна часть этой энергии (60%) рассеивается в виде теплоты, а другая часть (40%) сберегается в форме ATP. Для наглядности можно произвести следующий небольшой подсчет: всего в ходе бескислородного расщепления одной грамм-молекулы глюкозы освобождается 200 кДж (50 000 г/кал). На образование одной связи, богатой энергией, при превращении грамм-молекулы ADP в ATP затрачивается 40 кДж (10 000 г/кал). В ходе гликолиза образуется две такие связи, значит, в энергию двух грамм-молекул ATP переходит 2·40 кДж (2·10 000 = 20 000 г/кал). Итак, из 200 кДж (50 000 г/кал) только 80 кДж (20 000 г/кал) сберегается в виде ATP, а 120 кДж (30 000 г/кал) рассеивается в виде тепла. Следовательно, в ходе гликолиза только 40% энергии сберегается клеткой.

Процесс гликолиза происходит также у всех животных клеток и у некоторых микроорганизмов. Хорошо известно молочнокислое брожение (при скисании молока), вызываемое молочнокислыми грибками и бактериями. По механизму оно вполне тождественно гликолизу. Спиртовое брожение

Клетка: основные химические компоненты

также сходно с гликолизом. Большая часть реакций гликолиза и брожения совпадает полностью. Различие состоит лишь в том, что на заключительной стадии при гликолизе процесс заканчивается образованием молочной кислоты, а при брожении появляется еще одно звено. Из молочной кислоты под влиянием фермента, содержащегося в дрожжах, выделяется CO₂ и образуется этиловый спирт:



Таким образом, суммарное уравнение спиртового брожения выглядит так:



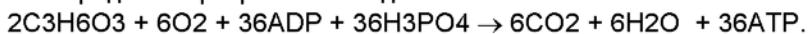
Ни в брожении, ни в гликолизе кислород не участвует, поэтому их называют бескислородными процессами. Каждая реакция сопровождается, как указывалось выше, выделением небольшого количества энергии. Если бы энергия, освобождающаяся при превращении глюкозы в молочную кислоту, выделилась бы сразу, в результате одной реакции, то это привело бы к опасному перегреву и повреждению клетки. Постепенное выделение энергии предохраняет клетку от теплового повреждения. Энергия в процессе гликолиза запасается не только в виде ATP, но и в таких промежуточных продуктах, как НАД.Н (никотинамидадениннуклеотид). НАД в процессе гликолиза восстанавливается до НАД.Н, поскольку является акцептором водорода. Энергия, запасенная в НАД.Н, используется для получения ATP.

В кислородном процессе (окислении) участвуют ферменты, вода, окислители, переносчики электронов и молекулярный кислород - это вторая стадия энергетического обмена. Непременное условие - неповрежденные митохондриальные мембранны. Конечный продукт гликолиза - трехуглеродная органическая кислота - вступает в цикл превращений, называемый циклом Кребса (цикл трикарбоновых кислот). Трикарбоновые кислоты образуются в цикле как промежуточные продукты и все превращения осуществляются в митохондриях. Под влиянием ферментов трехуглеродная органическая кислота вступает в реакцию с водой и полностью разрушается:

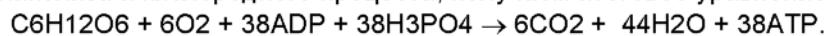


Оксид углерода (CO₂) свободно проходит через мембранны митохондрии и удаляется в окружающую среду. Атомы водорода переносятся в мембранны, где под влиянием ферментов окисляются, т.е. теряют электроны: H⁰ - e⁻ → H⁺. Электроны и катионы водорода H⁺ (протоны) с помощью молекул-переносчиков переправляются в противоположные стороны: электроны - на внутреннюю сторону мембранны, где они соединяются с кислородом (молекулярный кислород непрерывно поступает в митохондрии из окружающей среды), который после этого присоединяет H⁺. Другие катионы H⁺ транспортируются на наружную сторону мембранны. Таким образом внутри митохондрии увеличивается концентрация анионов с отрицательным зарядом, а снаружи накапливаются катионы H⁺ с положительным зарядом, поскольку мембра на для них непроницаема. Поэтому внутри мембра на имеет отрицательный заряд, а снаружи - положительный, растет разность потенциалов. Если разность потенциалов на мембране достигает некоторого критического уровня (порядка 200 мВ), то положительно заряженные частицы проталкиваются через канал в молекуле фермента, синтезирующего ATP, и переходят на внутреннюю сторону мембранны, где, взаимодействуя с кислородом, образуют воду.

При прохождении электронов от атомов водорода (H) к кислороду (O₂) и катионов H⁺ через канал синтезирующего ATP фермента освобождается значительная энергия, 45% которой рассеивается в виде тепла, а 55% сберегается, т.е. преобразуется в энергию химических связей ATP (образуется 36 молекул ATP вместо 2 молекул ATP при гликолизе). Суммарное уравнение реакций кислородного процесса выглядит так:



При расщеплении глюкозы образуются главным образом молекулы НАД.Н и ФАД.Н₂ (ФАД - флавинадениндинуклеотид), от которого электроны по многоступенчатой цепи переноса электронов перемещаются к конечному их акцептору - молекулярному кислороду. Это - цепь процессов окисления-восстановления. В результате этих процессов освобождающаяся энергия используется для фосфорилирования ADP в ATP (этот процесс называется окислительным фосфорилированием; он открыт в 1931 г. выдающимся русским биохимиком В.А.Энгельгардом). В сумме кислородное расщепление дает громадную величину освобождающейся энергии - 2600 кДж (650.000 г/кал) на две молекулы трехуглеродной органической кислоты. Суммируя уравнения гликолиза и кислородного процесса, получаем итоговое уравнение:



Это уравнение показывает, что в результате полного расщепления глюкозы образуются конечные продукты - вода и оксид углерода, а самое главное - 38 молекул ATP, в которых запасается большая часть (55%) энергии, освобождается при распаде 1 г/мол глюкозы. Если провести небольшой расчет, то получается, что в ходе кислородного расщепления из 650 000 г/кал на синтез 36 молекул ATP пошло 360 000 г/кал, а оставшиеся 290 000 г/кал выделяются в виде тепла.

Клетка: основные химические компоненты

Если сравнить эти величины с запасанием энергии при гликолизе в виде двух молекул АТР (20 000 г/кал) и выделением (30 000 г/кал), то видно явное преимущество кислородного процесса расщепления, при котором большая часть энергии, высвобождающейся при расщеплении глюкозы, запасается в виде АТР, т.е. 36 молекул АТР. Таким образом, кислородный процесс расщепления почти в 20 раз эффективнее бескислородного. Кроме того, синтез АТР при бескислородном расщеплении происходит без участия мембран, а при кислородном процессе наличие мембран является непременным условием, поскольку только на мембране происходит разделение противоположно заряженных частиц, обуславливающих разность потенциалов. И еще: в цикле преобразования трикарбоновых кислот образуется СО₂, а в цепи переноса электронов - вода. Эти же продукты образуются при сжигании органического топлива. Однако при сжигании органического топлива вся освобождающаяся энергия переходит в теплоту, а при расщеплении глюкозы в клетке в теплоту переходит около 45% освободившейся энергии, а большая часть - 55% - сберегается в виде АТР. Состав продуктов горения непостоянен, он меняется в зависимости от соотношения окисляемого вещества и кислорода, зависит от температуры и других условий. Дыхание в клетке происходит в результате высоко упорядоченного процесса ряда последовательных ферментативных реакций, а образование СО₂ при горении происходит в результате прямого присоединения кислорода к углероду. Поэтому даже в самых совершенных машинах КПД не превышает максимума - 45%, но при этом энергия расходуется полностью и не происходит ее запасания (все попытки создания "перпетуум мобиле" заканчиваются неудачей - энергия поступает извне и расходуется полностью при сжигании, выделяясь в виде тепла). При дефиците кислорода или полном его отсутствии в клетках происходит анаэробный гликолиз. Существуют организмы, обитающие в бескислородной среде, например, черви, паразитирующие в кишечнике, некоторые простейшие и микробы. Эти организмы лишены ферментов, позволяющих им осуществлять кислородное расщепление органических веществ. Они удовлетворяют свою потребность в энергии с помощью лишь малоэффективного бескислородного расщепления, в результате которого образуются лишь две молекулы АТР. Благодаря этому даже человек может обходиться короткое время без кислорода. Следует указать на следующее: помимо углеводов, гликолизу и кислородному расщеплению подвергаются некоторые жирные кислоты и аминокислоты с образованием АТР.

МОЙ ВАРИАНТ:

ОСНОВНАЯ ФУНКЦИЯ МИТОХОНДРИЙ: окисление органических соединений и использование освобождающейся при распаде этих соединений энергии для синтеза молекул АТФ. В качестве начальных субстратов используются различные углеводы, жирные кислоты, аминокислоты и т.д.

ОБМЕН УГЛЕВОДОВ.

1. ПЕРВЫЙ ПОДГОТОВИТЕЛЬНЫЙ ЭТАП - ГИДРОЛИЗ (внеклеточный).

Сначала крахмал, гликоген, олигосахариды расщепляются до моносахаридов во рту и в тонком кишечнике при помощи а-амилаз (секретируются слюнными железами и пажелудочной желзой). В ворсинках тонкого кишечника происходит активное поглощение моносахаридов в кровь. Далее моносахариды переносятся к клеткам, переходят из кровяного русла (капилляров) в тканевую (межклеточную) жидкость, а потом - в клетки.

2. ВТОРОЙ ПОДГОТОВИТЕЛЬНЫЙ ЭТАП - ГЛИКОЛИЗ (цитоплазматический).

В гиалоплазме происходят начальные процессы окисления углеводов, не требующие участия кислорода. Они называются анаэробным окислением углеводов (гликолизом). Главные субстраты гликолиза - гексозы (глюкоза), некоторые бактерии могут окислять пентозы, жирные кислоты и т.д.

В глюкозе количество потенциальной энергии, заключенной в связях между атомами С, Н, и О, составляет около 680 ккал/моль (на 180 г глюкозы, или 1 моль). Эта энергия освобождается при полном окислении глюкозы по суммарной реакции: $C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \rightarrow 6H_2O + 6CO_2 + 680$ ккал. Освобождение энергии идет в виде ступенчатого процесса, управляемого целым рядом окислительных ферментов, связанных взаимной регуляцией, и сопряжено с переходом энергии в макроэргическую связь, синтезирующуюся при фосфорилировании АДФ до АТФ.

В процессе гликолиза происходит неполное окисление субстрата. в результате гликолиза глюкоза распадается до двух одинаковых триоз. Конечными триозами, в зависимости от метаболического состояния клетки, могут быть пировиноградная кислота (пируват) либо молочная кислота (лактат). На двух начальных ключевых этапах гликолиза расходуется 2 молекулы АТФ на одну молекулу глюкозы. После распада глюкозы на две промежуточные триозы в ходе двух завершающих этапов гликолиза на каждую из триоз образуется одна

Клетка: основные химические компоненты

молекула АТФ (всего 4 АТФ на одну исходную молекулу глюкозы). Таким образом, в результате гликолитического превращения одной молекулы глюкозы в две молекулы пирувата либо лактата запасается 2 молекулы АТФ. В качестве побочного продукта на одну молекулу глюкозы образуется 2 молекулы NADH (восстановительные эквиваленты от него могут поступать в митохондрии и использоваться для кислород-зависимого синтеза АТФ). Суммарный энергетический выход гликолиза мал (освобождается менее 10% потенциальной энергии), однако целиком за счет гликолиза живут эритроциты млекопитающих (не имеют митохондрий), кишечные паразитические простейшие и аскариды (неоткуда доставать кислород для дыхания, т.е. для аэробного окисления углеводов).

3. АЭРОБНОЕ ОКИСЛЕНИЕ УГЛЕВОДОВ.

Образованные в результате гликолиза триозы (пируват) активно транспортируются через внутреннюю мембрану митохондрий в матрикс, где вовлекаются в 10-этапный **цикл трикарбоновых кислот**, называемый иначе **циклом Кребса** или **циклом лимонной кислоты**.

Перед входом в цикл Кребса молекула пирувата теряет молеклу CO_2 и, окисляясь до ацетата, соединяется с коферментом A, образуя **ацетил-КоА**. С окислением пирувата сопряжено восстановление связанной с ферментом молекулы FAD до FADH_2 . FADH_2 затем окисляется обратно до FAD, восстанавливая свободный NAD^+ до NADH (первый NADH за счет одного пирувата). Эти превращения происходят на большом полиферментном комплексе, в котором в качестве коферментов работают тиаминпирофосфат (производное витамина B_1), липоевая кислота (витамин N), FAD (производное витамина B2).

