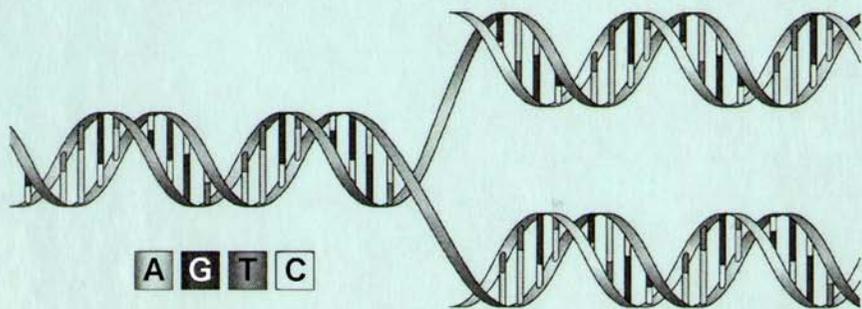


А. Н. Огурцов

# ОСНОВЫ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ

**1** часть

Молекулярная  
биология  
клетки



Учебное пособие

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ УКРАИНЫ  
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ  
«Харьковский политехнический институт»

А.Н. Огурцов

## ОСНОВЫ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ

Учебное пособие

В двух частях

**Часть 1**

**Молекулярная биология клетки**

Утверждено  
редакционно-издательским  
советом университета,  
протокол № 1 от 24.06.2010 г.

Харьков НТУ «ХПИ» 2011

ББК 28.070  
О 39  
УДК 576.32

Рецензенты:

*А.И. Божков*, д-р биол. наук, профессор, Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина

*Е.М. Климова*, д-р биол. наук, профессор, Институт общей и неотложной хирургии АМН Украины

Навчальний посібник містить матеріали з основних питань першого розділу курсу «Молекулярна біологія» відповідно до програми підготовки студентів напряму «Біотехнологія».

Призначено для студентів напряму підготовки 051401 «Біотехнологія», що навчаються за курсом «Молекулярна біологія», в тому числі іноземних студентів, усіх форм навчання.

**Огурцов, А. Н.**

О 39 Основы молекулярной биологии : учеб. пособие : в 2-х ч. – Ч. 1. : Молекулярная биология клетки / А. Н. Огурцов. – Харьков : НТУ «ХПИ», 2011. – 304 с. – На рус. яз.

ISBN 978-966-593-879-8 (полное издание)

ISBN 978-966-593-880-4 (ч. 1)

Учебное пособие содержит материалы по основным вопросам первого раздела курса «Молекулярная биология» в соответствии с программой подготовки студентов направления «Биотехнология».

Предназначено для студентов направления подготовки 051401 «Биотехнология», обучающихся по курсу «Молекулярная биология», в том числе иностранных студентов, всех форм обучения.

Ил. 192. Табл. 9. Библиогр.: 58 назв.

**ББК 28.070**

ISBN 978-966-593-879-8 (полное издание)

ISBN 978-966-593-880-4 (ч. 1)

© А.Н. Огурцов, 2011

## ВСТУПЛЕНИЕ

Предметом учебной дисциплины "Молекулярная биология" являются биофизические и биохимические молекулярные механизмы процессов в живой клетке. Курс "Молекулярная биология" состоит из трёх разделов: основы молекулярной биологии, основные молекулярные генетические механизмы и молекулярные основы генных технологий. Научную основу курса "Молекулярная биология" составляют физика и биофизика, биохимия и биофизическая химия, молекулярная биофизика и ферментативный катализ.

Методическими основами курса являются лекции, в которых излагаются основные положения каждого раздела, практические занятия и самостоятельная работа студентов, являющаяся основным способом усвоения материала в свободное от аудиторных занятий время.

Для самостоятельной работы выделяется больше половины общего объема времени, предназначенного для изучения данной дисциплины. Самостоятельная работа проводится по всем темам, входящим в дисциплину. В процессе самостоятельной работы студент учится самостоятельно приобретать знания, которые затем используются в ходе выполнения индивидуального задания, практических занятий, при подготовке к выполнению контрольных работ и к экзамену.

Настоящее пособие подготовлено на основе исправленных и дополненных пособий [1, 2] и адаптированных работ [3–28], послуживших так-

же источником иллюстраций, таким образом, чтобы максимально облегчить усвоение раздела "Основы молекулярной биологии" курса "Молекулярная биология" студентам направления подготовки 051401 "Биотехнология". Перед работой с пособием следует внимательно изучить материал пособий [3, 4], без которого невозможно понимание клеточных механизмов и процессов на молекулярном уровне.

## 1. МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ. ПРЕДМЕТ И ОСНОВНЫЕ РАЗДЕЛЫ КУРСА

### 1.1. Разнообразие и всеобщность клеток

Подобно нам самим, отдельные клетки, которые формируют наше тело, могут *расти, размножаться, воспринимать сигналы, реагировать на воздействия* и *осуществлять* невообразимое множество химических реакций. Эти свойства и определяют живой организм (или просто организм, как мы будем говорить далее).

Человек, как и другие *многоклеточные* организмы, состоит из миллионов и миллиардов клеток, но существуют и организмы, которые состоят всего из *одной* клетки, и при этом такие одноклеточные организмы демонстрируют *все без исключения* свойства присущие любым другим организмам. Поэтому, можно без преувеличения утверждать, что *клетка* – это *фундаментальная единица* жизни, тот "кирпичик" из которого строится всё многообразие "архитектуры" жизни.

С началом XXI века совпал "бум" в познании клетки, её организации и механизмах протекающих в ней процессов. Количество информации о компонентах клетки, структурах, из которых они состоят, и которые состоят из клеток, о механизмах объединения, взаимного влияния и взаимодействия клеток растёт *лавинообразно*.

Именно сейчас, в начале третьего тысячелетия, человечество достигло такого уровня знаний в физике, химии и прикладной математике (компьютеры), и разработало такие микро- и нано-скопические методики исследований, сложных биологических объектов, что стало возможным не только *отслеживать* внутриклеточные процессы на молекулярном

уровне, *но и управлять* биохимическим "производством" внутри клетки, *программируя* работу клеточных "биологических фабрик", для получения в *промышленных масштабах* тех нужных человечеству продуктов, которые способны синтезировать клетки.

Вот почему знания о механизмах внутриклеточных процессов составляют основу *современной биотехнологии*.

Сразу стоит заметить, что чем больше человек узнает о биологических процессах, тем *больше* возникает вопросов и направлений изучения, тем больше оказывается задач и проблем, которые ждут своих исследователей. Например, как информация распространяется по клетке и между клетками, каков механизм принятия клеткой "решения", о том, каким именно образом реагировать на то или иное внешнее (или внутреннее) событие.

*Молекулярная биология клетки* – это сложная интегрирующая наука, в которой объединяются вместе биохимия, биофизика, молекулярная биология, все виды микроскопии, генетика, физиология, компьютерная визуализация и моделирование, и биология развития организмов.

Каждая из этих отраслей, представляет собой самостоятельную науку, со своими методами теоретического и экспериментального исследования, а молекулярная биология клетки *объединяет* их результаты, рассматривая само явление *жизни* в качестве объекта исследования.

Клетки обладают колоссальным *разнообразием формы и размеров*. На рисунке 1 показаны микрофотографии некоторых клеток.

Рисунок 1(а) – окруженная сперматозоидами *яйцеклетка человека* диаметром порядка 0,2 мм, из которой в результате деления и дифференцировки получается тридцать триллионов ( $30 \times 10^{12} = 2^{45}$ ) клеток человеческого организма.

Рисунок 1(б) – клетки *Lactococcus lactis* – *зубобактерии*, которые используются при производстве таких сортов сыра, как Рокфор (*Roquefort*), Бри (*Brie*) и Кэмемберт (*Camembert*).

Рисунок 1(в) – *колония археобактерий Methanosarcina*, которые получают энергию для жизнедеятельности превращая двуокись углерода и водород в метан.

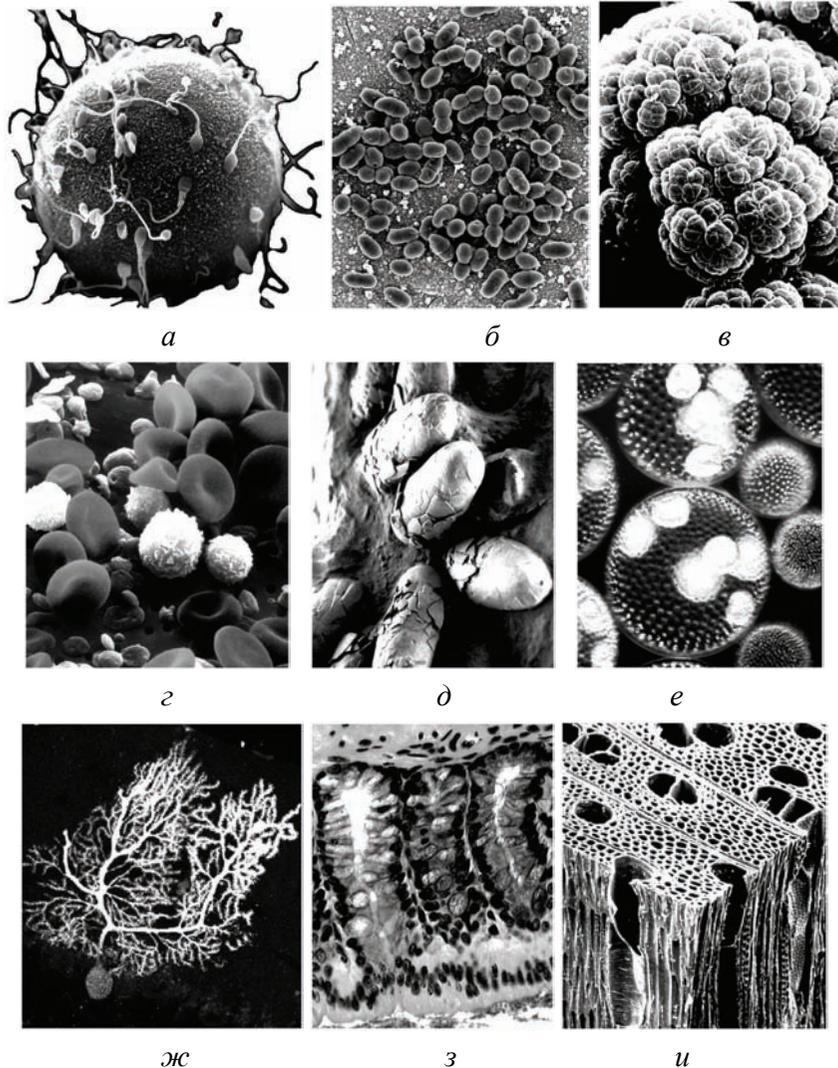


Рисунок 1 – Микрофотографии некоторых клеток

Рисунок 1(г) – *клетки крови*: гладкие округлые большие клетки, напоминающие береты – эритроциты переносящие кислород; белые ворсистые шарики – лейкоциты, часть иммунной системы; небольшие

эллипсоидальные клетки – тромбоциты, обеспечивающие сворачивание крови при ранении.