Молекула ацетил-КоА (C2) далее соединяется со щавелевоуксусной кислотой (C4), образуя цитрат (лимонную кислоту -C6). Цитрат на двух промежуточных этапах цикла Кребса теряет по одной молекуле CO_2 и снова превращается в щавелевоуксусную кислоту, замыкая цикл.

При последовательном окислении цитрата на трех этапах цикла от молекулы отделяются восстановительные эквиваленты (H^+ и пара электронов) и переносятся на NAD^+ с образованием NADH (всего 4 NADH за счет одного пирувата), а на одном из этапов происходит перенос восстановительных эквивалентов на FAD с образованием FADH_2 (один FADH_2 за счет одного пирувата).

На одном из промежуточных этапов цикла происходит образование ГТФ из ГДФ. Этот процесс называется **субстратным фосфорилированием** (в отличие от окислительного фосфорилирования, оно не зависит от окисления субстратов дыхательной цепи и генерации потенциала на мембране). ГТФ может затем передавать терминальную фосфатную группу молекуле АДФ с образованием конвертируемой формы энергии - АТФ.

Коферменты, принявшие на себя восстановительные эквиваленты (NADH & FADH_2), могут передавать их **комплексам дыхательной цепи** (цепи переноса электронов) внутренней мембранны митохондрий.

Дыхательная цепь митохондрий состоит из четырех сложных ферментных комплексов, содержащих коферменты - переносчики электронов (флавопротеиды, железо-серные кластеры, цитохромы коэнзим Q₁) и системы транспорта протонов через мембрану. NADH, окисляясь до NAD^+ , передает 2 электрона первому комплексу дыхательной цепи, откуда они поступают на третий, а потом - на четвертый комплексы. FADH_2 , окисляясь до FAD, передает электроны второму комплексу дыхательной цепи, с которого они последовательно переходят на третий и четвертый комплексы.

Электроны, перемещаясь в плоскости мембраны по комплексам дыхательной цепи, последовательно теряют часть своей энергии, которая используется на перемещение пары протонов (2H^+) первым, третьим и четвертым комплексами из митохондриального матрикса в межмембранные пространство. Благодаря этому, на каждую молекулу NADH, окислившуюся на первом комплексе дыхательной цепи, снаружи оказываются 6H^+ , а на каждый FADH_2 - 4H^+ . При окислении одной молекулы цитрата были образованы 4NADH и 1FADH_2 , значит, наружу было выведено $6\text{H}^+ \cdot 4 + 4\text{H}^+ \cdot 1 = 28\text{H}^+$.

Внутренняя мембрана митохондрий обладает контролируемой проницаемостью для заряженных веществ (они могут проходить сквозь мембрану только при помощи специальных белков-переносчиков, таких как комплексы дыхательной цепи или АТФ-синтетаза). Положительные

Клетка: основные химические компоненты

заряды протонов, накапливаясь в межмембранном пространстве, создают электрохимический потенциал (200-300 мВ).

Электроны, потерявшие большую часть своей энергии, на четвертом комплексе дыхательной цепи (цитохром, содержит Fe & Cu) обезвреживаются, восстанавливая молекулы кислорода до воды. На каждые 2 пары электронов, пришедшие к четвертому комплексу, и одной молекулы кислорода получаются две молекулы воды. Соли синильной кислоты (цианиды) необратимо инактивируют четвертый комплекс.

Суммарная реакция, катализируемая комплексами дыхательной цепи, может быть представлена как кислород-зависимое окисление субстратов (NADH и FADH₂), сопровождающееся генерацией трансмембранных электрохимического потенциала протонов, положительного снаружи внутренней мембраны митохондрий. Поскольку все реакции в дыхательной цепи сопряжены, то увеличение потенциала до некоторой пороговой величины вызовет, согласно принципу Ле-Шателье (ингибирование реакции её продуктами), прекращение окисления субстратов и потребления кислорода (дыхания). С другой стороны, инактивация дыхательной цепи ядами также приведет к остановке митохондриального дыхания, окисления субстратов и генерации потенциала.

Создание трансмембранного потенциала необходимо для синтеза АТФ на АТФ-синтетазном комплексе внутренней мембраны митохондрий. Комплекс может попарно транспортировать протоны в матрикс из межмембранных пространства, то есть, по градиенту (в сторону уменьшения) электрохимического потенциала протонов. Энергия, получаемая комплексом во время переноса протонов, используется на матриксной стороне АТФ-синтетазы для фосфорилирования АДФ. Синтез АТФ митохондриями называется **окислительным фосфорилированием**, поскольку он происходит за счет расхода потенциала, создание которого сопряжено с кислород- зависимым окислением субстратов дыхательной цепи.

ТЕОРИЯ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКОГО СОПРЯЖЕНИЯ П. Митчелла (1966).

Перечисленные выше события, приводящие к синтезу АТФ, были представлены в виде логически обоснованной, а позже экспериментально подтвержденной гипотезы, согласно которой "протонный градиент, созданный дыхательной цепью при отсутствии свободной проницаемости внутренней мембраны митохондрий для протонов, может служить движущей силой синтеза АТФ в ходе окислительного фосфорилирования".

РАСЧЕТ СУММАРНОГО ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ВЫХОДА АЭРОБНОГО ОКИСЛЕНИЯ УГЛЕВОДОВ.
На одну молекулу окисленного в цикле Кребса пирувата образуется 1 молекула АТФ (при субстратном фосфорилировании), а наружу выводится по 28H^+ . На каждую пару протонов, вернувшихся в матрикс, синтезируется одна молекула АТФ. Таким образом, на одну молекулу пирувата удается получить по $28/2+1=15$ молекул АТФ. Поскольку из одной молекулы глюкозы образуется 2 молекулы пирувата, то аэробное окисление глюкозы приводит к образованию 30 молекул АТФ

Напомним, что при гликолитическом расщеплении одной молекулы глюкозы до 2-х молекул пирувата в качестве побочного продукта были образованы 2 молекулы NADH. Молекула NADH не может пройти через внутреннюю мембрану митохондрий, но может передавать в матрикс свои восстановительные эквиваленты посредством системы сопряженных челночных переносчиков. В зависимости от конкретного вида этих членков, на каждую молекулу цитоплазматического NADH внутри оказывается либо 1NADH, либо 1FADH₂. Поскольку окисление 2 NADH или 2 FADH₂ в дыхательной цепи позволяет синтезировать 6 или 4 молекулы АТФ, соответственно, суммарный энергетический выход аэробного окисления одной глюкозы может быть увеличен до 36 или 34 молекул АТФ.

Итого, с учетом полученных при гликолизе 2-х молекул АТФ, при полном окислении одной молекулы глюкозы получается 38 или 36 молекул АТФ (в зависимости от типа челночных переносчиков восстановительных эквивалентов NADH внутри матрикса).

На синтез АТФ из АДФ расходуется 12500 кал/моль. Таким образом, в результате гликолиза запасается 25 000 кал/моль глюкоза, а при окислении в цикле Кребса - 450 000 кал/моль. Полное окисление оной молекулы глюкозы позволяет запастись 475 ккал/моль.

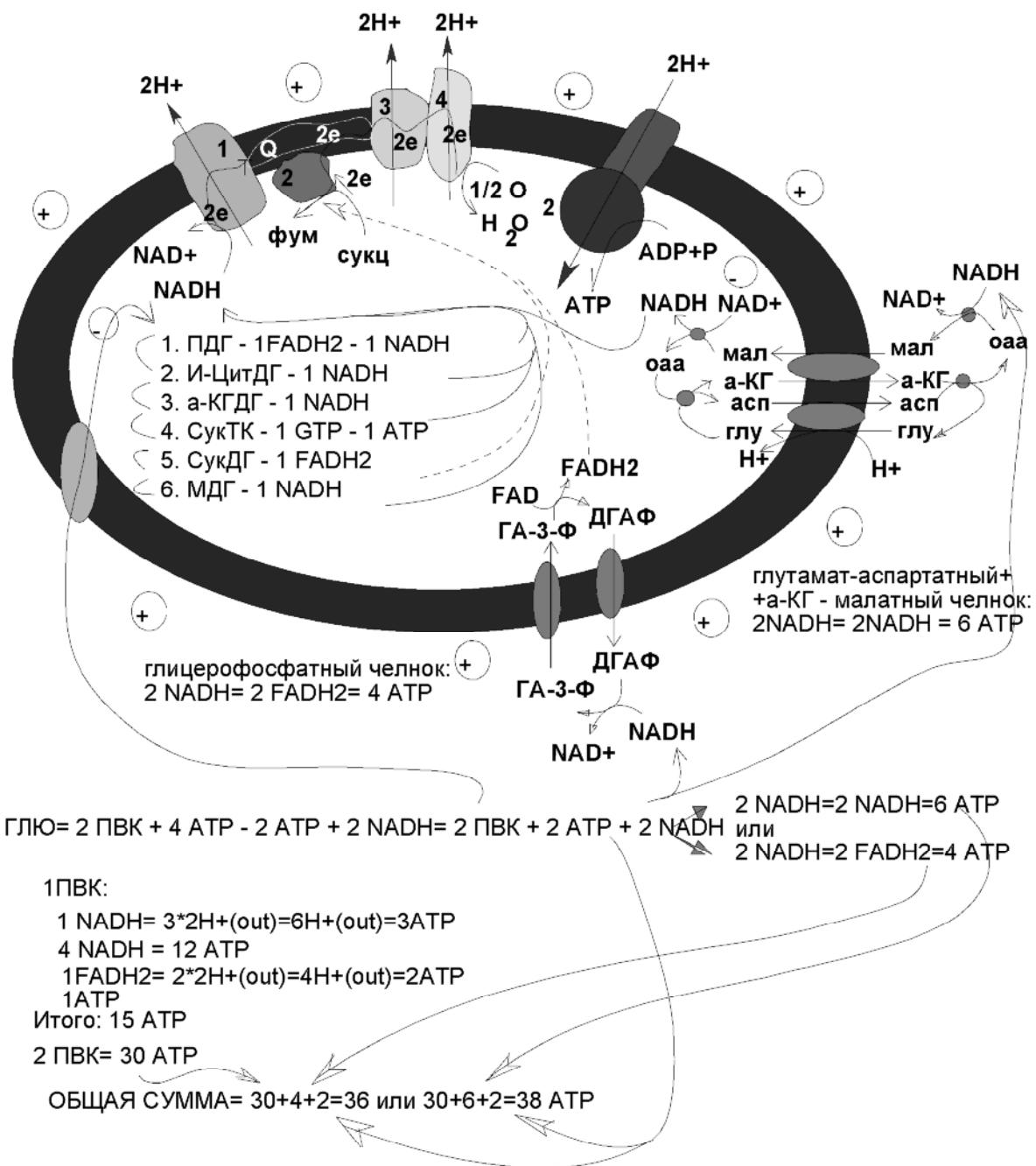


Таблица 53.2. Теплота сгорания и энергия, усваиваемая из главных пищевых источников. (Adapted from Davidson S. et al. Human Nutrition and Dietetics, 7th ed. Churchill Living-stone, 1979.)

Энергия, ккал/г (кДж/г)		
теплота сгорания (бомбовый калориметр)	окисление человека	у стандар тные факторы конверсии
Белки	5,4 (22,6)	4,1 (17,2)
Жиры	9,3 (38,9)	9,3 (38,9)
Углеводы	4,1 (17,2)	4,1 (17,2)
Этанол	7,0 (30,0)	6,8 (29,6)

^a Факторы конверсии получают путем округления данных о теплоте сгорания и внесения в них поправки на эффективность всасывания.

^b Окисление белков с поправкой на потерю аминогрупп, выделяющихся с мочой.

12.2 Синтез органических соединений в клетках (ассимиляция). Особенности пластического обмена.

Совокупность реакций биологического синтеза (биосинтеза) органических веществ из неорганических называется пластическим обменом, или ассимиляцией (лат. "симилис" - сходный, подобный). Из простых веществ образуются более сложные, из низкомолекулярных - высокомолекулярные. Синтезированные вещества используются для построения разных частей клетки, ее органоидов, секретов, ферментов, запасных веществ. Пластический обмен наиболее интенсивно идет в растущей клетке; во взрослой клетке постоянно происходит синтез веществ для замены молекул, израсходованных или разрушенных при повреждениях.

12.2.1 Автотрофные и гетеротрофные клетки.