Рисунок 1(д) – окаменевшие *яйца динозавров*.

Рисунок 1(е) – *колонии одноклеточных водорослей Volvox aureus*; большие сферы состоят из индивидуальных клеток, которые видны на рисунке в виде светлых точек, большие светлые пятна внутри сфер – это дочерние колонии клеток.

Рисунок 1(ж) – одна клетка – *нейрон мозжечка*, который может образовывать более сотни тысяч контактов с другими клетками через разветвленную сеть дендритов. Клетка визуализирована введением в нее специальных флуоресцентных белков. Собственно тело клетки – это серый шар в нижнем левом углу рисунка.

Рисунок 1(з) – *срез стенки кишечника* – клетки могут образовывать эпителиальные ткани. Каждый из трех пальцеобразных структур, показанных на рисунке, состоит из стопки клеток. Питательные вещества переносятся из перевариваемой пищи через кишечный эпителий в кровь, которая разносит их по всему организму. Новые клетки постоянно образуются у основания этих структур, а старые клетки удаляются, сбрасываются, с вершины этих "столбов".

Рисунок 1(и) – *клетки растений* жестко зафиксированы на своем месте целлюлозным скелетом растений. Пространство между клетками организовано в капилляры для транспорта воды и питательных веществ.

Разнообразие клеток чрезвычайно. Некоторые клетки очень подвижны и легко изменяют свою *форму*, как амебы и коловратки (*rotifers*). Другие *стабильны и неподвижны*.

*Кислород* убивает некоторые клетки, но абсолютно необходим для других.

Большинство клеток многоклеточного организма между собой *взаимосвязаны и взаимозависимы*. Хотя некоторые одноклеточные организмы способны жить в *изоляции*, другие образуют *колонии* или живут в *симбиозе* с другими типами организмов, как, например, бактерии, которые помогают растениям усваивать азот из воздуха или бактерии, которые живут в кишечнике человека, помогая переваривать пищу.

Но, несмотря на все эти и другие различия, *все клетки* имеют *подобную* структуру и осуществляют многие сложные процессы практически одинаково.

Прежде всего, в зависимости от того есть ли в клетках ядро или нет, все клетки делятся на *прокариотические* (безъядерные или, точнее, доядерные) и *эукариотические*.

Прокариотические клетки представляют собой область, окруженную клеточной мембраной, не имеющую четкого ядра (рисунок 2(а)).

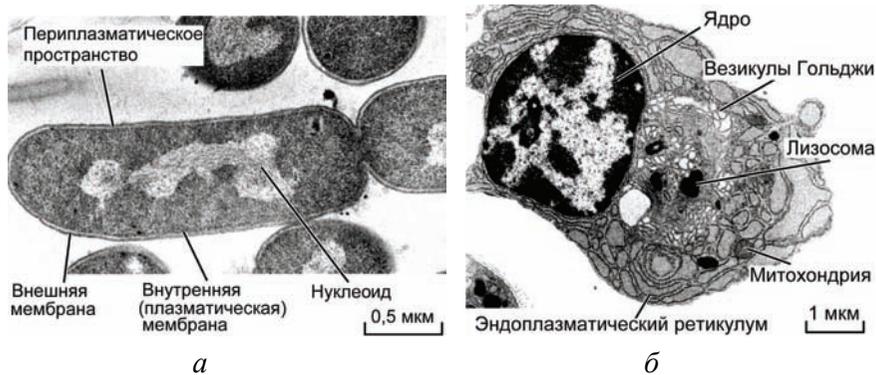


Рисунок 2 – Электронные микрофотографии двух типов клеток: а – прокариотическая клетка *Escherichia coli*; б – эукариотическая клетка белого кровяного тельца

Наиболее многочисленными являются *бактерии*. Сухой вес, например, кишечной палочки (*Escherichia coli*) составляет  $25 \times 10^{-14}$  г (четверть пикограмма), но при этом вес всех бактерий в человеке составляет 1–1,5 кг. По оценкам на Земле  $5 \times 10^{30}$  бактерий весящих  $10^{12}$  кг (миллиард тонн). Прокариотические клетки были найдены на глубине 10 км в океане, и на высоте 12 км в атмосфере.

Количество углерода, содержащееся в бактериях сравнимо с количеством углерода, содержащегося во всех растениях Земли.

Клетки *эукариот* имеют четко выраженную *структуру*: клеточное ядро и цитоплазму, которая состоит из цитозоля и органелл цитоплазмы. Эукариоты – это все члены царств растений и животных, включая грибы, (*fungi*) которые существуют в виде многоклеточных (плесень, *mold*) и

одноклеточных (дрожжи, *yeast*) форм, и простейшие (*protozoans* – *proto*, примитивные; *zoan*, животные), которые исключительно одноклеточные.

В настоящее время считается, что все клетки произошли от *общего предка*, поскольку основные структуры, основные молекулы и основные метаболические процессы во всех клетках одинаковы. Подробный анализ ДНК различных прокариотических организмов выявил существование двух их типов: так называемые "настоящие" бактерии или *эубактерии*, и *археобактерии*. Считая, что организмы с более подобными генами разошлись в своем эволюционном развитии не так давно, как организмы с большими отличиями в структуре генов, исследователи восстановили эволюционное генеалогическое дерево, показанное на рисунке 3.

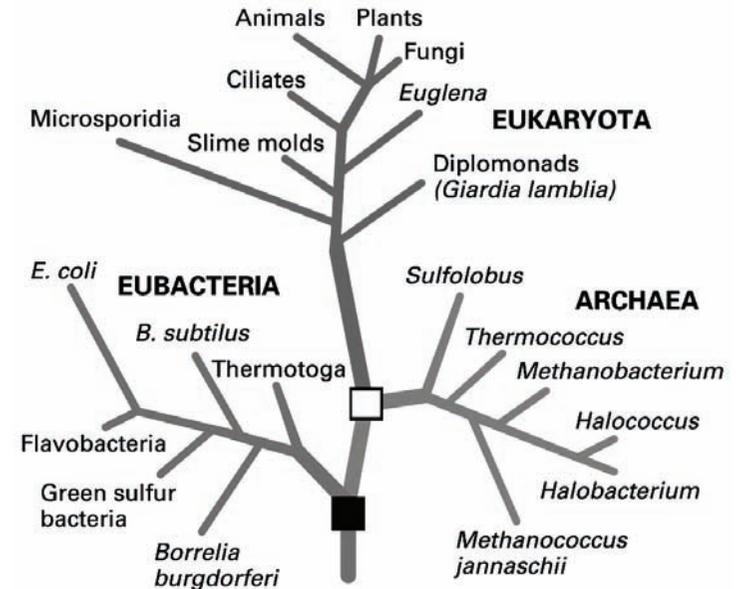


Рисунок 3 – Эволюционное дерево видов: (■) – общий предок, (□) – предок археобактерий и эукариот

Согласно этому эволюционному дереву *археобактерии* и *эукариоты* отделились от "настоящих" бактерий до того, как они разделились между собой.

Многие археобактерии живут в необычных, часто *экстремальных условиях*, которые дают представление о тех "доисторических" условиях, в которых зарождалась жизнь.

Например, галофилы ("любящие соль") требуют повышенной концентрации солей в окружающей среде, термоацидофилы ("тепло- и кислото- (*acid*) -любивые") живут в горячих (80°C) серных источниках, где pH обычно менее 2.

Другие археобактерии живут в бескислородной среде и синтезируют метан соединяя воду и CO<sub>2</sub>.

## 1.2. Биомакромолекулы

Молекулярная биология клетки рассматривает биологические процессы *на молекулярном* уровне – все "события" в клетке являются результатом взаимодействия индивидуальных молекул: синтез макромолекул из компонентов, объединение макромолекул в единый комплекс, каталитические эффекты, которые обеспечивают протекание конкретных химических реакций, считывание и использование информации, заключенной в макромолекулах.

Внутренность клеток заполнена густым водным "супом" малых молекул (простые сахара, аминокислоты, витамины и т. д.) и ионов (натрий, хлор, кальций и т. д.), положение и концентрация которых в данной точке клетки контролируется совместной работой большого числа белков, внедренных в клеточные мембраны. Эти белковые насосы, транспортёры и каналы перемещают нужные молекулы в нужном направлении и в нужные органеллы клетки.

Определенные малые молекулы (мономеры) могут быть соединены с образованием *полимеров*.

Наиболее важные из полимеров это *полисахариды, белки и нуклеиновые кислоты* – их часто объединяют под общим названием *биологические макромолекулы*.

То, каким образом построен полимер из мономеров, обеспечивает важную функцию макромолекул – хранение и передачу информации.

**Белки** являются основными "агентами" клетки, осуществляющими большинство механических и химических преобразований в клетке. Они синтезируются в клетке из 20 аминокислот и состоят в среднем из 100–1000 аминокислот. После синтеза белковая цепь *самопроизвольно сворачивается*, приобретая определенную трехмерную структуру, которая и определяет функциональную *специфичность* данного белка. Разнообразие белковых структур безгранично. Модели некоторых из белковых молекул, а также ДНК и липидного бислоя плазматической мембраны, выполненные с сохранением пропорций, показаны на рисунке 4.

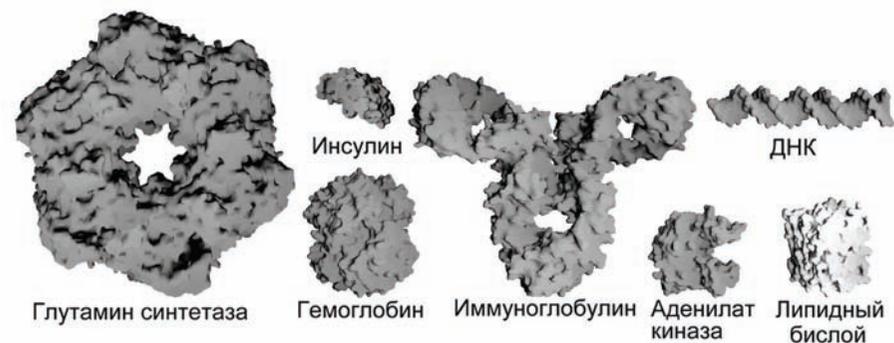


Рисунок 4 – Модели некоторых биомолекул

Подобные белки представляют собой *белковые семейства*. Известно несколько сотен таких белковых семейств. Белки выполняют множественные *функции* в клетке. Они являются *структурными компонентами* внутри- и внеклеточного матрикса, *сенсорами* и *переносчиками* химических сигналов, *катализаторами* биохимических реакций (ферменты), *управляют экспрессией генов* (белковые репрессоры и активаторы), работают "*насосами*" перемещая другие молекулы и ионы.

Построенные всего из 20 аминокислот белки реализуют всё разнообразие всех биофункций всех биоструктур. Средний белок состоит из 400 аминокислот, поэтому в принципе возможно 20<sup>400</sup> различных белковых структур.

Наглядной является *оценка количества белков*, которые использует одна клетка для обеспечения своей жизнедеятельности. Возьмем, к примеру, клетку печени *гепатоцит*, объемом  $3,4 \times 10^{-9} \text{ см}^3$ , и плотностью  $1,03 \text{ г/см}^3$ , откуда вес клетки равен  $3,5 \times 10^{-9} \text{ г}$ . Поскольку белки составляют приблизительно 20% веса клетки, общая масса белков гепатоцита составляет  $7 \times 10^{-10} \text{ г}$ . Средний белок дрожжей имеет молекулярный вес  $52\,700 \text{ г/моль}$ . Отсюда среднее число белков в гепатоците порядка  $7,9 \times 10^9$  ( $N_A = 6,02 \times 10^{23}$ ). Клетка гепатоцита состоит из порядка 10 000 различных белков, поэтому клетка содержит в среднем приблизительно *по 1 миллиону молекул белка каждого вида*. Конечно же, это очень грубая и приблизительная оценка, поскольку число белков колеблется от достаточно редких инсулин-связывающих рецепторов (20 000 молекул) до многочисленных молекул структурного белка актина ( $5 \times 10^8$  молекул).

**Нуклеиновые кислоты** представляют собой *второй* обширный класс биомакромолекул. Дезоксирибонуклеиновая кислота несет в себе информацию о том, как, где и когда синтезировать тот или иной белок. Трехмерная структура ДНК представляет собой *двойную спираль*, цепи которой состоят из мономеров – *нуклеотидов*.

Четыре различных нуклеотида аденин, тимин, цитозин и гуанин, комплементарно спариваясь парами А–Т, С–G, формируют двойную спираль (рисунок 5). В ходе *репликации* спираль расплетается на две нити, каждая из которых служит матрицей для синтеза комплементарной дочерней цепи, в результате образуется две копии исходной родительской спирали.

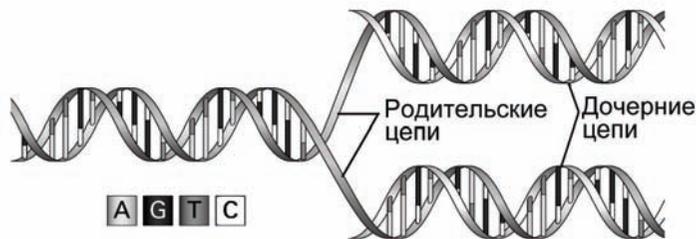


Рисунок 5 – Схема репликации ДНК

Генетическая информация о структуре белков хранится в ДНК в виде *генов* – последовательности нуклеотидов, кодирующих нужный белок или РНК, длиной, обычно, от 5000 до 100 000 нуклеотидов. *Геном* (совокупность всех генов) *бактерий* – несколько тысяч генов, *геном человека* – около 40 000 генов. Гены, наряду с *кодирующей областью*, содержат *управляющие участки*, воздействуя на которые клетка может *управлять экспрессией* генов.

Клетки используют последовательность двух процессов – *транскрипцию* и *трансляцию* – для превращения генной информации в синтезированные белки (рисунок 6).

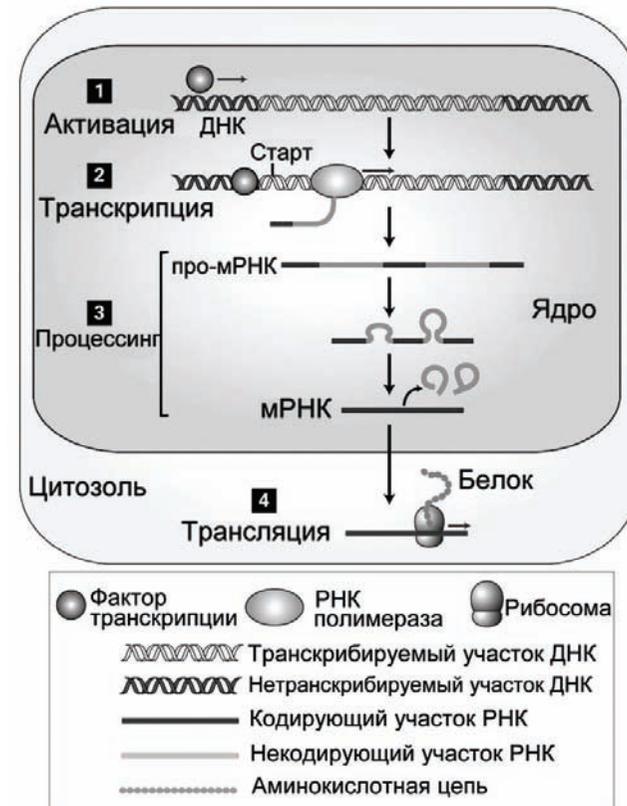


Рисунок 6 – Схема генетических механизмов синтеза белков в клетке эукариот

В ходе транскрипции копирование гена в РНК (*про-РНК*) осуществляет фермент *РНК-полимераза*. В клетках эукариот эта РНК преобразуется в функциональную *матричную РНК (мРНК)* в ходе *процессинга* РНК, при котором из про-РНК удаляются *некодирующие* участки (*интроны*), а кодирующие (*экзоны*) соединяются вместе.

мРНК перемещается *из ядра в цитоплазму*, соединяется с малой и большой субъединицами рибосомы и начинается *трансляция* – синтез полипептидной цепи белка.

*Регуляция* процесса *синтеза* белков осуществляется с помощью *факторов транскрипции* – специфических белков, связывающихся с ДНК и стимулирующих активацию или репрессию экспрессии генов.

Большая часть *ДНК эукариот* расположена в ядре и упакована в хромосомы.

*ДНК прокариот* обычно представляет собой замкнутую в кольцо молекулу беспорядочно свернутую в нуклеоид в центральной части клетки.

### 1.3. Функционирование клеток

Вообще говоря, клетка это просто некий *объем водной среды*, отделенный от окружающей среды клеточной мембраной, которая называется *плазматической мембраной*, и которая не дает свободно перемещаться молекулам внутрь клетки и наружу из клетки. Кроме того, клетки эукариот имеют развитую *систему внутренних мембран*, которые отделяют различные внутриклеточные органеллы. Мембраны состоят из *двойного слоя молекул фосфолипидов*, которые имеют гидрофильную полярную головку и гидрофобный углеводородный хвост (рисунок 7).

Взаимодействие с водным окружением приводит к *ориентации* молекул фосфолипидов в бислое полярной головкой наружу, а неполярными хвостами внутрь бислоя.

В биомембраны входят также некоторые *другие липиды*, как, например, холестерол, и *множество белков*, которые могут как *свободно перемещаться* в плоскости мембраны (плавать в жидкой мембране), так и *быть жестко прикрепленными* к внутри- или внеклеточному матриксу.

Цитозоль клетки и внеклеточное пространство существенно отличаются по солевому, ионному и аминокислотному составу. Свой собственный "микроклимат" имеют и клеточные *органеллы*, что позволяет реализовать "*разделение труда*" между ними.