По способу получения органических соединений все клетки делятся на две группы. Одна группа клеток способна к синтезу органических веществ из неорганических (CO_2 , H_2O и др.) - синтезируются аминокислоты, глюкоза, а затем и более сложные соединения: белки, жиры, углеводы и т.д. Поэтому клетки, способные к синтезу органических веществ из неорганических, называются (автотрофными или автотрофами). Главными автотрофами являются клетки зеленых растений, водорослей и некоторых микроорганизмов. Клетки, не способные к синтезу органических веществ из неорганических и нуждающиеся поэтому в доставке готовых органических веществ извне, называются гетеротрофными клетками (или гетеротрофами). Клетки всех животных, человека, большинства микроорганизмов, грибов являются гетеротрофами.

12.2.2 Хемосинтез

Некоторые виды бактерий, как указывалось ранее, также способны синтезировать органическое вещество. Кроме фотосинтезирующих бактерий, существуют и хемосинтезирующие бактерии. Хемосинтез осуществляется за счет энергии, выделяющейся при химических реакциях окисления различных неорганических соединений: водорода, сероводорода, аммиака, оксида железа (II) и др. Энергия окисления также запасается в виде АТР (этот процесс открыл С. Н. Виноградский в конце XIX в.). Хемосинтез осуществляют серобактерии, железобактерии, нитрифицирующие бактерии, азотфикссирующие бактерии. Серобактерии обитают в водоемах, вода которых содержит сероводород. При окислении сероводорода выделяется свободная сера, которая накапливается в клетках бактерий в виде крупинок. При недостатке сероводорода в клетках бактерий происходит дальнейшее окисление содержащейся в них свободной серы до серной кислоты. Образовавшаяся энергия в обоих случаях используется для синтеза органического вещества из углекислого газа. Колossalное количество серобактерий имеется в Черном море, в котором на глубине более 200 м (а в некоторых местах почти на поверхности) вода насыщена серобактериями. Нитрифицирующие бактерии добывают себе энергию путем окисления аммиака и азотистой кислоты. Поэтому они играют большую роль в круговороте азота в природе. Нитрифицирующие бактерии обитают в почве и в различных водоемах. Аммиак, образующийся при гниении белков, окисляется нитрифицирующими бактериями сначала до азотистой кислоты, а затем (уже другой группой бактерий) - до азотной кислоты. Все эти процессы идут с выделением энергии, используемой для синтеза органических веществ.

В почве широко распространены водородокисляющие бактерии. Водород постоянно образуется при анаэробном (бескислородном) разложении органических остатков микроорганизмами почвы. Хемосинтезирующие бактерии, окисляющие соединения железа и марганца (как и нитрифицирующие бактерии), также открыл С.Н.Виноградский. Они чрезвычайно широко распространены как в пресных, так и в морских водоемах. Благодаря жизнедеятельности этих бактерий на дне болот и морей образуется большое количество отложений руд железа и марганца. Роль азотфикссирующих бактерий, обитающих в почве, весьма важна для повышения урожайности, так как в результате их жизнедеятельности азот (N_2), находящийся в воздухе, недоступный для усвоения растениями, превращается в аммиак (NH_3), который хорошо или усваивается.

12.2.3 Синтез нуклеиновых кислот. Матричные процессы. Ген и его роль в биосинтезе.

Матричный синтез — специфическая особенность живых организмов.

С теорией матричной репродукции хромосом впервые выступил в 20-х годах отечественный зоолог Н.К. Кольцов.

•Матрица — образец, по которому формируется копия.

•Матричный синтез - синтез по матрице.

•Обеспечивается точность воспроизведения копии.

Клетка: основные химические компоненты

• Иногда возникают ошибки — мутации. (Например, если на шестом месте в двух из четырех цепей гемоглобина будет глютаминовая кислота вместо валина, это приведет к нарушению структуры)

- **ГЕН**- наследственный фактор, функционально неделимая единица генетического материала; участок ДНК (у некоторых вирусов - РНК), кодирующий первичную структуру полипептида, молекулы тРНК, рРНК или взаимодействующий с регуляторным белком (**ген-оперон**). Совокупность генов данной клетки или данного организма составляют его **генотип**. **Локус** - место в хромосоме, в котором находится ген данного признака. У человека есть от 40 000 до 100 000 генов (на одну хромосому приходится от 2 000 до 4 000 генов).
 - **Генетический код**
 - устанавливает взаимоотношения между последовательностью **триплетов** (троек нуклеотидов) гена и последовательностью аминокислот в белке;
 - универсален для прокариот и эукариот;
 - считывается триплетами от 3' к 5'-концу при помощи РНК-полимеразы, которая синтезирует комплементарную гену мРНК в направлении 5'-3'.
 - **АЛЛЕЛЬ** - одно из возможных структурных состояний гена. Любое изменение структуры гена в результате мутаций или за счет внутригенных рекомбинаций у гетерозигот по двум мутантным аллелям приводит к появлению новых аллелей данного гена (число аллелей практически неисчислим). Термин "аллель" предложен Иоганнесоном В. (1909 г.). Распространенные в природных популяциях аллели, обусловливающие развитие признаков, характерных для вида, называют **аллели дикого типа**, а происходящие от них - **аллели мутантного типа**.
 - **АЛЛЕЛЬНЫЕ ГЕНЫ** - вызывают появление альтернативных признаков. Одна из гомологичных хромосом эукариот (диплоидов) несет аллель, полученный от материнского организма, а другая - от отцовского. Аллели могут быть **доминантными** (подавляют действие других аллелей данного признака, в результате чего доминантный признак проявляется в первом поколении гибридов от гомозиготных родителей с доминантным и рецессивным аллелями) или **рецессивными** (не способны проявлять свое действие в присутствии другого альтернативного аллеля данного признака). Поэтому в каждом организме появление признака связано с действием двух аллельных генов. Различные аллели одного гена могут приводить к одинаковым или различным фенотипическим эффектам, что послужила основанием для представлений о множественном аллелизме.
 - Наличие нескольких аллелей каждого гена в популяциях
 - обеспечивает определенный уровень генетического полиморфизма (к примеру, три аллеля соответствующих антигенов (A, B, O) обуславливают существование четырех групп крови у человека (ОО-1 группа, АО-2 группа, ВО-3 группа, АВ-4 группа);
 - способствует комбинативной изменчивости (закон Менделя о независимом наследовании признаков), которая служит исходным материалом для эволюционных преобразований.
 - **АНТИГЕНЫ** - вещества, которые воспринимаются организмом как чужеродные и вызывают специфический иммунный ответ, способны взаимодействовать с продуктами этого ответа - **антителами** (иммуноглобулинами) и иммуноцитами.
 - **ФЕНОТИП** - частный случай реализации генотипа в конкретных условиях, в фенотипе не реализуются все генетические возможности. Однозначного соответствия между фенотипом и генотипом нет: изменения генотипа не всегда сопровождаются изменениями фенотипа, и наоборот. В процессе микрэволюции отбор идет по фенотипам особей. Поэтому при отсутствии генотипической изменчивости отбор по фенотипу не дает результатов, т.е. не закрепляется в потомстве.
 - **ТЕСТ НА АЛЛЕЛИЗМ (ЦИС-ТРАНС ТЕСТ)**.
 - Проверяет альтернативность или не-альтернативность признаков.
 - Метод генетического анализа, позволяющий определить принадлежность двух рецессивных мутаций со сходным генотипическим проявлением, к одному или к разным генам.
 - ЦИС-ТЕСТ: получают гибриды (гетерокарионы), в которых обе исследуемые мутации привнесены одним из родителей, тогда как в хромосоме другого родителя содержатся нормальные аллели. В любом случае фенотип будет диким. Тест используют для контроля доминантной функции дикого типа.
- $$\frac{(M1, M2)}{(+, +)}$$
 ИЛИ
$$\frac{(M1), (M2)}{(+), (+)}$$
- ТРАНС-ТЕСТ: тест на комплементарность, функциональный тест на аллелизм.

Клетка: основные химические компоненты

- Получают гибриды (гетерокарионы), у которых две исследуемые мутации находятся на разных гомологичных хромосомах (транс-положение) и анализируют их фенотип (у каждого из родителей была своя мутация).
- Если разные мутации были у родителей в одинаковых генах, у гетерозиготы не будет аллелей дикого типа, поэтому проявляется мутантный фенотип.
$$\begin{array}{c} (\text{M1}, +) \\ \hline (+, \text{M2}) \end{array}$$
- Если мутации были в разных генах, то у гетерозиготы каждый из родителей обеспечивает по одной копии дикого типа - проявляется дикий фенотип.
$$\begin{array}{c} (\text{M1}), (+) \\ \hline (+), (\text{M2}) \end{array}$$
- О таких генах говорят, что они **комплементируют** друг друга.

• ТИПЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ГЕНОВ.

1. КОМПЛЕМЕНТАЦИЯ - совместное действие двух генов в доминантном или гетерозиготном состоянии, приводящее к появлению нового признака. Межаллельная комплементация свойственна всем генам, контролирующим структуру белков, состоящих из идентичных субъединиц, и в основе её лежит взаимное исправление по-разному дефектных субъединиц при их объединении в молекулу мультимера. Отсутствие явления комплементации мутаций, расположенных в гомологичных хромосомах, указывает на то, что мутации находятся в одном гене.

• ЦИСТРОН (более узкое понятие, чем ГЕН)

- участки цистрона (экзоны) определяют последовательности аминокислот в кодируемых ими белках.
- группа комплементации, все части которой должны быть дикого типа и находиться в одной хромосоме;
- единица мутации, рекомбинации и функции.

2. ЭПИСТАЗ - гены одной аллельной пары подавляют действие генов другой аллельной пары.

- Пример: леггорны с белыми перьями. ген C- предопределяет синтез меланина; ген c - отсутствие меланина; ген I- подавляет действие гена C.
- Птицы с генотипами Ic, ic, IC, имеют белые перья, а iC - черные.

12.2.3.1 Репликация ДНК.

Большое число водородных связей обеспечивает прочное соединение нитей ДНК и придает молекуле устойчивость, сохраняя в то же время ее подвижность - под влиянием ферментов она легко раскручивается. Под влиянием фермента двойная спираль ДНК начинает раскручиваться с одного конца, и на каждой цепи их находящихся в окружающей среде свободных нуклеотидов собирается новая цепь. Сборка новой цепи идет в точном соответствии с принципом комплементарности: против каждого А встает Т, против Г - Ц и т.д. Синтез новой ДНК идет благодаря деятельности фермента ДНК-полимеразы. ДНК только задает порядок расположения нуклеидов, а процесс репликации - удвоения - осуществляет белок - фермент. В результате вместо одной молекулы ДНК возникают две молекулы точно такого же нуклеотидного состава, как и первоначальная ДНК. Одна цепь ДНК в каждой вновь образовавшейся молекуле ДНК происходит из первоначальной молекулы, а другая синтезируется вновь. Поскольку раскручивание спиралей, состоящих из многих миллионов пар нуклеотидов, сопряжено с большим количеством вращений и огромными энергетическими затратами, которые невозможны в условиях клетки, то репликация начинается одновременно в нескольких местах молекулы ДНК (к тому же ДНК-полимераза может двигаться только по раскрученным "материнским" нитям и использовать их в качестве матрицы для безошибочного синтеза "дочерних" цепей). Синтез новых цепей ДНК фрагментами называется прерывистым. Важную роль играет слаженность взаимодействия множества белков, участвующих в процессе репликации. Процесс удвоения ДНК происходит в клетке незадолго перед ее делением.

РЕПЛИКАЦИЯ=РЕДУПЛИКАЦИЯ=КОПИРОВАНИЕ=УДВОЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИНФОРМАЦИИ=СИНТЕЗ ДНК
РЕПЛИКАЦИЯ И КЛЕТОЧНЫЙ ЦИКЛ.

- Инициация репликации неизбежно влечет за собой дальнейшее деление эу- и прокаротической клетки. Число потомков клетки определяется серией принимаемых клеткой решений, инициировать репликацию ДНК или нет.

Клетка: основные химические компоненты

- Если репликация началась, то до ее завершения последующее деление не может произойти.
- Завершение репликации может служить сигналом для клеточного деления. Дуплицированные геномы сегрегируют по одному в каждую дочернюю клетку. У эукариот это происходит во время митоза, у прокариот - других механизм.

РЕПЛИКОН

- единица, с помощью которой клетка контролирует отдельные акты репликации.
- каждый репликон возбуждается в клеточном цикле только 1 раз.
- в репликоне должны присутствовать:
 - ОРИДЖИН-точка начала репликации
 - ТЕРМИНУС-точка окончания репликации.
- любая последовательность нуклеотидов, не отделенная от точки начала точкой окончания, реплицируется как часть этого репликона.
- однажды начавшись, репликация продолжается до тех пор, пока весь репликон не будет дуплицирован.
- количество репликонов на хромосому:
 - БАКТЕРИИ: 1 - единицы репликации и сегрегации равны.
 - ЭУКАРИОТЫ: единица сегрегации включает в себя много единиц репликации. Многочисленные репликоны активируются неодновременно, по мере их роста они сливаются.