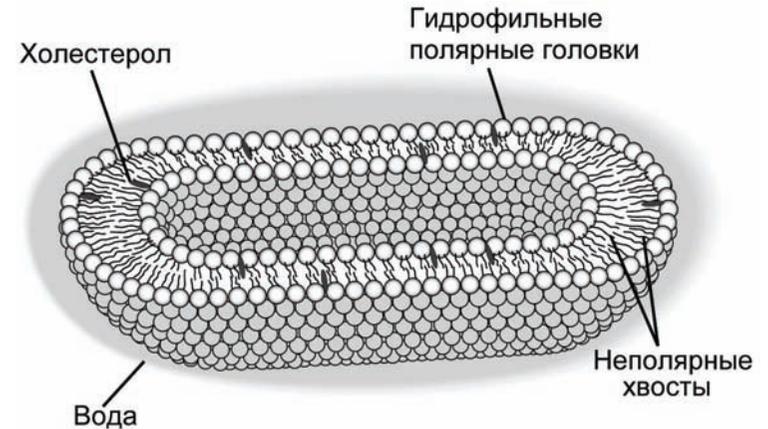


Рисунок 7 – Схема строения плазматической мембраны клетки

Можно образно сравнить клетку с *фабрикой*, а клеточные органеллы – с различными цехами этой фабрики. Все процессы синтеза на этой фабрике реализуются за счет *энергии*, предварительно извлеченной из *сахаров, жиров или солнечного света* и запасенной в *АТФ*. В клетках животных и растений большинство АТФ синтезируется в *митохондриях* и *хлоропластах* из АДФ и неорганического фосфата P<sub>i</sub> (индекс "i" означает "*inorganic*"). Энергия ΔE, выделяющаяся при гидролизе АТФ,



используется во многих энергозависимых клеточных процессах.

Вообще говоря, прямо или косвенно *все* питательные вещества в биосфере были созданы клетками растений с использованием солнечного света для синтеза сложных макромолекул в ходе фотосинтеза.

Для выполнения *специфических* функций клетке нужны *специфические* белки. *Синтез белков* происходит на рибосомах либо в цитозоле, либо в цистернах *эндоплазматического ретикулула*. Последнее характерно для белков, секретируемых клеткой, и для большинства мембранных белков. Дальнейшее "созревание" и модификация белков происходит в *аппарате Гольджи*.

Белки, которые перемещаются из эндоплазматического ретикулула в аппарат Гольджи, имеют специальные *короткие последовательности* аминокислот или присоединенные цепочки *сахаров* (олигосахариды), которые срабатывают как *почтовый адрес*, направляя белки к их месту назначения. Эти "адреса" распознаются и связываются другими белками, которые осуществляют сортировку и доставку транспортируемых белков в необходимый компартмент клетки.

Внутренний *цитоскелет* и внешние *клеточные контакты* придают клеткам специфическую форму. Цитоскелет животных клеток формируется из трех типов белков и представляет собой *микрофиламенты* или белковые нити, *промежуточные волокна* и *микротрубочки* (рисунок 8).

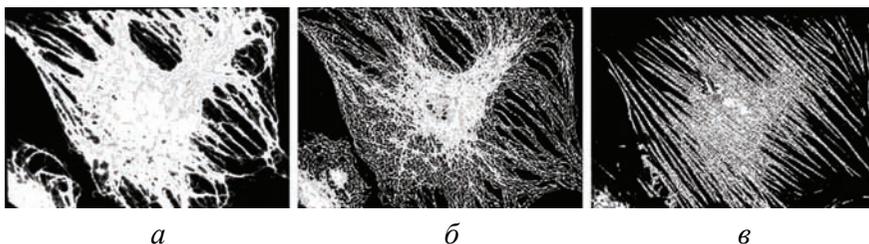


Рисунок 8 – Микрофотографии элементов цитоскелета клетки: *а* – промежуточные волокна, *б* – микротрубочки, *в* – микрофиламенты

*Цитоскелет* участвует в *движении клетки* как целого, и во внутриклеточном транспорте везикул, хромосом и макромолекул. Цитоскелет через поверхность клетки может *присоединяться* к *внеклеточному матриксу* или *цитоскелету* других клеток, формируя тем самым *специфическую ткань*.

Все виды цитоскелета представляют собой *длинные полимеры* белковых субъединиц, и *разборка и сборка* этих полимеров в нужном месте клетки позволяет ей изменять форму, выпячивать и втягивать участки мембраны, тем самым перемещаться в нужном направлении со скоростью до 20 мкм/с. *Движение отдельных клеток* многоклеточного организма происходит:

- 1) во время развития эмбриона и формирования тканей,
- 2) при защите от инфекции,
- 3) при транспорте питательных веществ,
- 4) при заживлении ран.

Клетки *растений не движутся* поодиночке. Новые клетки появляются в результате деления уже существующих и развитие растения происходит за счет роста клеток, а *не их перемещения* с места на место.

Клетки постоянно получают *информационные сигналы* извне и реагируют на них соответствующим образом. Внешние сигналы могут быть в виде небольших химических молекул, белков, фотонов (света) и механического движения. Сигналом может быть как *увеличение* так и *уменьшение* интенсивности внешнего воздействия.

*Способность* клеток *получать внешние сигналы* и реагировать на них является *критически важной* как для дифференцировки клеток, так и для развития вообще. Причем ответный сигнал (реакция) клетки может *варьироваться* в зависимости от *комбинации* полученных сигналов.

Существует большое количество сенсорных клеточных систем. *Условно* их можно *разделить* на *простые*, когда реакция рецептора на внешний сигнал сразу передается активируемому белку, и *сложные*, когда внешний сигнал активирует экспрессию генов, что в свою очередь запускает белковый синтез (рисунок 9).

Связывание гормона или другой сигнальной молекулы с специфическим мембранным рецепторным белком может *непосредственно* запустить внутриклеточный процесс, который повышает или снижает активность ферментов (рисунок 9(а)).

Например, *пища богатая углеводами* приводит к повышению *концентрации сахара* в крови, что стимулирует выделение инсулина клетками поджелудочной железы в кровотоки. Связывание *инсулина* с рецептором на мембране клеток печени или мышц приводит к активации фермента *гликоген синтаза*, который синтезирует гликоген из глюкозы, тем самым снижая уровень сахара в крови и запасая гликоген в клетках.

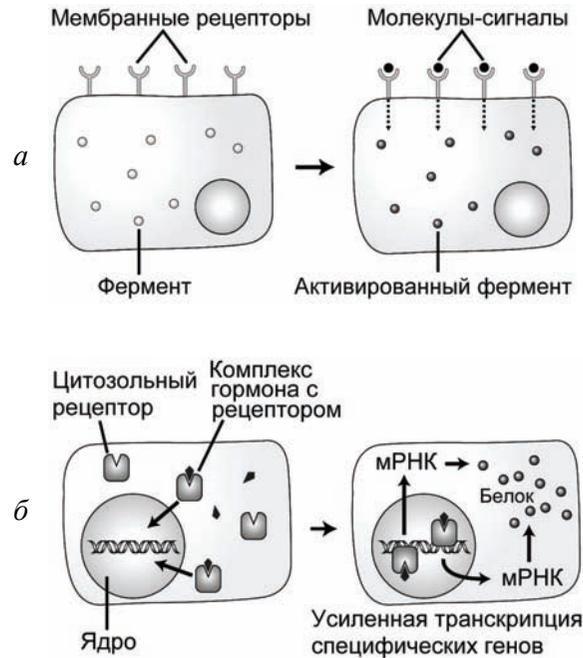


Рисунок 9 – Схемы сенсорных систем: а – простая; б – сложная

Рецепторы для *стероидных гормонов* расположены в цитозоле клетки, а не на внешней мембране (рисунок 9(б)). Комплекс рецептора с гормоном *активирует транскрипцию* специфических генов, что приводит к усилению синтеза специфических белков. Многие мембранные рецепторы также запускают сложные системы отклика клетки на внешнее событие, изменяя экспрессию генов.

Самым впечатляющим свойством клеток и целых организмов является, конечно же, их *способность к воспроизводству*. Биологическая репродуктивность в комбинации с эволюционной селекцией самых функционально эффективных качеств приводят к удивительной *стабильности биологических видов*.

Например, камчатский краб сегодня выглядит точно так же как и 300 миллионов лет назад, геологическое время, за которое в среднем возникает, растёт, разрушается и исчезает с лица Земли горная система. Так, например, растущие Скалистые горы возникли только 10 миллионов лет назад, за это время сменилось 500 000 поколений крабов (продолжительность жизни краба порядка 19 лет). Нам кажется, что биологические структуры изменчивы, а геологические постоянны только потому, что продолжительность нашей собственной жизни коротка. Именно способность к воспроизводству обеспечивает то "бессмертие" биологическим структурам, которого нет у геологических объектов.

Простейший тип размножения представляет собой *деление клетки* на две дочерние, которое происходит в ходе *клеточного цикла* – последовательности событий, в ходе которых клетка готовится к делению, и собственно деления, которое называется *митоз*.

В клетках эукариот выделяют *четыре фазы* (этапа) деления (рисунок 10).

В ходе фазы S (*synthesis*) происходит *репликация ДНК* и набор хромосом удваивается. Реплицированные хромосомы *разделяются* в ходе фазы М (*mitotic*), во время которой каждая дочерняя клетка получает копию каждой хромосомы родительской клетки в ходе деления. Фазы М и S разделены паузами – этапами G<sub>1</sub> и G<sub>2</sub> (*gap* – щель, промежуток, "окно"), в ходе которых происходит активный синтез мРНК и белков.

В среднем клеточный цикл занимает 10–20 часов. В ходе *интерфазы*, которая включает S, G<sub>1</sub> и G<sub>2</sub> фазы, масса клетки практически удваивается. В *митотической* М-фазе хромосомы и содержимое клетки делятся поровну между дочерними клетками. В *особых случаях* таких, как голод или если ткань достигнет необходимого размера, клеточное циклирование прекращается и клетки остаются в "ждушем" режиме, называемом G<sub>0</sub>.

Большинство клеток при соответствующих условиях могут из  $G_0$ -режима снова перейти в клеточный цикл.

В одноклеточных организмах обе дочерние клетки обычно (но не всегда) такие же, как родительская клетка. В многоклеточных организмах в результате деления *стволовых* клеток образуются *две разные* клетки, одна из которых подобна родительской (стволовой) а другая – нет.

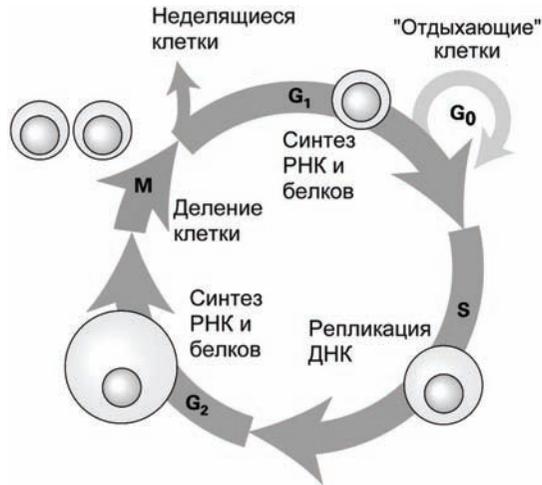


Рисунок 10 – Схема клеточного (митотического) цикла

Такой тип *асимметричного* деления позволяет *дифференцироваться* тканям.

Митоз представляет собой *неполовой* способ размножения, поскольку дочерняя клетка наследует точно тот набор генов, который был в родительской клетке.

При *половом* размножении происходит слияние двух клеток и образование третьей клетки, которая содержит генетическую информацию обеих родительских клеток.

Поскольку такое слияние удваивает число хромосом, то половой цикл размножения включает особый тип клеточного деления, *мейоз*, в ходе которого уменьшается число хромосом при подготовке к слиянию кле-

ток (рисунок 11). Клетки с полным набором хромосом называются *диплоидными*.

В ходе мейоза диплоидные клетки один раз *удваивают набор хромосом* как при обычном митозе, но затем *дважды осуществляют деление*, не реплицируя ДНК между делениями.

В результате образуются *четыре* дочерние клетки, каждая из которых несет половинный набор хромосом, их называют *гаплоидными*.

Гаплоидные клетки животных – яйцеклетки и сперматозоиды – называют *гаметами*.

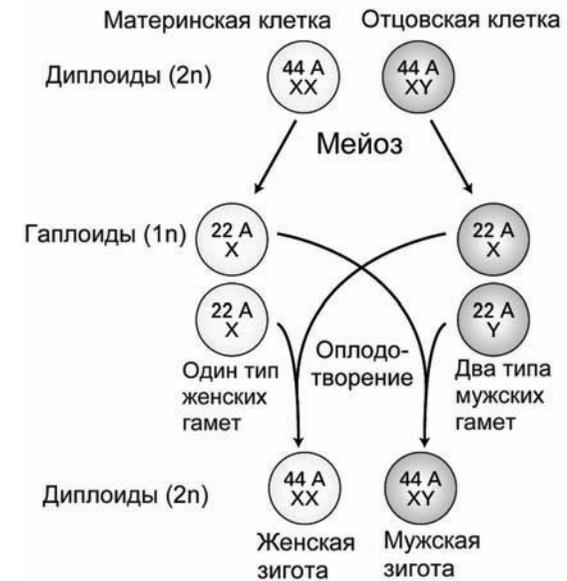


Рисунок 11 – Схема половой дифференциации при мейозе

Клетка *человека*, из которой образуются гаметы, имеет 46 *хромосом*: 44 неполовых хромосомы, которые называются *аутосомами* (*autosomes*) и 2 половые хромосомы X и Y.

В ходе мейоза образуются *разные мужские* гаметы с 22 аутосомами и одной (X или Y) половой хромосомой. Обе *женские* гаметы (яйцеклетки) *одинаковы* – они содержат 22 аутосома и X-хромосому. Слияние

яйцеклетки и сперматозоида (оплодотворение) образует оплодотворенную яйцеклетку, зиготу, с 46 хромосомами, по 22 аутосомы от отца и матери плюс две X-хромосомы в женской зиготе, либо одна X и одна Y в мужской зиготе.

*Ошибки в мейозе* приводят к патологиям вследствие ненормального числа хромосом в зиготе. Например, синдром Дауна вызван лишней хромосомой номер 21, а синдром Клайнфельтера – лишней X-хромосомой.

Поврежденная или инфицированная клетка *умирает*. Смерть клетки в результате такого "травматического" события сопровождается выделением из клетки токсичных или агрессивных веществ, что приводит к повреждению окружающих клеток.

*Иначе* развиваются события, когда клетка отмирает если она *не получает* сигналов о продолжении функционирования или, наоборот, *получает* сигнал об отмирании. Такая *программируемая смерть* клетки называется *апоптоз*. При апоптозе клетка сама синтезирует белки, необходимые для самоуничтожения, при этом не происходит выделения потенциально токсических веществ.

*Программируемая клеточная смерть* необходима для функционального развития организмов. Так, например, при внутриутробном развитии человеческого плода между пальцами сначала существуют перепонки. Клетки перепонки затем отмирают и у новорожденного пальцы свободны. Отмирают и нервные клетки, если они по каким-либо причинам утрачивают способность осуществлять электрические соединения с другими клетками.

Некоторые *лимфоциты* – клетки иммунной системы, предназначенные для распознавания чужеродных белков и полисахаридов, – могут также *реагировать* и с *собственными тканями* организма. Такие опасные для самого организма лимфоциты *программируются для отмирания еще до их созревания*. Если же эти клетки не будут умерщвлены до окончательного созревания, они могут вызвать аутоиммунные заболевания, при которых иммунная система разрушает те ткани, которые она должна защищать.

#### 1.4. Исследование клеток и их частей

Мир биологии различается в размерах более чем в миллиард раз (рисунок 12). К этой шкале размеров биологических объектов примыкают экология и биогеография с "макро" стороны, и химия и физика с "микро" стороны. Для наблюдения объектов размером *менее 0,1 мм* необходимо использовать *специальные приборы*, увеличивающие изображение. Реальное наблюдение клеток стало возможным только после изобретения микроскопа в 17 веке.

Микроскопия наиболее *эффективна*, когда применяются специальные *красители* и *люминофоры* для *контрастного окрашивания* разных тканей или разных компонентов клетки (которые в большинстве своем бесцветны).

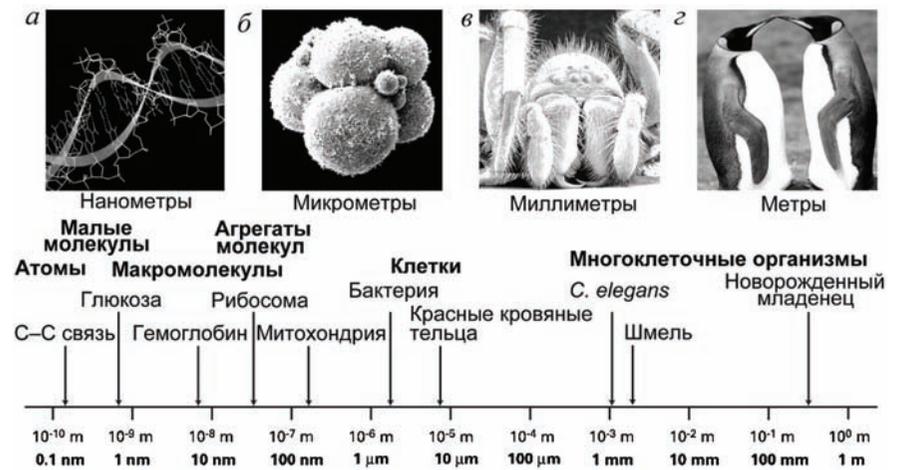


Рисунок 12 – Диапазон размеров биологических объектов: *а* – ДНК; *б* – зародыш человека на третий день после оплодотворения (восемь клеток); *в* – паук размером 15 мм; *г* – императорские пингвины ростом около метра

Так, например, использование флуоресцентных меток, присоединенных к белку тубулину, полимеризация которого формирует микротрубочки, позволило *наблюдать* процесс *митоза*, при котором эти микротрубочки, присоединенные одними концами к центриолям,

а другими – к хромосомам, растягивают хромосомы из экваториальной части делящейся клетки к её полюсам.

На рисунке 13 представлена микрофотография делящейся клетки, на которой видна система *микротрубочек* (ниточки серого цвета, на цветной микрофотографии они окрашены в *красный* цвет), образующих "меридианы", и *хромосомы (черные)* вблизи "полюсов".

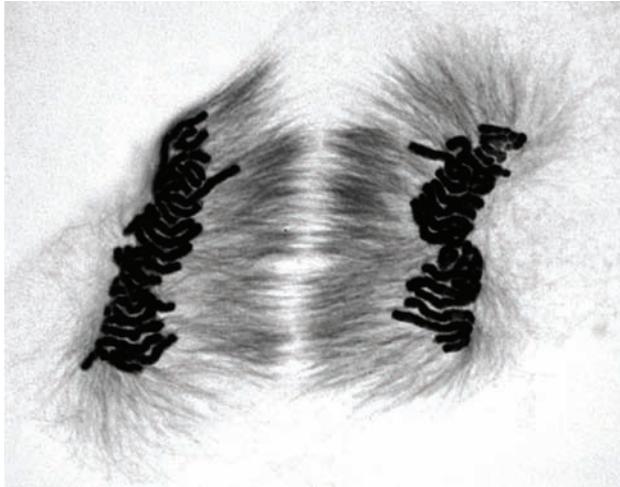


Рисунок 13 – Микрофотография поздней стадии митоза

Использование электронного микроскопа позволило изучить строение большинства клеточных органелл и крупных белковых комплексов.