ВИДЫ РЕПЛИКАЦИИ.

1. ОДНОНАПРАВЛЕННАЯ.

Вдоль ДНК движется 1 репликационная вилка

2. ДВУНАПРАВЛЕННАЯ.

Вдоль ДНК от точки начала в противоположных направлениях расходятся 2 репликационные вилки.

3. D-ПЕТЛЕЙ (КАТЯЩЕЕСЯ КОЛЬЦО).

Катящееся кольцо порождает мультимерный одноцепочечный конец, который может быть превращен в двухцепочечную ДНК путем синтеза комплементарной цепи.

Примеры: митохондрии ксенопуса - длинная D-петля.

митохондрии млекопитающих - 1 D-петля

- ДНК митохондрий млекопитающих имеет отдельные точки начала для репликации каждой из цепей.
- Синтез одной цепи ведет к вытеснению исходной (внешней) цепи и образованию D-петли.
- D-петля расширяется.
- Вытесняемая цепь распространяется за точку начала репликации второй цепи.
- Начинается синтез комплементарной цепи.
- Образуются 2 кольца:
 - двойное замкнутое (внутренняя старая цепь и внешняя новая)
 - молекула с брешью, где кольцо пока одинарное (неполная цепь)
- Неполное кольцо становится полным за счет синтеза комплементарной цепи.
- Разрывы зашиваются

ХАРАКТЕРИСТИКИ СИНТЕЗА ДНК

1. ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНЫЙ

- Нуклеотиды присоединяются 5'-фосфатной группой к 3'-ОН группе дезоксирибозы.

2. ПОЛУКОНСЕРВАТИВНЫЙ

- От одного поколения к другому передается одна из двух родительских цепей.

3. ПОЛУНЕПРЕРЫВНЫЙ.

- В связи с антипараллельной структурой двух цепей дуплексной ДНК возникает проблема их репликации. При движении репликационной вилки дочерние цепи должны синтезироваться на обеих родительских цепях. Вилка перемещается в направлении от 5' к 3' концу на одной цепи и от 3' к 5' концу на другой. Однако нуклеиновые кислоты синтезируются только в направлении от 5' к 3' концу, то есть в направлении против движения репликационной вилки для второй цепи. Противоречие разрешается благодаря тому, что удвоение ДНК на каждой из цепей организовано по-разному.

- Ведущая цепь (3'-5'): на ней синтез может идти в направлении 5'-3'.

Клетка: основные химические компоненты

- **Отстающая цепь (5'-3')**: имеет раскрытый одноцепочечный участок родительской ДНК, на которой последовательно синтезируется серия прерывистых **фрагментов Оказаки** в направлении от 5' к 3' концу. Эти фрагменты затем соединяются друг с другом и образуют непрерывную дочернюю цепь, общее направление роста которой идет от 3' к 5' концу.

РЕПЛИКАЦИЯ ДНК КАК МНОГОСТУПЕНЧАТЫЙ ПРОЦЕСС.

1. ИНИЦИАЦИЯ и ЭЛОНГАЦИЯ.

а). У кольцевых одноцепочечных ДНК:

Одноцепочечные ДНК фагов могут иметь шпильку-праймер на кольцевой молекуле. Последовательность нуклеотидов одной половины шпильки комплементарна последовательности другой цепи шпильки, так что одноцепочечная ДНК закручена сама на себя. Белок SSB покрывает перед началом репликации кольцевую одноцепочечную ДНК и растягивает шпильку. Фермент-праймаза синтезирует РНК-затравку из 29 оснований, которая комплементарна одной цепи шпильки, при этом шпилька разрушается (вместо праймазы может работать РНК-полимераза). ДНК-полимераза синтезирует вторую цепь ДНК, присоединяя нуклеотиды к 3'-концу шпильки. РНК-затравка вырезается, цепь ДНК наращивается до полной длины, оставляя только разрез, который зашивается ДНК-лигазой.

б). У кольцевых двухцепочечных ДНК:

Белок A узнает место начала репликации по специфической последовательности нуклеотидов и в этом месте разрезает одну из цепей. Механизм репликации проходит по типу " катящегося кольца". К 3'-концу разрыва ДНК-полимераза присоединяет новые нуклеотиды, комплементарные последовательности целой цепи и вытесняет разорванную новосинтезированную цепь, которая стабилизируется белком SSB и на которой идет синтез фрагментов Оказаки.

в). У линейных двухцепочечных молекул ДНК:

Инициация происходит на определенных участках (точка ori), которые узнает ДНК-хеликаза, способная расплетать двойную цепь. Белок B связывается в участках ori с матрицей лидирующей цепи и при помощи фермента-праймазы (РНК-полимеразы) образует комплекс-праймосому, которая синтезирует праймер (затравку) ведущей цепи, состоящий из РНК, комплементарной цепи ДНК. 3'-конец РНК-праймера используется праймазой для инициации фрагмента ДНК, дальнейшая элонгация (удлинение) которого производится холоферментом ДНК-полимеразы III. Удаление праймеров производит ДНК-полимераза I, которая затем застраивает бреши. После инициации праймера лидирующей цепи в сайте ori белок B перемещается в противоположном направлении и последовательно обеспечивает инициацию праймеров запаздывающей цепи, выполняя функции мобильного промотора (участка инициации репликации) фрагментов Оказаки. На запаздывающей цепи праймеры элонгируются ДНК-полимеразами III, ДНК-полимеразы I удаляют праймеры из готовых фрагментов Оказаки, ДНК-лигазы зашивают разрывы цепи.

2. ТЕРМИНАЦИЯ.

В геномах бактерий могут быть специальные участки полинуклеотидной цепи- *терминаторы*. В генах эукариот смежные репликоны ориентированы противоположно, после завершения репликации их реплики, т.е. синтезированные комплементарные нити, сливаются. Размеры репликонов эукариот - от 30000 до 300000 п.о. Высокая скорость репликации обеспечивается образованием большого числа репликационных вилок на месте смежных противонаправленных сайтов ori. После прохождения репликационной вилки формируются две новые двойные спирали, восстанавливается нуклеосомная структура.

Репарация крупных повреждений ДНК (бреши более 100 п.о.) осуществляется ДНК-полимеразой II.

12.2.3.2 Транскрипция РНК.

Все виды РНК синтезируются на ДНК, служащей своего рода матрицей.

Любая живая клетка способна синтезировать белки, особенно интенсивно в период роста и развития. Дочерняя клетка синтезирует такие же белки, какие синтезировала материнская клетка. Следовательно, способность к синтезу белка передается по наследству от клетки к клетке и сохраняется ею в течение всей жизни. Основная роль в определении структуры белка принадлежит ДНК, разные участки которой определяют синтез различных белков. Одна молекула ДНК участвует в синтезе нескольких десятков белков. Каждый участок ДНК, определяющий синтез одной молекулы белка, называется геном. Каждый ген - участок двойной спирали ДНК, на котором содержится информация о структуре определенного белка. Молекулы ДНК растений и животных содержатся в хромосомах ядра и отделены ядерной мембраной от цитоплазмы, в которой осуществляется синтез белков на рибосомах. Из ядра в цитоплазму к рибосомам высыпается и-РНК, считываемая по принципу комплементарности с ДНК под влиянием фермента РНК-

Клетка: основные химические компоненты

полимеразы. Процесс списывания (считывания), или синтез РНК, называется транскрипцией (лат. "trans criptio" - переписывание). Информационная РНК - однократная молекула, ее транскрипция идет с одной нити двунитевой ДНК. Длина каждой молекулы и-РНК в сотни раз короче нити ДНК. Сущность кода ДНК состоит в том, что каждой аминокислоте соответствует участок цепи ДНК из трех рядом стоящих нуклеотидов.

Например, участок Т-Т-Т соответствует аминокислоте лизину, А-Ц-А - цистеину, Ц-А-А - валину и т.д. В ДНК находится 4 разных нуклеотидов, а наименьшей структурной единицей гена является триплет нуклеотидов. Поэтому число возможных комбинаций из 4 элементов по 3 равно 64. Разных же аминокислот 20. Таким образом, различных триплетов нуклеотидов с избытком хватает для кодирования всех аминокислот.

В настоящее время код ДНК расшифрован полностью. Для каждой аминокислоты точно установлен состав кодирующих ее троек нуклеотидов - триплетов (кодонов). В коде ДНК каждая аминокислота во многих случаях закодирована не одним триплетом, а несколькими: двумя, четырьмя и даже шестью, что, как полагают, повышает надежность хранения и передачи наследственной информации. Из 64 триплетов, 3 - УАЛ, УАГ и УГА - не кодируют аминокислоты. Эти триплеты (УАЛ, УАГ, УГА) - сигналы окончания синтеза полипептидной цепи, что объясняется тем, что в ряде случаев на и-РНК осуществляется синтез нескольких полипептидных цепей. Для отделения их друг от друга используются эти триплеты. В полинуклеотидной цепи ДНК выделяют различные функциональные участки - гены:

- структурные гены, в которых закодирована информация для синтеза ферментных и структурных белков;
- гены с информацией для синтеза т-РНК;
- гены с информацией для синтеза р-РНК;
- специфические регуляторные участки - промоторы и операторы;
- разделяющие участки между генами - спайсеры;
- участки с неизвестной функцией.

У эукариот генетический материал распределен по хромосомам, у бактерий и вирусов - в геноме или плазмidaх (у некоторых вирусов - в РНК). У крупных вирусов и бактерий гены расположены последовательно, как и у эукариотов. Они отделены друг от друга спайсерами. Кроме того, имеются участки, "распознаваемые" отдельными молекулами (такие, как промотор и оператор), для регуляции активности генов. У эукариот помимо структурных генов, которые и здесь расположены в хромосомах линейно, существуют участки с повторяющимися последовательностями.

Синтез и-РНК на одной из нитей ДНК происходит по принципу комплементарности: против ГДНК встает ЦРНК, против ЦДНК - ГРНК, против АДНК - УРНК (в РНК вместо нуклеотида с азотистым основанием Т присутствует нуклеотид с азотистым основанием У), против ТДНК - АРНК. В результате образующаяся цепочка и-РНК представляет собой точную копию второй цепи, и информация, содержащаяся в гене, как бы переписывается на и-РНК. Затем молекулы и-РНК направляются к рибосомам, на которых происходит синтез белка. Туда же из цитоплазмы поступают аминокислоты, доставляемые т-РНК. Поскольку в построении белков участвуют 20 аминокислот, то существуют не менее 20 разных т-РНК. В ряде мест цепочки т-РНК имеются 4-7 последовательных нуклеотидных звеньев, комплементарных друг другу. Здесь образуются водородные связи. Образуется сложная петлистая структура, похожая на цветок клевера. У его верхушки расположен триплет нуклеотидов, комплементарных нуклеотидам кодона и-РНК, их называют антикодонами. У ножки "листа клевера" находится участок, связывающий аминокислоту. Нуклеотидный состав кодовых триплетов т-РНК комплементарен нуклеотидному составу триплетов и-РНК. Например, кодовый триплет аланиновой т-РНК - ЦГА (в и-РНК ему комплементарен триплет ГЦУ), а кодовый триплет валиновой т-РНК - ЦАА (в и-РНК ему комплементарен триплет ГУУ).

ТРАНСКРИПЦИЯ=СИНТЕЗ РНК

- Транскрипция - процесс, посредством которого заключенная в ДНК генетическая информация копируется в одиночные цепи РНК.
- Единицы транскрипции несут информацию о структуре одного или нескольких белков. Участок ДНК, в котором заключена информация о структуре одного белка, называется **цистроном** или **структурным геном**.
- Регуляция транскрипции осуществляется благодаря наличию в ДНК специальных регуляторных участков.

ТРАНСКРИПЦИЯ У ПРОКАРИОТ

ОПЕРОН= последовательность нуклеотидов ДНК, ограниченная **промотором** и **терминатором**, кодирующая одну мРНК (мРНК может нести информацию о нескольких белках) и контролируемая **оператором**.

ПРОМОТОР=специфическая консервативная последовательность нуклеотидов ДНК на одной из цепей (на кодирующей цепи, вторая цепь-замыкающая), обеспечивающая более прочное связывание РНК-полимеразного комплекса с кодирующей нитью ДНК, чем любая другая последовательность.

Эта последовательность называется "Блок Прибнова" и состоит из нуклеотидного мотива ТАТААТ.