Для исследования *отдельных белковых молекул* необходимо использовать методики физико-химической очистки и накопления ("обогащения") данного белка фракционированием и разными видами хроматографии.

Трёхмерную структуру макромолекул (их конформацию) определяют методами рентгеновской кристаллографии. Компьютерный анализ полученных рентгенограмм позволяет определить пространственное расположение каждого атома в макромолекуле.

Таким образом, современный уровень знаний о молекулярном функционировании клеток был достигнут благодаря коллективному труду

многих поколений исследователей, изучавших все типы биологических объектов от вирусов и бактерий до птиц, животных и человека. Исторически сложилось, что *эксперименты над определенными организмами* были более удобны в том смысле, что получаемые ответы на вопросы, которые решали экспериментаторы, были более наглядны, однозначны и непротиворечивы именно при работе с данным типом организмов. При этом из-за достаточно высокой при эволюционировании видов консервативности генов, белков, органелл, типов клеток и т. д. результаты и данные о биологических структурах и функциях, полученные в экспериментах над одним организмом, обычно могут быть применены и к другим организмам.

На рисунке 14 представлены типичные биологические объекты, эксперименты над которыми дали наибольший вклад в клеточную и молекулярную биологию.

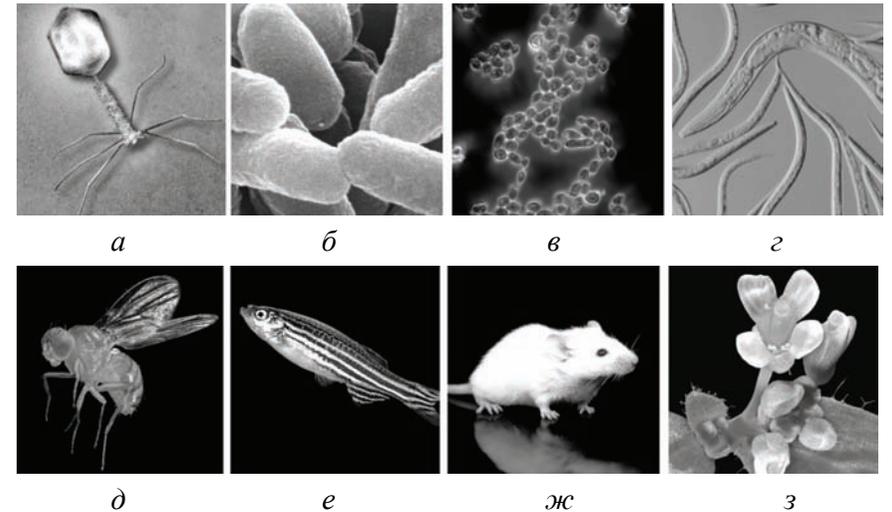


Рисунок 14 – Модельные организмы, используемые в клеточной биологии: *a* – вирусы; *б* – бактерии; *в* – дрожжи; *г* – нематоды; *д* – фруктовая мушка дрозофила; *е* – рыбы (*zebrafish*); *ж* – мыши; *з* – растения

Ниже перечислены те проблемы, в решении которых используются эти модельные организмы.

*Вирусы.* Белки, вовлеченные в синтез ДНК, РНК и белков. Регуляция генной экспрессии. Рак и контроль размножения клеток. Транспорт белков и органелл внутри клетки. Заражение и иммунитет. Генная терапия.

*Бактерии.* Белки, вовлеченные в ДНК и РНК синтез белков. Метаболизм. Регуляция генной экспрессии. Цели для новых антибиотиков. Клеточный цикл. Сигнальные системы.

*Дрожжи (Saccharomyces cerevisiae).* Контроль клеточного цикла и клеточного деления. Секреция белков и биогенез мембран. Функции цитоскелета. Дифференциация клеток. Старение. Генная регуляция и структура хромосом.

*Круглые черви нематоды.* (Организм нематоды *Caenorhabditis elegans* состоит всего из 959 клеток). Развитие организма. Поколения клеток. Формирование и функции нервной системы. Программирование клеточной смерти. Размножение клеток и раковые гены. Старение. Поведение. Генная регуляция и структура хромосом.

*Плодовая мушка (Drosophila melanogaster).* Развитие организма. Генерация дифференцирующихся поколений клеток. Формирование нервной системы, сердца и мускулатуры. Программируемая клеточная смерть. Генетический контроль поведения. Раковые гены и контроль размножения клеток. Контроль клеточной поляризации. Влияние лекарств, алкоголя, пестицидов.

*Данио рерио.* (*Danio rerio*, в англоязычной литературе часто упоминается под названием *zebrafish*). Популярная аквариумная рыбка, эмбрион которой прозрачен и проходит стадии от яйца до личинки за три дня. Развитие тканей тела позвоночных. Формирование и функции мозга и нервной системы. Дефекты при рождении. Рак.

*Мыши* (быстро размножающиеся млекопитающие). Развитие тканей тела. Функционирование иммунной системы млекопитающих. Формирование и функции мозга и нервной системы. Модели рака и других болезней человека. Регуляция генов и наследственность. Инфекционные заболевания.

*Растения (Arabidopsis thaliana).* Развитие и изменение тканей. Генетика клеточной биологии. Сельскохозяйственные приложения. Физиология. Генная регуляция. Иммунитет. Инфекционные заболевания.

### 1.5. Содержание основных разделов курса

В первом разделе "Основы молекулярной биологии" рассматриваются основы клеточной теории, транспорт веществ в клетке, компоненты биомолекулярных комплексов, молекулярные основы функционирования белков, биоэнергетики, фотосинтеза и фиксации углерода растениями.

Во втором разделе "Основные молекулярные генетические механизмы" рассматриваются молекулярные основы генетических процессов, процессы транскрипции ДНК, механизмы контроля генной экспрессии у эукариот, роль РНК в процессе трансляции, процесс синтеза белков на рибосомах, репликация и репарация ДНК и вирусные механизмы использования генетических процессов.

В третьем разделе "Молекулярные основы генных технологий" рассматриваются генетический анализ мутаций, клонирование ДНК и анализ фрагментов ДНК, создание библиотек ДНК, геномика и протеомика.

### ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

1. Охарактеризуйте, в чем заключается разнообразие и всеобщность клеток.
2. Охарактеризуйте эволюционное взаимное родство эукариот, археобактерий и эубактерий.
3. В чем отличие процессов транскрипции и трансляции?
4. В чем сходство и различие процессов репликации и транскрипции?
5. В каких случаях осуществляется движение клеток многоклеточного организма?
6. В чем сходство и различие функционирования простых и сложных сенсорных систем?
7. Охарактеризуйте, в чем сходство и различие процессов митоза и мейоза?

8. Охарактеризуйте в чем сходство и различие процессов, происходящих при разрушении клеток и при апоптозе?
9. Какие модельные организмы используются в исследованиях молекулярными биологами?

## 2. ОСНОВЫ КЛЕТОЧНОЙ ТЕОРИИ

### 2.1. Клеточная теория

*Клетка* – это элементарная живая система, способная к самообновлению, саморегуляции и самовоспроизведению, – основная структурная и функциональная единица живых организмов.

Для жизнедеятельности – для осуществления таких процессов как рост, самовосстановление, размножение – клеткам необходима энергия, которую они получают *из внешней среды*.

*Метаболизм* (от греческого *metabole* – перемена, превращение) – это все химические и физические реакции, обеспечивающие протекание процессов жизнедеятельности клетки.

Метаболические реакции катализируются ферментами.

*Ферменты* – это белковые молекулы, которые ускоряют биохимические реакции, но сами при этом не расходуются.

Молекулярную структуру каждого фермента (так же как и любого другого белка) определяет *ген*.

*Ген* – это участок молекулы дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК), кодирующий одну полипептидную цепь или молекулу РНК.

*Клеточная молекулярная биология* – это наука, изучающая процессы жизнедеятельности в клетке на молекулярном уровне, базируясь на результатах таких дисциплин как биохимия, биофизика, генетика, микробиология, эмбриология и эволюция.

Клетка была открыта Робертом Гуком (R.Hooke) в 1665 г., он же ввел сам термин "клетка" ("*cellula*"). Однако обобщение основных представлений о клеточном строении живых организмов, известное как клеточная теория, было сформулировано лишь в середине XIX века

ботаником Маттиасом Шлейденом (M.J.Schleiden) и зоологом Теодором Шванном (T.Schwann).

Современная клеточная теория основывается на *шести постулатах*:

1. Клетка – *элементарная единица* строения всех живых организмов.

2. Клетка – *единая система*, включающая множество закономерно связанных друг с другом элементов – *органелл* или *органонидов*, представляющих собой определенные целостные образования, клеточные структуры, обеспечивающие выполнение специфических функций в процессе жизнедеятельности клетки.

3. Клетки различных организмов сходны (*гомологичны*) по своему строению, химическому составу, основным проявлениям жизнедеятельности и обмену веществ.

4. Размножение клеток осуществляется только путем деления – *клетка от клетки*.

5. Многоклеточный организм представляет собой новую систему, сложный ансамбль из множества клеток, объединенных и интегрированных в системы *тканей* и *органов*, связанных друг с другом с помощью химических факторов, гуморальных и нервных.

6. Клетки многоклеточных организмов *тотипотентны*, т. е. обладают генетическими потенциями всех клеток данного организма, содержат *одинаковую генетическую информацию*, но отличаются друг от друга разной *экспрессией* (работой) различных генов, что приводит к их морфологическому и функциональному разнообразию – к *дифференцировке*.

### 2.2. Два типа организации клетки

Среди живых организмов встречаются *два типа организации клеток*. К наиболее простому типу строения можно отнести клетки бактерий и синезеленых водорослей, к более высокоорганизованному – клетки всех остальных живых существ, начиная от низших растений и заканчивая человеком.