ОПЕРАТОР=участок ДНК между промотором и областью структурных генов (может перекрываться с промотором). Связывает **репрессоры** - белки, усиливающие или ослабляющие связывание РНК-полимеразы с промотором. Белки-репрессоры способствуют или препятствуют передвижению РНК-полимеразы от промотора в область структурных генов. Репрессоры могут удаляться с оператора **белком-регулятором**, кодируемым **геном-регулятором**, активность которого может контролироваться репрессорами, а может быть независимой.

ЛИДЕРНАЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ (ЛИДЕРНАЯ ЗОНА)= может располагаться в некоторых оперонах между оператором и структурными генами. Лидерная последовательность транскрибуируется, но не транслируется. На копии лидерной зоны в мРНК располагаются **участок связывания рибосомы** и **аттенюатор**. (АТТЕНЮАТОР-= участок мРНК с палиндромной последовательностью нуклеотидов, перед которым следует несколько кодонов для тРНК, транспортирующих редкие незаменимые аминокислоты. Если этих аминокислот нет, то рибосома притормаживает, отстает от РНК-полимеразы, а палиндром успевает превратиться в **шпильку** - стоп-сигнал для рибосомы.)

ТРИ СТАДИИ ТРАНСКРИПЦИИ.

1. ИНИЦИАЦИЯ: связывание РНК-полимеразы с ДНК.

- Белок "**сигма-фактор**" контролирует связывание РНК-полимеразы с ДНК таким образом, что сродство РНК-полимеразы к промоторному участку ДНК повышается, а ко всем остальным участкам - понижается. Благодаря этому время взаимодействия спонтанно перемещающейся РНК-полимеразы с не-промоторными участками ДНК сильно уменьшается, тогда как время связывания с промоторными участками значительно увеличивается. В результате, **комплекс РНК-полимеразы с сигма-фактором** на не-промоторных участках не успевает сформировать открытый комплекс с ДНК, а на промоторных - успевает. При этом на участках промоторов происходит плавление двойной спирали ДНК и в результате происходит прочное связывание комплекса РНК-полимеразы и сигма-фактора с кодирующей цепью ДНК (с нее будет происходить транскрипция). (Открытый комплекс холофермента и ДНК менее стабилен в условиях высокой ионной силы и низкой температуры, тогда как для закрытого комплекса все наоборот.)
- Таким образом, РНК-полимераза, связанная с сигма-фактором, находит промоторный участок ДНК методом проб и ошибок. Инициация заканчивается формированием **тройного комплекса** между **холоферментом** (РНК-полимераза без сигма-фактора), ДНК и **затравки** синтезирующейся РНК, состоящей из двух рибонуклеотидов, связанных 5'-3'-fosfodiэфирной связью, и содержащих азотистые основания, комплементарно подобранные к двум основаниям кодирующей цепи ДНК. Первый нуклеотид затравки РНК содержит все три 5'-фосфатных остатка (последующие нуклеотиды присоединяются за счет энергии, выделяемой при отщеплении двух фосфатов, а поэтому содержит один фосфат). Сразу же после формирования тройного комплекса сигма-фактор покидает РНК-полимеразу.

2. ЭЛОНГАЦИЯ: синтез одной цепи РНК, комплементарной кодирующей цепи ДНК.

- После удаления сигма-фактора от РНК-полимеразы последняя вновь приобретает способность связываться с не-промоторными участками ДНК. Однако РНК-полимераза в составе тройного комплекса оченьочно связана с ДНК и обречена перемещаться по ней до тех пор, пока не закончится элонгация, поскольку диссоциировать она не может до тех пор, пока не произойдет **терминация** транскрипции.
- Участок матрицы, ассоциированный с РНК-полимеразой, составляет около 60 нуклеотидов. Область расплетенного участка=12-17 нуклеотидов, гибридный комплекс ДНК-РНК имеет длину 12 пар нуклеотидов. В пределах участка 60 нуклеотидов происходит расплетение цепей ДНК, присоединение новых рибонуклеотидов к конечному участку гибрида, освобождение РНК из гибрида и закручивание цепей ДНК.

Клетка: основные химические компоненты

- В составе РНК-полимеразы есть два иона Zn^{2+} . Рибонуклеотиды поступают в участок элонгации в форме хелатных комплексов Mg^{2+} -нуклеотид-трифосфат.
- Энергия отщепления пирофосфата от нуклеозидтрифосфата используется для присоединения 5'-фосфатной группы нуклеотида к 3'-ОН группе рибозы последнего нуклеотида синтезируемой цепи РНК.

АНТИБИОТИКИ:

1. Рифамицины (рифампицин) предотвращают формирование первой фосфодиэфирной связи затравки РНК.
2. Гепарин - полианион, конкурирует с РНК-полимеразой при связывании с матрицей и не допускает образования стабильного инициирующего комплекса.

БЕЛКИ-РЕГУЛЯТОРЫ могут связываться с некодирующей цепью ДНК и оставаться прикрепленными там в течение многочисленных циклов транскрипции. Белки-регуляторы могут играть роль сигма-фактора и помогать образованию тройного комплекса в **регуляторной области** ДНК (находится непосредственно перед областью промотора или на некотором расстоянии от нее). После связывания с ДНК РНК-полимераза покидает регуляторную область и, синтезируя РНК (с судьбой этого "лишнего" отрезка РНК потом разберутся при процессинге), продвигается в сторону канонического промотора, оператора, структурных генов и терминатора...

3. ТЕРМИНАЦИЯ: окончание транскрипции.

- **Терминатор** - последовательность ДНК, необходимая для остановки транскрипции.
- Перед любым терминационным сайтом (участком) расположен **палиндром**: двухцепочечная последовательность ДНК, которая одинаково читается в обеих цепях, если каждую цепь читать в соответствии с её ориентацией. **Инвертированный повтор** = половина палиндрома. Две копии инвертированного повтора не обязательно должны быть непрерывными. Обе части палиндрома, находящиеся в одной цепи ДНК, взаимно комплементарны, если их прочитывать в противоположных направлениях от оси симметрии. При образовании комплементарных пар на одной цепи возможно образование **шпильки** на РНК или структуры креста на ДНК (если копии повтора не непрерывны). Благодаря палиндромам ДНК формируется структура "клеверного листа" на тРНК.
- Все шпильки, возникающие синтезирующейся РНК на местах, комплементарных палиндромам ДНК, заставляют РНК-полимеразу двигаться медленнее или останавливаться. На обычном терминаторе фермент останавливается на 60 сек., за это время при элонгации он преодолевает 2000 нуклеотидов.

ВИДЫ ТЕРМИНАТОРОВ.

1. го-НЕЗАВИСИМЫЕ ТЕРМИНАТОРЫ.

У краев палиндрома находятся области, богатые Г и Ц. Непосредственно за палиндромом на 3'-5' нити ДНК идет область АААААА. Образующаяся РНК формируют шпильку на месте палиндрома. Основание шпильки очень прочное из-за тройных водородных связей между азотистыми основаниями Г и Ц на РНК. Участок УУУУУУ мРНК за шпилькой сравнительно слабо связан двойными связями с комплементарной последовательностью АААААА кодирующей цепи ДНК. Достаточно минимального количества энергии (2-4 ккал/моль на каждую водородную связь), чтобы в этом месте разрушить связи,держивающие вместе две цепи: ДНК и РНК. Если это происходит (тройной комплекс РНК-полимераза+ДНК+РНК разрушается), то РНК-полимераза не может больше крепко удерживаться на цепи ДНК и покидает её.

2. го-ЗАВИСИМЫЕ ТЕРМИНАТОРЫ.

2.1. Палиндромные терминаторы.

- Фактор "го", являющийся белком-тетramerом, связывается с 5'-концом новосинтезирующейся РНК и затем продвигается вдоль неё, используя энергию гидролизуемых самим фактором го нуклеозидтрифосфатов, которые потом никуда не используются.
- го- зависимый терминатор - просто палиндром без специальных последовательностей. Как и на любом другом палиндроме, РНК-полимераза тормозит в тот момент, когда на синтезировавшейся РНК образовалась шпилька. Остановка РНК-полимеразы на шпильке терминатора благоприятствует тому, чтобы фактор го успел (смог) догнать её. Когда фактор го догоняет РНК-полимеразу, он взаимодействует с ней таким образом, что вызывает освобождение РНК от ДНК, отделение РНК-полимеразы от ДНК и самого фактора го от РНК.

Клетка: основные химические компоненты

- Различная эффективность таких терминаторов объясняется тем, что паузы в движении РНК-полимеразы на них отличаются по длительности.
- 2.2. Терминаторы из кодонов редких аминокислот или нонсенс-кодонов.**
(ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ТРАНСКРИПЦИИ И ТРАНСЛЯЦИИ).
- Иногда рибосомы присоединяются к синтезирующейся РНК и движутся за РНК-полимеразой. За рибосомами к РНК присоединяется фактор го и движется вслед. Из-за рибосом он не может догнать РНК-полимеразу и прекратить транскрипцию. Терминатором в этом случае будет являться серия кодонов редкой аминокислоты или **нонсенс-кодон**, не кодирующий никакую аминокислоту. Когда рибосомы достигают терминатора, синтез белка прекращается и рибосомы покидают РНК. го - фактор получает возможность догнать РНК-полимеразу и прекратить транскрипцию.

4. АНТИТЕРМИНАЦИЯ.

- Белки - факторы антирминации позволяют РНК-полимеразе проскакивать определенные терминирующие последовательности. Таким образом контролируется способность фермента (РНК-полимеразы) транскрибировать гены, расположенные за терминатором. Данный механизм характерен для регуляторных систем фагов. Терминация - удобный механизм, контролирующий генную экспрессию.
- Таким образом, инициация и терминация специфически контролируются.
- Есть интересные аналогии между системами, участвующими в инициации и терминации. В обоих случаях должен обязательно происходить разрыв водородных связей между азотистыми основаниями двух цепей (первоначальное плавление ДНК при инициации и диссоциация гибрида ДНК-РНК при терминации). Этот разрыв связей происходит в участках, богатых А, т.е. двойными водородными связями. Как для инициации, так и для терминации требуются дополнительные белковые факторы, взаимодействующие с минимальным ферментом.

ТРАНСКРИПЦИЯ У ЭУКАРИОТ.

1. ИНИЦИАЦИЯ.

- **Промоторы** РНК-полимеразы II многокомпонентны:
- а). Участок -19-27 п.н. до стартовой точки: "блок Хогнесса" ТАТА определяет местоположение стартовой точки. (**Стартовая точка** (+1 п.н.) может влиять на частоту инициации. Начиная с нее происходит транскрипция.)
- -70-80 п.н.: СААТ - блок ответственен за первоначальное связывание РНК-полимеразы с ДНК (большой участок ДНК укладывается в ферменте петлей).
- РНК-полимераза связывается с промотором и формирует тройной комплекс (РНК-полимераза+ДНК+РНК), после чего продвигается в область структурных генов.
- **Энхансеры** - последовательности ДНК, которые могут находиться где угодно и изменять структуру хроматина так, что увеличивают частоту инициации транскрипции.

2. ЭЛОНГАЦИЯ.

- Происходит аналогично элонгации у прокариот

3. ТЕРМИНАЦИЯ.

Последовательность AAAA, находящаяся после области, богатой Г и Ц.

12.2.4 Синтез белков (трансляция).

Синтез полипептидных цепей белков по матрице и-РНК, выполняемый рибосомами, называется трансляцией (лат. "translatio" - перевод). Роль матрицы в клетке играют макромолекулы ДНК или РНК. Мономерные молекулы, из которых синтезируется полимер - нуклеотиды или аминокислоты - в соответствии с принципом комплементарности, располагаются и фиксируются на матрице в строго определенном порядке. Затем происходит соединение мономерных звеньев в полимерную цепь и готовый полимер сходит с матрицы. После этого матрица готова к новой сборке точно такой же полимерной молекулы. Как происходит сборка? Рибосомы, имеющие два участка (акцепторный и донорный), как бы нанизаны на и-РНК. Первая рибосома вступает на нитевидную молекулу и-РНК с левого конца и начинает синтез белка. По мере сборки белковой молекулы рибосома ползет по и-РНК. Как только первая рибосома продвинется вперед, с того же конца на и-РНК входит вторая рибосома, которая, как и первая, начинает сборку и движется вслед за первой, затем вступает третья и т.д. Все рибосомы выполняют одну и ту же работу: каждая синтезирует один и тот же белок, запрограммированный на данной и-РНК. Когда рибосома достигает противоположного конца и-РНК, синтез окончен. Рибосома с образовавшимся белком сходит с РНК. Затем они расходятся: рибосома - на любую и-РНК, поскольку она способна к синтезу любого белка (характер белка зависит от матрицы и-РНК), белковая молекула - в эндоплазматическую сеть.

Клетка: основные химические компоненты

Размер участка рибосомы, в котором происходит трансляция, соответствует длине 6 нуклеотидов, т.е. двум триплетам. Следовательно, когда рибосома скользит по и-РНК, в функциональном центре ее всегда находится два соседних триплета нуклеотидов. Когда т-РНК поступает на рибосому, антикодон узнает "свой" кодон и-РНК. На рибосоме имеется два участка для связывания двух молекул т-РНК: сначала т-РНК с аминокислотой поступает в акцепторный участок и присоединяется к своему кодону, затем аминокислота присоединяет к себе (акцептирует) растущую цепь белка с образованием пептидной связи. После этого т-РНК перемещается с кодоном и-РНК в донорный участок рибосомы, а на ее место в акцепторный участок поступает новая т-РНК. Аминокислоты в синтезируемом белке соединены в той же последовательности, в которой расположены шифрующие их кодоны в и-РНК. Отдав аминокислоту, т-РНК покидает рибосому и присоединяется к себе следующую аминокислоту для транспортировки на рибосому. Операция трансляции занимает не более 1/5-1/6 с, полипептидная цепь удлиняется на одно звено. Синтезируется полипептидная цепь в течение нескольких секунд. Для увеличения производства белков и-РНК часто одновременно проходит по нескольким рибосомам. Такую структуру, объединенную одной молекулой информационной РНК, называют полисомой. На каждой рибосоме в этом случае синтезируются одинаковые белки.

Синтез белка в клетках идет с участием различных ферментов. С участием ферментов происходит синтез ДНК, и-РНК. Существуют особые ферменты, обеспечивающие захват и соединение аминокислот с их т-РНК, а в рибосоме работает фермент, сцепляющий аминокислоты между собой. Любой процесс синтеза происходит с затратой энергии в виде АТР: при расщеплении АТР образуется энергия, необходимая для синтеза белков. Так, на образование ковалентной связи между т-РНК и "своей" аминокислотой затрачивается энергия одной молекулы АТР.

ЭТАПЫ ТРАНСЛЯЦИИ.

1. ИНИЦИАЦИЯ ТРАНСЛЯЦИИ.

- Из отдельных компонентов собирается аппарат для синтеза белка и протекают подготовительные реакции. Организующими центрами трансляции являются рибосомы, при отсутствии мРНК они диссоциируют на две субъединицы. При инициации трансляции происходит сборка рибосом (у прокариот из 30с и 50с -субчастиц, у эукариот - из 40с и 60с субчастиц). Необходимо наличие инициаторного кодона на цепи мРНК: АУГ у большинства видов (редко - ГУГ у прокариот). АУГ-кодон кодирует метионин, ГУГ-валин. После присоединения метионина к тРНК у прокариот происходит **формилирование** метионил-тРНК, а у эукариот - не происходит.
- **Факторы инициации** (у прокариот: IF-1, IF-2, IF-3; у эукариот: eIF-2, eIF-3, eIF-5) образуют комплекс с ГТФ, метионил- или формилметионил-тРНК, м РНК и малой субъединицей рибосомы.
- На следующем этапе инициации к комплексу присоединяется большая субчастица рибосомы и высвобождаются все три фактора инициации, ГДФ и Фосфат.
- За выбор из среды и специфичность связывания комплекса тРНК с аминокислотой в присутствии мРНК отвечает малая субчастица. Участок связывания аминоацилированной тРНК (в комплексе с аминокислотой) ограничен поверхностями рибосомальных субчастиц и соответствующим кодоном мРНК, вследствие чего участок связывания тРНК изменяет свою специфичность в отношении конкретных видов аминоацил-тРНК в зависимости от того, какой кодон мРНК в нем находится.

Завершение инициации- см. в секции "ЭЛОНГАЦИЯ".

2. ЭЛОНГАЦИЯ.

- Обычно аминоацил-тРНК связывается в "A"-сайте 30с субчастицы, примыкая своим антикодоном к кодону мРНК. При связывании используется ГТФ с образованием ГДФ и Фосфата ??? Остаток аминокислоты (аминоацил) при этом свешивается в "A"-сайт большой субчастицы. К его NH₂-группе присоединяется COOH-группа последнего аминокислотного остатка пептида, прикрепленного в этот моменту в "P"-сайте посредством тРНК на COOH-конце. В результате пептидил-тРНК, удлиненная на один аминокислотный остаток (к его COOH-концу прикреплена только что доставившая его тРНК), оказывается в "A" сайте. Находившаяся в "P" сайте тРНК, освобожденная от пептида, покидает рибосому. Далее происходит перемещение рибосомы на один кодон мРНК, которое сопровождается переносом только что удлиненной пептидил-тРНК из "A" сайта в "P"-сайт. Перенос пептидил тРНК нужен для того, чтобы освободить "A"-сайт для приема следующей аминоацил-тРНК. Одна молекула комплекса ГТФ-Mg²⁺ расходуется на перемещение рибосомы дальше на один кодон мРНК и транспорт пептидил-тРНК.

Клетка: основные химические компоненты

- В процессе элонгации участвуют **факторы элонгации** (у прокариот: EF-T, EF-C; у эукариот: EF-1, EF-2) и идет расход ГТФ в процессах перемещения.
- **ПРОБЛЕМЫ ИНИЦИАЦИИ.**
- При инициации оба сайта ("A" и "P") исходно свободны. Для того, чтобы заработал механизм элонгации, необходимо, чтобы первый аминоацил оказался не в "A"-сайте, а в "P"-сайте. Это нужно, чтобы последующий аминоацил мог без помех оказаться в "A"-сайте и в дальнейшем образовать пептидную связь между своей NH₂-группой и COOH-группой аминокислотного остатка (метионина или формилметионина), отсоединяющегося от аденоцина ЦЦА-конца первой аминоацил-tРНК, пришедшей в рибосому. (Напомним, что COOH-группа образовывала сложноэфирную макроэргическую связь с 3'-ОН группой концевого аденоцинового остатка tРНК.)
- После окончания синтеза белка формильная группа отщепляется от формилметионина ферментом-деформилазой.
- Считывание информации с мРНК идет в направлении 5'-3'. Цикл элонгации повторяется многократно: 100-200 раз, т.е. столько, сколько аминокислотных остатков входит в состав полипептидной цепи.

3. ТЕРМИНАЦИЯ.

- Элонгация заканчивается тогда, когда в рибосому поступают **терминирующие кодоны мРНК**: один или несколько триплетов УАА, УАГ, УГА. Наличие их в любом участке мРНК приводит к остановке синтеза белка, поскольку кодоны не кодируют никаких аминокислот.
- В процессе участвуют факторы терминации (у прокариот: PF-1, PF-2, PF-3; у эукариот: ePF) и расходуется одна молекула ГТФ, гидролизующаяся на ГДФ и Фосфат. Терминирующие кодоны и белковые факторы индуцируют пептидил-эстеразную активность белков рибосомальной 50S-субчастицы, при этом гидролизуется связь между пептидом и tРНК. В итоге, пептид и tРНК покидают рибосому. Рибосома диссоциирует на субчастицы.
- Все освободившиеся компоненты белкосинтезирующей системы (субчастицы рибосом, tРНК, факторы трансляции) используются вновь в очередном цикле. Реакции трансляции синхронизированы, протекают по типу конвейера, что обеспечивает максимальную скорость и эффективность. У прокариот присоединяется 500 аминокислотных остатков за 1 минуту, у эукариот - 50. Почти всегда на одной молекуле мРНК трансляцию осуществляют несколько рибосом, образуя полисомы. Полисомы могут быть прикреплены к мембранам (Гранулярный эндоплазматический ретикулум).

ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЕ ЗАТРАТЫ ПРИ ТРАНСЛЯЦИИ.

На активацию каждой аминокислоты и образование аминоацил-tРНК расходуется 1 молекула АТФ. Вторая молекула макроэрга - 1 ГТФ - расходуется для связывания аминоацил-tРНК с рибосомой с участием факторов инициации или элонгации??? Третья молекула макроэрга - 1 ГТФ - затрачивается на транслокацию на стадии элонгации. Для терминации на всю молекулу белка требуется еще одна молекула ГТФ. Таким образом, на синтез одной пептидной связи расходуется более трех эквивалентов АТФ. Энергия пептидной связи составляет около 21 КДж, а на ее образование расходуется свыше 100 КДж. Такие большие затраты энергии необходимы для обеспечения строгой упорядоченности расположения аминокислот в молекуле белка.

"САМОЕ ДОРОГОЕ - ПРАВИЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ И ЕЕ ТОЧНОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ".

12.2.5 Синтез жиров.

Жиры синтезируются в цитоплазме при помощи электронов, поступающих от NADPH и атомов углерода, поступающих в форме Ацетил-СоА из разных источников (распад аминокислот, углеводов и липидов). NADPH образуется в результате специального пентозофосфатного пути расщепления углеводов, не сопровождающимся субстратным фосфорилированием. Этот путь активен в тканях с потребностью в синтезе жира. Модификации жирных кислот (превращение в непределенные и удлинение цепи) может происходить в эндоплазматическом ретикулуме и митохондриях.

12.2.6 Синтез углеводов.

12.2.6.1 Глюконеогенез.

Синтез углеводов происходит путем обращения цитоплазматического гликолиза с обходом необратимых стадий, в ходе чего затрачивается значительное количество АТР. Этот путь используется для перевода в глюкозу и гликоген молочной кислоты, накопившейся в ходе гликолиза, не сопровождавшегося окислительным фосфорилированием. Этот процесс называется

Клетка: основные химические компоненты

глюконеогенезом. Энергия для глюконеогенеза поставляется, как правило, из путей окислительного фосфорилирования.

12.2.6.2 Фотосинтез.

РАСПРОСТРАНЕННЫЙ В УЧЕБНИКАХ ВАРИАНТ:

Пластический и энергетический обмены в клетках растений и животных сходны. Однако в клетках растений, содержащих хлорофилл, кроме бескислородного и кислородного процессов, протекают специфические процессы, имеющие важное значение для живой природы. Растительные клетки способны синтезировать органические вещества из неорганических, используя энергию солнечного излучения. Синтез органических веществ из неорганических, идущий за счет солнечной энергии, называется фотосинтезом. Суммарное уравнение фотосинтеза выражается следующим образом:

свет



В результате фотосинтеза из веществ, бедных энергией (оксид углерода (IV) и вода), образуется глюкоза ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$), богатая энергией. Кроме того, при фотосинтезе образуется кислород, поступающий во внешнюю среду. Для синтеза органических веществ растения используют также азотистые, фосфорные, сернистые соединения. По современным представлениям сущность фотосинтеза заключается в превращении лучистой энергии солнечного света в химическую энергию в форме АТР и восстановленного никотинамидадениндинуклеотидфосфата (НАДФН). Начало изучению фотосинтеза было положено в 1630 г., когда ван Гельмонт показал, что растения сами образуют органические вещества, а не получают их из почвы. В 1772 г. Джозеф Пристли установил, что растения (побеги мятты) "исправляют" воздух, "испорченный" горящей свечой. Семь лет спустя Ян Ингенхауз обнаружил, что растения могут "исправлять" плохой воздух, только находясь на свету. В темноте же они выделяют воздух, "вредный для животных". В 1804 г. Соссюр, взвешивая воздух и растения до и после фотосинтеза, установил, что увеличение сухой массы растения превышало массу поглощенной им из воздуха углекислоты. Соссюр пришел к выводу, что другим веществом, участвующим в увеличении массы, была вода. Еще Я. Ингерхауз предположил, что роль света в фотосинтезе заключается в расщеплении углекислоты с выделением кислорода, а свободившийся "углерод" используется для построения растительных тканей. В 1887 г. С. Н. Виноградский открыл хемосинтезирующие бактерии - бесхлорофильные организмы, способные превращать в органические соединения углекислоту в темноте, а Энгельман в 1883 г. открыл пурпурные бактерии, осуществляющие своеобразный фотосинтез, не сопровождающийся выделением кислорода. Применение меченого углерода (1940 г.) показало, что все клетки - растительные, бактериальные и животные - способны ассимилировать углекислоту, различаясь только использованием источников, из которых они получают необходимую для ассимиляции энергию. В 1931 г. ван Ниль показал, что у бактерий фотосинтез может происходить в анаэробных условиях, не сопровождаясь выделением кислорода. Он высказал предположение о принципиальном сходстве фотосинтеза бактерий и зеленых растений. Растения используют световую энергию для фотолиза воды (вода является донором водорода, который определенным образом участвует в ассимиляции углекислоты, и молекулярного кислорода), а у бактерий донором водорода служит H_2 или молекулярный водород и поэтому выделения кислорода не происходит.