Принято называть клетки бактерий и синезеленых водорослей *прокариотическими* (доядерными клетками) (рисунок 15), а клетки всех остальных представителей живого – *эукариотическими* (собственно ядерными), потому что у последних обязательной структурой служит клеточное ядро, отделенное от цитоплазмы ядерной оболочкой (таблица 1).

Таблица 1 – Свойства прокариот и эукариот

	Прокариоты	Эукариоты
Организмы	бактерии, сине-зеленые водоросли	грибы, растения, животные
Размеры	1–10 мкм	10–100 мкм
Форма организма	одноклеточные	одно- или многоклеточные
Органеллы, цитоскелет, аппарат клеточного дыхания	отсутствует	присутствует, сложный, специализированный
ДНК	маленькая, кольцевая, нет интронов, плазмиды	большая, в клеточных ядрах, много интронов
РНК – синтез и созревание	простой, в цитоплазме	сложный, в ядрах
Белки – синтез и созревание	простой, связанный с синтезом РНК	сложный, в цитоплазме и полостях шероховатого эндоплазматического ретикулума
Обмен веществ	анаэробный или аэробный, легко перестраивающийся	преимущественно аэробный
Эндоцитоз и экзоцитоз	отсутствует	многообразные формы

Клетки эукариот состоят из специализированных отделов – *органелл*.

Процессы *синтеза и созревания* рибонуклеиновых кислот (РНК) и белков у *эукариот* протекают в *различных* отделах клеток и механизмы их регулирования не зависят один от другого. У *прокариот*, напротив, эти процессы значительно проще и взаимосвязаны.

В клетках эукариот полный набор генетической информации находится в молекулах ДНК, из которых сформированы множественные

линейные структуры, называемые *хромосомами*, которые заключены в клеточное *ядро*. Органеллы эукариотических клеток расположены в *цитоплазме*.

*Цитоплазмой* называется область клетки между ядром и внешней клеточной (плазматической) мембраной.

*Цитозолем* называют все содержимое клетки за исключением органелл.

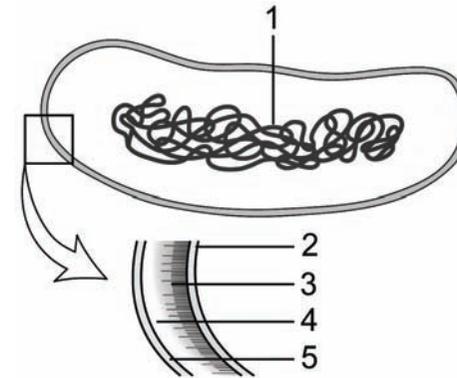


Рисунок 15 – Прокариотическая клетка и схема её клеточной стенки: 1 – нуклеоид; 2 – внутренняя (плазматическая) мембрана; 3 – клеточная стенка; 4 – периплазматическое пространство; 5 – внешняя мембрана

### 2.3. Компоненты и содержимое клетки *Escherichia coli*

Бактерия *Escherichia coli* живет в кишечнике млекопитающих как симбионт. Её структура и состав изучены достаточно хорошо.

Основным компонентом всех клеток является *вода* (70%). Остальная часть — это *макромолекулы* (белки, нуклеиновые кислоты, полисахариды), небольшие органические молекулы и неорганические ионы. Наиболее распространенными из макромолекул являются белки, составляющие до 55% сухого веса клетки.

Единичная клетка *Escherichia coli* имеет *объем* около 0,88 мкм<sup>3</sup>. По одной шестой этого объема составляют мембраны и ДНК (нуклеоид). Оставшееся внутреннее пространство заполнено *цитоплазмой*.

С учетом ряда допущений относительно размера белков (средняя молекулярная масса 40 кДа) и их распределения в клетке можно считать, что цитоплазма клетки *Escherichia coli* содержит приблизительно 250 000 белковых молекул. В эукариотических клетках, которые примерно в 1000 раз больше, число белковых молекул можно оценить в несколько миллиардов.

На рисунке 16 приведен участок цитоплазмы *Escherichia coli* (длиной около 100 нм), составляющий 1/600 объема клетки; увеличение  $1 \times 10^6$ .

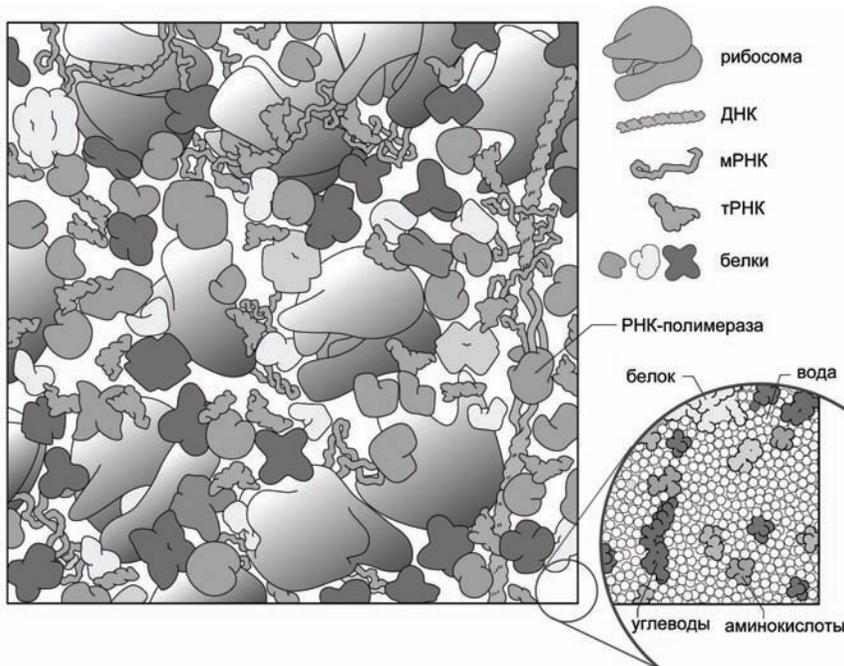


Рисунок 16 – Содержимое бактериальной клетки *Escherichia coli*

При таком увеличении размер атома углерода соответствует крупинке соли, а молекулы АТФ – рисовому зернышку. В целях упрощения небольшие по размерам молекулы, такие, как вода, кофакторы и метаболиты, на рисунке не приведены (они показаны в увеличенном виде внизу справа). В таком участке цитоплазмы содержатся:

- сотни *макромолекул*, необходимых для синтеза белков, а именно:
  - 30 *рибосом*,
  - более чем 100 *белковых факторов*,
  - 30 молекул *аминоацил-тРНК-синтетаз*,
  - 340 молекул *тРНК (tRNA)*,
  - 2–3 *мРНК (mRNA)* (каждая из которых по размерам десятикратно превышает приведенный участок клетки) и
  - 6 молекул *РНК-полимеразы*;
- около 300 молекул *других ферментов*, включая 130 гликолитических ферментов и 100 ферментов цитратного цикла;
- 30 000 *небольших органических молекул* с молекулярной массой от 100 до 1000 Да, например продукты промежуточного метаболизма и коферменты (показаны в 10-кратном увеличении внизу справа);
- наконец, 50 000 *неорганических ионов*;
- остальной объем занимает вода.

Схема иллюстрирует тот факт, что *цитоплазма* клеток *заполнена* макромолекулами и малыми органическими молекулами, причем макромолекулы расположены *очень близко* друг к другу – большинство из них разделено лишь несколькими молекулами воды.

Все эти молекулы находятся в постоянном движении. Однако повторяющиеся столкновения предотвращают их движение в каком-либо определенном направлении. В действительности они движутся беспорядочно по зигзагообразным траекториям.

Белки из-за большой массы движутся особенно медленно. Тем не менее, при физиологических условиях, средняя скорость миграции составляет около 5 нм/мс, т.е. за 2 мс они проходят расстояние, равное диаметру белковой глобулы. По статистической оценке *любой белок* может достичь *любой точки* в клеточной цитоплазме *менее чем за секунду*.

#### 2.4. Клеточная организация

*Размеры клеток* варьируют от 0,1–0,25 мкм (например, клетки бактерии *кишечной палочки (Escherichia coli)* имеют форму цилиндра высо-

той 2 мкм и диаметром 0,8 мкм) до 155 мкм (яйцо страуса в скорлупе). Средний диаметр животных клеток: 10–20 мкм, а растительных: 30–40 мкм. Такие размеры являются следствием *определенных ограничений*.

С одной стороны, для обеспечения собственной жизнедеятельности клетка должна заключать в себе весь необходимый набор макромолекул, поэтому клетки *не могут быть слишком малыми*.

С другой стороны, увеличение размера клетки ограничивается процессами диффузии, которая обеспечивает обмен веществ с окружающей средой и непосредственно ограничивает скорость протекания биохимических реакций в клетке. Поэтому клетки *не могут быть слишком большими*.

Многообразные функции клетки выполняются специализированными структурами – *органоидами* (или органеллами) (рисунок 17).

*Универсальные органориды эукариотических клеток:*

- в ядре – *хромосомы*,
- в цитоплазме – *рибосомы, митохондрии, эндоплазматический ретикулум, комплекс Гольджи, лизосомы, клеточная мембрана*.

Во многих клетках присутствуют также *структуры*, способствующие *поддержанию формы* клетки – *микротрубочки, микрофибриллы и различные включения*.

Важнейшие химические компоненты клетки – *белки*, включая ферменты, – содержатся как в клетке, так и в жидких средах организма, но *синтезируются они только в клетке*.

Характерная особенность клетки – это *компарментализация*, или *компарментация* – пространственная организация химических процессов. Например, процесс клеточного дыхания у эукариот происходит только на мембранах митохондрий, синтез белка – на рибосомах.