В настоящее время существует мнение, что все реакции включения CO_2 в органические вещества могут протекать в темноте ("темновые реакции"), т.е., строго говоря, они не относятся к процессу фотосинтеза - это реакции как бы обратные процессу распада углеводов. К реакциям, зависящим от энергии света ("световые реакции"), относятся такие процессы, при которых свет превращается в химическую энергию (такими веществами являются АТР и НАДФН). Фотосинтез - сложный многоступенчатый процесс, в котором центральная роль принадлежит хлорофиллу - органическому веществу, преобразующему энергию солнечного света в энергию химических связей (в этом заключается основная роль хлорофилла в клетке). Молекулы хлорофилла встроены в мембранные структуры хлоропласта - граны - и находятся в окружении молекул белков, липидов и других веществ.

Молекула хлорофилла состоит из атомов углерода и азота, соединенных в сложное кольцо. Молекула хлорофилла близка по строению к гему гемоглобина, содержащегося в эритроцитах, но в отличие от гема содержит в центре кольца вместо атома железа атом магния, связанный с двумя или четырьмя атомами азота. Молекула хлорофилла имеет длинный "хвост", представляющий собой остаток фитола - спирта, который содержит цепь из 20 углеродных атомов. Хлорофилл представляет собой конъюгированную систему с чередованием двойных и простых связей по кольцу, что позволяет производить различные перестройки в структуре связей и проявлять различные их свойства. Хлорофилл - это резонансная система, в которой имеются различные пути

Клетка: основные химические компоненты

перераспределения внешних электронов без сдвига в положении какого-либо из образующих ее атомов. При этом для перехода электронов на внешнюю орбиталь нужно лишь небольшое количество электронов. Функциональной единицей фотосинтеза, как предполагают, являются повторяющиеся структуры, каждая из которых состоит примерно из 230 молекул хлорофилла каждая. Эти структуры получили название квантовом, они располагаются на гранах хлоропласта.

В растительной клетке имеются различные виды хлорофилла - хлорофилл а, б, с, д. Наиболее важны хлорофилл а и б. Хлорофилл а найден у всех растений, тогда как хлорофилл б отсутствует у многих водорослей и у некоторых других растений. Помимо хлорофилла, растения содержат и много других пигментов, чем и объясняется разнообразие их окраски. В растениях есть темно-оранжевый пигмент - каротин (в животном организме он может превращаться в витамин А) и ксантофилл - желтый пигмент. Красные водоросли и цианобактерии содержат фикоэритрин и фикоцианин (также принимающие участие в фотосинтезе, подчас более активное, чем имеющийся у них хлорофилл). Некоторые из этих пигментов способны поглощать и передавать хлорофиллу солнечную энергию. Солнечный свет, достигающий поверхности Земли, обладает максимальной интенсивностью в сине-зеленой и зеленой областях спектра (450-550 нм). Но именно в этой области спектра хлорофилл а поглощает минимум света. Максимумом поглощения хлорофилл а характеризуется в фиолетовой области света - примерно при 440 нм, а также в дальней красной области света - примерно при 700 нм; хлорофилл б поглощает кванты света в красной области света - примерно при 660 нм. Каротиноиды интенсивно поглощают свет в сине-зеленой или зеленой областях спектра и передают эту энергию на хлорофилл.

Процесс фотосинтеза начинается с освещения хлоропласта видимым светом. Большая часть солнечной энергии испускается в виде фотонов - квантов видимого света. Фотон, попав в молекулу хлорофилла, приводит его в возбужденное состояние. Электрон в составе хлорофилла поглощает квант света и перемещается на более высокий энергетический уровень этой молекулы. Этот процесс можно сравнить с шариком или камнем, поднятым на высоту и приобретающим потенциальную энергию. При падении с высоты, камень (или шарик) теряет эту энергию. Так и с электроном: при снижении с высокой орбиты возбужденный электрон теряет энергию, которая через систему переносчиков (ферредоксин, цитохромы и др.) используется для фосфорилирования ADP в ATP и запасания ее в этом соединении. Часть возбужденных светом электронов используется также для восстановления HADP+ в HADP.H2. Один из возбужденных электронов переходит на молекулу-переносчика, которая уносит его и переправляет на другую сторону мембранны. Молекула хлорофилла восстанавливает потерю электрона, отбирая его от молекулы воды. В клетке имеется всегда некоторое количество H+ и OH- ионов, поскольку в водном растворе часть молекул воды находится в диссоцииированном состоянии. В результате потери электронов молекулы воды разлагаются на протоны и атомы кислорода. Из атомов кислорода образуется молекулярный кислород, диффундирующий через мембрану в атмосферу. Поскольку протоны не способны к диффузии через мембрану, они накапливаются в гране. Таким образом, по одну сторону мембранны собираются положительно заряженные протоны, а по другую - частицы с отрицательным зарядом. В составе хлоропластов имеются две фотосистемы: фотосистема I и фотосистема II. В фотосистеме I имеется реакционный центр, содержащий молекулы хлорофилла в комплексе с особым белком. Этот комплекс поглощает красный свет длиной волны 700 нм (P 700, P - от англ. "pigment" - пигмент). Возбужденный электрон через систему переносчиков переносится к HADP, восстанавливая его в HADP.H (зapasается некоторая часть энергии). В молекулах хлорофилла фотосистемы I остаются при этом незаполненные места электронов, перешедших в HADP.H. Эти "дыры" заполняются электронами, которые образуются в фотосистеме II. В фотосистеме II также имеется свой реакционный центр - комплекс хлорофилла с белком, который поглощает свет длиной волны 680 нм (P 680). Электрон хлорофилла этой фотосистемы под действием света также возбуждается и с помощью цепи переносчиков спускается "вниз" и заполняет "дыру", образовавшуюся в хлорофилле фотосистемы I. Таким образом, фотосистема II поставляет электроны для фотосистемы I. Источником электронов для фотосистемы I является вода. Расщепление молекулы воды - фотолиз - происходит за счет энергии света. В результате фотолиза воды появляются электроны (e-) и протоны (H). Что же происходит на мембране?

По мере накопления по обеим сторонам мембранны положительных и отрицательных частиц нарастает разность потенциалов (протонный потенциал). Так же, как в мембранны митохондрий, в мембранны гран встроены молекулы фермента, синтезирующего ATP (ATP-синтетазу). Внутри ATP-синтетазы имеется канал, через который могут пройти протоны. При достижении критического уровня величины протонного потенциала сила электрического поля проталкивает протоны через канал в молекуле ATP-синтетазы, а освобождающаяся при этом энергия расходится на синтез

Клетка: основные химические компоненты

ATP. Далее ATP используется на синтез углеводов. Протоны, оказавшиеся на другой стороне мембранны, встречаются здесь с электронами, доставленными молекулами-переносчиками. Протоны превращаются в атомы водорода, направляемые в те места хлоропласта, где идет синтез углеводов. Таким образом, в световую фазу фотосинтеза световая энергия распределяется следующим образом: часть рассеивается в виде тепла с поверхности клетки; часть расходуется на образование кислорода, выделяющегося в атмосферу; часть запасается в виде НАДРН, а большая часть запасается в виде ATP (не менее 50% энергии кванта света), которая затем используется в реакциях темнового синтеза.

Реакции темнового синтеза углеводов протекают как на свету, так и в темноте. При участии ферментов углекислота включается в процесс синтеза углеводов. Темновые реакции синтеза носят циклический характер. Выделяют три основных этапа синтеза:

карбоксилирование; восстановление; регенерация.

Углекислота (CO₂) вступает в соединение с пятиуглеродным сахаром рибулозо-5-фосфатом, находящимся в клетке. Предварительно этот сахар фосфорилируется (за счет ATP) с образованием рибулозодифосфата и уже рибулозодифосфат карбоксилируется путем присоединения CO₂. Образуется короткоживущее шестиуглеродное соединение, которое вследствие гидролиза (присоединения молекулы воды) распадается на две трехуглеродные молекулы фосфоглицериновой кислоты. Затем фосфоглицериновая кислота восстанавливается (в присутствии ATP и НАДРН) с образованием фосфоглицеринового альдегида (трехуглеродного сахара - триозы). В результате конденсации двух таких триоз образуется молекула гексозы, которая может включаться в молекулу крахмала и таким образом откладываться в запас. Для завершения этой фазы цикла процесса фотосинтеза поглощается 1 молекула CO₂, используются 3 молекулы ATP и 4 атома H (присоединенных к 2 молекулам НАДРН). Из гексозофосфата (при действии ферментов) регенерирует рибулозофосфат, который снова может присоединить к себе другую молекулу углекислоты.

Одна молекула гексозы - фруктозо-6-фосфата или глюкозы образуется из 6 молекул CO₂. Для ее образования требуется расходовать 18 молекул ATP и 12 молекул НАДРН. Глюкоза ферментативно полимеризуется в клетке в крахмал, который служит энергетическим резервом. Кроме того, при полимеризации глюкозы образуется целлюлоза - опорный полисахарид клетки растений. Впервые процесс темновой фиксации углекислоты с образованием гексозы подробно изучил американский биохимик М.Кальвин, в честь которого весь процесс получил название цикла Кальвина.

В изучении роли света и хлорофилла в процессе усвоения углекислого газа при фотосинтезе большой вклад внес крупнейший русский ученый К.А.Тимирязев. Он так писал о фотосинтезе: "Это процесс, от которого в конечной инстанции зависят все проявления жизни на нашей планете". И это вполне обоснованно, так как фотосинтез - основной поставщик не только органических соединений, но и свободного кислорода на Земле. В результате фотосинтеза на Земле образуется около 150 млрд т органического вещества и выделяется около 200 млрд т свободного кислорода в год. Кроме того, растения вовлекают в круговорот миллиарды тонн азота, фосфора, серы, кальция, магния, калия и других элементов. Хотя зеленый лист использует лишь 1-2% падающего на него света, создаваемые растением органические вещества и кислород в целом обеспечивают существование всего живого на Земле. Фотосинтез препятствует увеличению концентрации CO₂ в атмосфере, предотвращая перегрев Земли (парниковый эффект), а созданная им атмосфера защищает живое от губительного УФ-излучения (кислородно-озоновый экран атмосферы).

МОЙ ВАРИАНТ:

НЕЦИКЛИЧЕСКИЙ ФОТОСИНТЕЗ.

СВЕТОВАЯ ФАЗА: НЕЦИКЛИЧЕСКАЯ СВЕТОЗАВИСИМАЯ РЕДОКС-ЦЕПЬ.

У всех растений есть хлорофилл A, у многих дополнительно присутствует хлорофилл B.

Хлорофилл B отличается от хлорофилла A тем, что имеет на 1 атом кислорода больше и на 2 атома водорода меньше.

Молекула хлорофилла имеет системы сопряженных связей с электронами, делокализованными вследствие явления резонанса, благодаря чему способна улавливать фотоны и возбуждаться. Длина волны фотона, попадающего на светочувствительную молекулу, должна быть кратна энергии, необходимой для перехода какого-либо электрона этой молекулы на более высокую орбиталь - в возбужденное состояние. При возвращении возбужденного электрона на свою орбиту могут выделяться тепло или свет. Такую молекулу удобно использовать для поглощения энергии светового излучения и передачи ее другим молекулам для последующего использования в химических реакциях.

Клетка: основные химические компоненты

Энергия света последовательно передается в виде электрона по цепи фотосинтетических ферментов-переносчиков тилакоидов хлоропласта и может быть запасена в виде различных химических связей органических соединений.

У большинства растений протекает процесс нециклического фотосинтеза.

Хлорофилл А расположен у внутренней стороны мембранны тилакоида и может поглощать квант света (фотон) с длиной волны 700 нм, в результате чего один из электронов этого хлорофилла переходит в возбужденное состояние. Возбужденный хлорофилл А передает 2 электрона ферментам фотосинтетической цепи I, которые последовательно передают электроны друг другу и переносят их в толще мембранны тилакоида к той её стороне, которая ближе к строме хлоропласта. В состав этих ферментов входят Fe-S кластеры. После передачи двух электронов последнему ферменту фотосинтетической цепи I из стромы хлоропласта поглощаются 2H^+ и образуется FADH_2 . К этому восстановленному коферменту из стромы хлоропласта подходит окисленный NADP^+ , присоединяет 1 H^+ и 2 электрона, а 1 H^+ выходит обратно в строму хлоропласта. FADH_2 при этом возвращается в окисленную форму FAD. (NADP^+ =никотинамидадениндинуклеотидфосфат - содержащийся в пластидах аналог NAD^+ митохондрий - кофермент для запасания и транспорта восстановительных эквивалентов (электронов).)

Таким образом, в результате перехода 2-х электронов с молекулы хлорофилла А на NADPH образуется катион-радикал окисленного хлорофилла А. Окисленный хлорофилл необходимо возвратить в исходное состояние, присоединив к нему какие-либо 2 электрона, для того, чтобы он мог опять воспринимать кванты света и передавать их энергию на NADP^+ . Два электрона, требуемые для восстановления хлорофилла А, поставляются фотосистемой II.

Хлорофилл В, как и хлорофилл А, расположен у внутренней стороны мембранны тилакоида. Он может поглощать квант света с длиной волны 680 нм, возбуждаться и отдавать 2 электрона ферментам фотосинтетической цепи II. Эти ферменты переносят электроны от хлорофилла В на сторону мембранны тилакоида, ближнюю к строме хлоропласта (подобно фотосинтетической цепи I). Ферменты, расположенные в конце фотосинтетической цепи II, расходуют энергию поступивших электронов на поглощение из стромы хлоропласта 4H^+ и их транспорт во внутренний объем тилакоида. Ферменты, участвующие в переносе протонов, одновременно возвращают 2 электрона на ту сторону мембранны, где расположен окисленный к этому времени хлорофилл А. Электроны восстанавливают хлорофилл А, заполняя "дырки", образовавшиеся после попадания на хлорофилл А кванта света с длиной волны 700 нм. После получения пары электронов от хлорофилла В восстановленный хлорофилл А вновь способен воспринимать квант света и отдавать пару электронов фотосинтетической цепи I.

В свою очередь, хлорофилл В окисляется после ухода пары электронов в фотосинтетическую цепь II, и не сможет больше возбуждаться, пока не окажется восстановлен какими-либо двумя электронами. Эти недостающие электроны поставляются марганец-содержащей системой расщепления воды. Молекулы воды берутся из внутреннего объема тилакоида; за счет двух молекул воды удается получить 4 электрона и побочные продукты - 4H^+ и 1O_2 . Кислород, образованный при **фотолизе** воды, частично используется митохондриями клеток, но большей частью выделяется растениями наружу. Освобожденные из молекул воды протоны оказываются во внутреннем объеме тилакоида. Таким образом, на каждую пару электронов, ушедшую с хлорофилла А приходится $4+2=6\text{H}^+$, добавленных во внутренний объем тилакоида. В пересчете на одну молекулу кислорода, образовавшегося при фотолизе воды (2 пары квантов света, поглощенные хлорофиллами А и В), в матрикс тилакоида переводится 12H^+ .

Протоны, накопившиеся в матриксе тилакоида, создают потенциал на мемbrane, подобно тому, как это происходит в митохондриях. Отличие состоит в том, что в митохондриях транспорт протонов не уравновешен противоположно направленным транспортом других катионов (K^+). Поэтому на внутренней мемbrane митохондрий создается электрохимический потенциал, а на мемbrane тилакоидов - только химический потенциал ионов водорода (образуется pH-градиент). Разница обусловлена тем, что ферменты электрон-транспортных цепей при наличии электрического потенциала на мемbrane способны восстанавливать кислород до опасных промежуточных соединений (супероксид-радикал и его продукты - перекись водорода и гидроксид-радикал). Эти соединения являются настолько сильными окислителями, что могут повредить практически все компоненты клетки, включая ДНК. Пластиды выделяют при фотолизе много кислорода, поэтому нуждаются в особой защите от

Клетка: основные химические компоненты

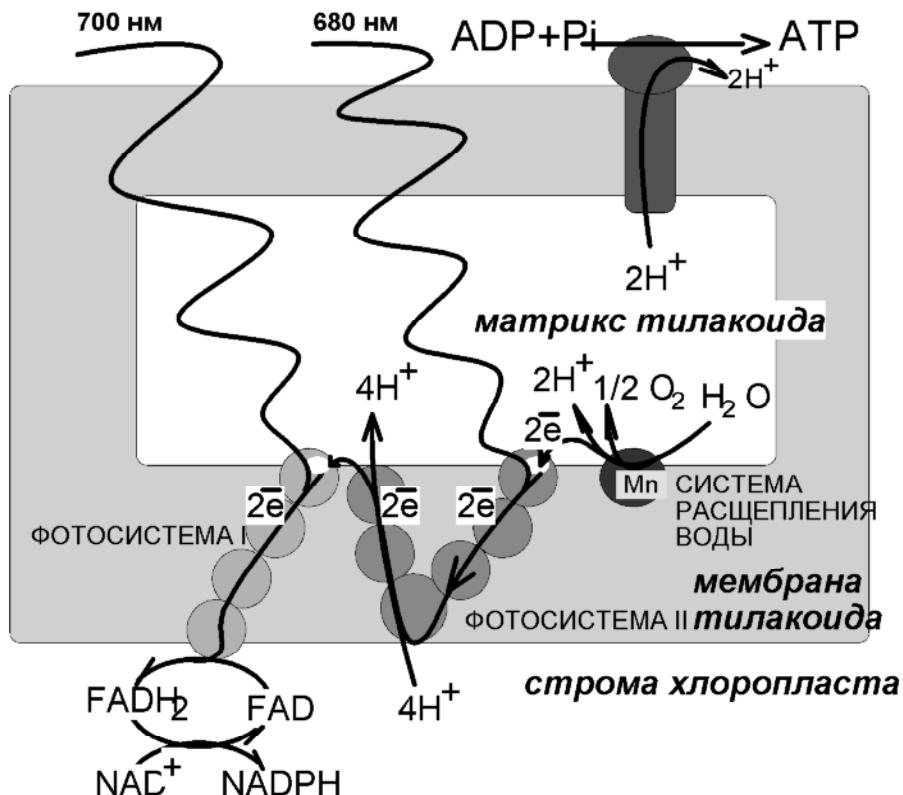
окислительного стресса. Такой защитой служит предотвращения появления электрической составляющей протонного потенциала.

Мембрана тилакоидов содержит Н⁺-АТФ-синтетазу, аналогичную АТФ-синтетазе митохондрий.

Этот фермент может возвращать протоны из закисленного матрикса тилакоида в строму хлоропласта, где на каждые 2Н⁺ из АДФ и фосфат-аниона образуется 1 АТФ и Н₂O.

Суммируя результаты световой фазы фотосинтеза, можно прийти к выводу, что на каждые 2 пары квантов света, поглощенные фотосистемами А и В, образуется 2NADPH, 6ATF, 1O₂ и разлагается 2H₂O.

Световая фаза фотосинтеза необходима для получения АТФ (альтернатива митохондриям, которых поэтому у растений меньше) и для того, чтобы шла темновая фаза фотосинтеза.



ТЕМНОВАЯ ФАЗА ФОТОСИНТЕЗА.

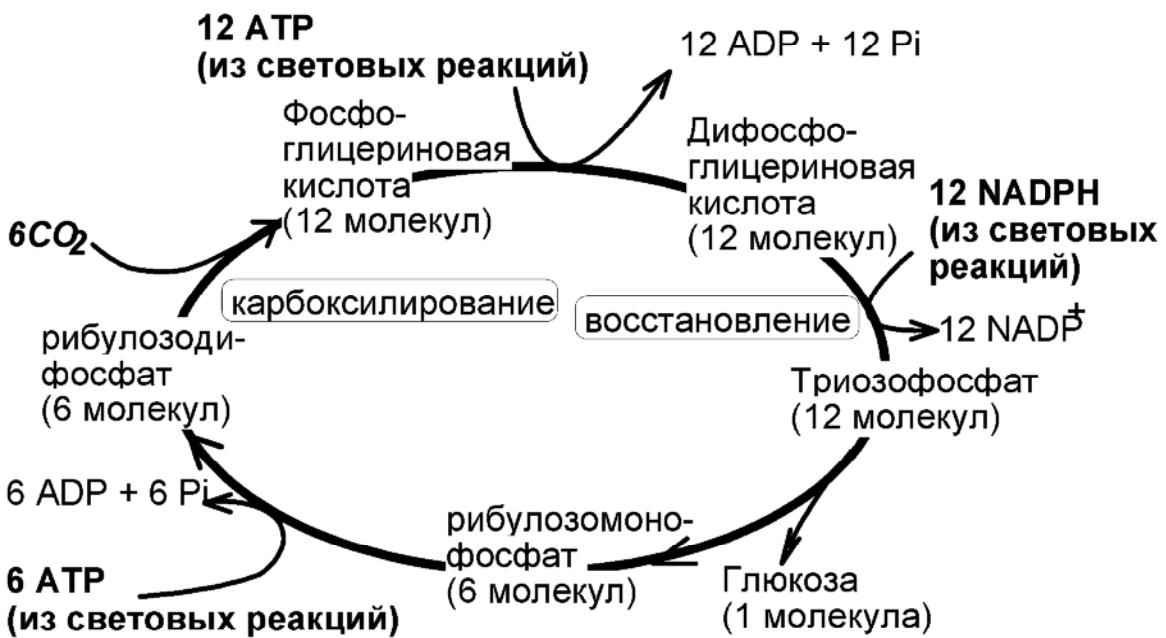
Темновая фаза не зависит от квантов света и протекает за счет запасенных в световой фазе NADPH и АТФ. Ферменты, вовлеченные в темновую фазу, восстанавливают атмосферный СО₂ до углеводов ((CH₂O)_n), используя NADPH, АТФ и протоны. Этот процесс фиксации СО₂ и образования углеводов состоит из многих этапов, сумма которых называется **циклом Кальвина**.

ЦИКЛ КАЛЬВИНА.

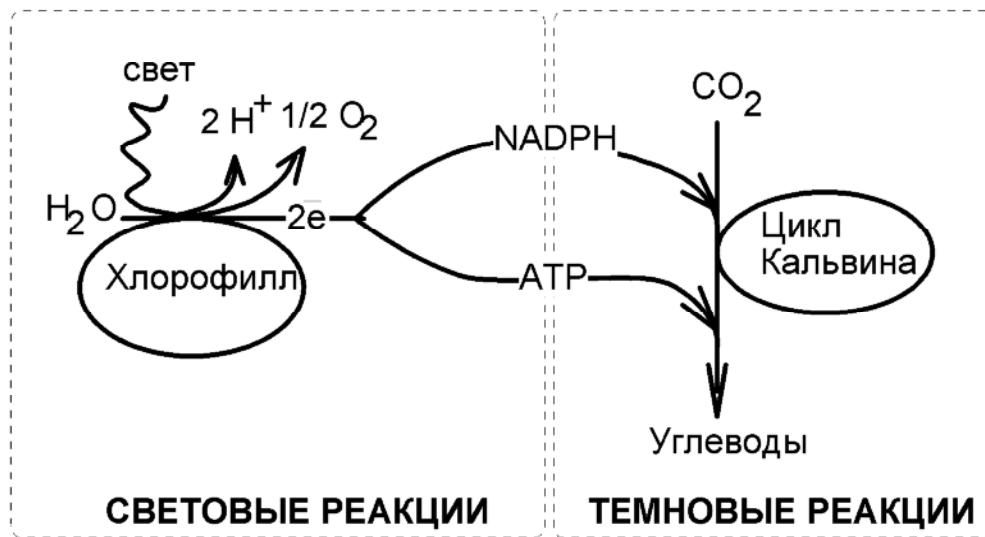
Ферменты, участвующие в темновых реакциях фотосинтеза, растворены в строме хлоропласта, однако фермент, катализирующий включение СО₂, расположен на поверхности тилакоидных мембран.

Процесс восстановления СО₂ начинается с его присоединения к рибулозодифосфату (C₅-углевод), в результате образуется короткоживущее C₆-соединение, которое сразу распадается на 2 триозы (фосфоглицерат). Дальнейшие реакции превращения фосфоглицерата приводят к связыванию СО₂, синтезу различных гексоз и пентоз, регенерации рибулозодифосфата и к новому его вовлечению в цикл.

В конечном счете, в строме хлоропласта из 6CO₂ образуется одна молекула гексозы (фруктозо-6-фосфат), для этого затрачивается 12NADPH и 12ATF, поступающих из световых реакций фотосинтеза. Фруктозоди-фосфат, образованный в результате темновых реакций фотосинтеза, дает начало сахарам, полисахаридам (крахмал, целлюлоза) и т.д..



Упрощенная схема цикла Кальвина — пути фиксации углерода при фотосинтезе



Продукты световых и темновых реакций фотосинтеза