Концентрирование ферментов, упорядоченное их расположение в клеточных структурах (1) ускоряет биохимические реакции, (2) организует их сопряжение, (3) реализует молекулярные конвейеры, (4) разделяет разнородные процессы.

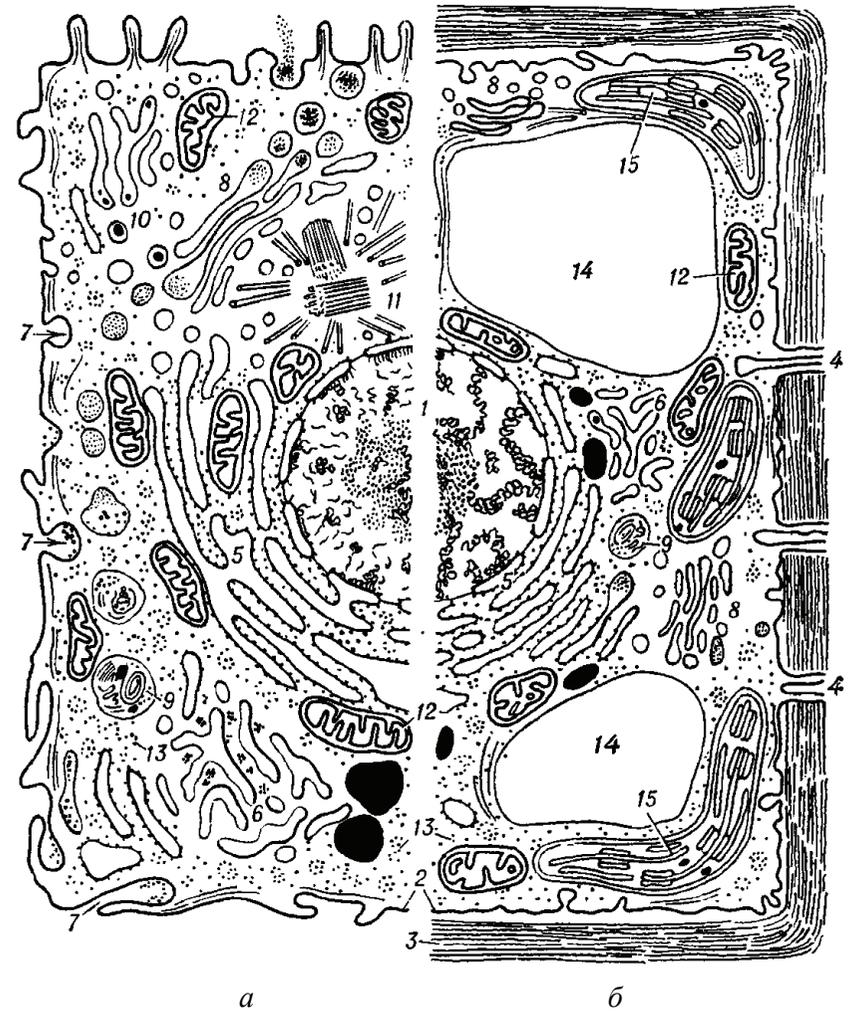


Рисунок 17 – Комбинированная схема строения эукариотической клетки: *а* – клетка животного происхождения; *б* – растительная клетка: 1 – ядро с хроматином и ядрышком; 2 – клеточная (плазматическая) мембрана; 3 – клеточная оболочка; 4 – плазмодесмы; 5 – шероховатый эндоплазматический ретикулум; 6 – гладкий эндоплазматический ретикулум; 7 – пиноцитозная вакуоль; 8 – комплекс Гольджи; 9 – лизосома; 10 – жировые включения в гладком эндоплазматическом ретикулуме; 11 – центриоль и микротрубочки centrosферы; 12 – митохондрии; 13 – полирибосомы цитоплазмы; 14 – вакуоли; 15 – хлоропласты

*Микрогетерогенность*, присущая строению клетки, позволяет синтезировать различные продукты из одних и тех же исходных веществ одновременно и в достаточно компактном, миниатюрном общем объеме.

*Принцип компактности*, присущий всему метаболизму клетки, особенно выражен в структуре ДНК:  $6 \times 10^{-12}$  г ДНК яйцеклетки человека кодируют свойства всех его белков.

Компартментация клетки эукариот *снижает* диффузионные ограничения на размер клетки, обеспечивая возможность быстрых взаимодействий между специфическими молекулами за счет сокращения пути, который они преодолевают, прежде чем встречаются и вступают в реакцию друг с другом. Поэтому клетки эукариот больше клеток прокариот.

*Растительные клетки* крупнее животных, *во-первых* из-за присутствия крупной центральной *вакуоли*, которая сама является химически инертным компартментом, и, *во-вторых*, из-за осуществления *циклоза* – постоянного активного (т.е. с затратой энергии) движения цитоплазмы со скоростью 0,2–0,4 мм/мин, снижающего диффузионные ограничения.

*Размер клеток* может *значительно превышать* диффузионные ограничения, если клетка является *резервуаром* для запасаения и хранения веществ, например, яйцеклетки (яйца птиц, яйцеклетка сельдевой акулы диаметром 22 см) или клетки мякоти плодов (у цитрусовых до 10 мм).

Другой частый случай – увеличение размеров клеток благодаря многократному *повторению внутренних элементов* клеточной структуры.

Например, *многоядерность* увеличивает концентрацию молекул матричных РНК (мРНК) в цитоплазме и позволяет многоядерным клеткам быть крупнее одноядерных, поскольку снижает ограничения, связанные с диффузией РНК из ядра.

*Повторения внутренних структурных элементов* часто приводит к *увеличению длины* клетки при сохранении её микроскопического диаметра (например, у животных *мышечные* клетки длиной до нескольких см, *нервные* клетки с отростками длиной до 1 м, а у растений клетки *флоэмы* длиной до 5 мм).

Внутри клетки непрерывно поддерживается *определенная концентрация ионов*, отличная от их концентрации во внеклеточной среде.

Клетки способны реализовывать *пиноцитоз* и *фагоцитоз*, образуя *впячивание* клеточной мембраны, которые затем замыкаются и отделяются внутрь клетки в виде пузырьков.

*Пиноцитоз* – это захват из среды капелек с крупными молекулами, включая белковые.

*Фагоцитоз* – это захват крупных частиц, вирусов и небольших клеток.

*Число клеток* в многоклеточных организмах различно. У примитивных беспозвоночных оно составляет от нескольких сотен (например, всего 959 клеток у нематоды *Caenorhabditis elegans*) до десятков тысяч, а в человеческом организме насчитываю порядка  $10^{14}$  клеток (сто тысяч миллиардов). Такого же порядка и число клеток в дереве. В слоне число клеток в 6,5 раз больше, чем в человеке. Получившиеся в результате деления одной исходной клетки, зиготы, клетки многоклеточного организма разнообразны по своему строению и функциям. Так среди  $10^{14}$  клеток человеческого организма выделяют более 1000 различных разновидностей.

Процесс приобретения клетками стойких внутренних различий, связанных с выполнением различных функций, называется *клеточной дифференцировкой*. Дифференцировка всегда связана с синтезом специфических белков. Например, клетки эпидермиса кожи синтезируют структурный белок *коллаген*, мышечные клетки – сократительный белок *миозин*, клетки сетчатки глаза – зрительный белок *опсин* и т.д.

Любая клетка многоклеточного организма обладает одинаковым полным фондом генетического материала и потенциальными для проявления генетической информации – *тотипотентность клетки*.

В 1958 г. Ф. Стюарт (F. Steward) впервые вырастил из одной единственной клетки флоэмы взрослой моркови целое нормальное растение с корнями, листьями, стеблем и цветками.

В 1968 г. Дж.Б. Гёрдон (J.B. Gurdon) успешно пересадил ядра из клеток кишечника головастиков в яйцеклетки лягушки, лишенные собственных ядер, и вырастил нормальных лягушек, самцов и самок, способных размножаться.

Таким образом, тотипотентные клетки эукариот в ходе дифференцировки не теряют генетическую информацию, просто различные гены

"включаются" или, наоборот, "выключаются" специальными белками-активаторами (или, соответственно, белками-репрессорами), которые, в свою очередь, синтезируются с регуляторных генов.

По оценкам, в клетках высокоорганизованных организмов 90% всех генов имеют такую "административную" регуляторную функцию и только 10% ответственны собственно за биосинтез ферментов и структурных белков.

## 2.5. Строение клетки

Несмотря на большое разнообразие клеток, все они построены по *единому* плану. Строение животной и растительной клетки показано на рисунке 17, а основные компоненты эукариотической клетки представлены на рисунке 18.

Основными составными частями её являются *оболочка, ядро и цитоплазма*.

Оболочка клетки состоит из: (1) *плазматической мембраны*, (2) *надмембранного комплекса* (гликокаликс или клеточная стенка) и (3) *субмембранного опорно-сократительного аппарата*.

Эти *три* функционально единые компонента обеспечивают *три* универсальные для всех разновидностей клеточных оболочек *функции*: (1) барьерную, (2) транспортную и (3) рецепторную.

**Ядро** – наиболее крупная (диаметром около 10 мкм) видимая в оптический микроскоп органелла эукариотической клетки.

*Ядро* обеспечивает важнейшие метаболические и генетические функции, поскольку именно в нем находятся хромосомы с молекулами ДНК. Размер, форма и структура ядер изменяются в зависимости от функционального состояния клеток, быстро реагируя на изменение внешних условий.

Ядро обычно перемещается по клетке пассивно с током окружающей его цитоплазмы, но иногда оно способно самостоятельно перемещаться, совершая движения амёбoidного типа.

Ядро отделено от остальной клетки *оболочкой*, состоящей из *внутренней и внешней ядерных мембран* (рисунок 19).

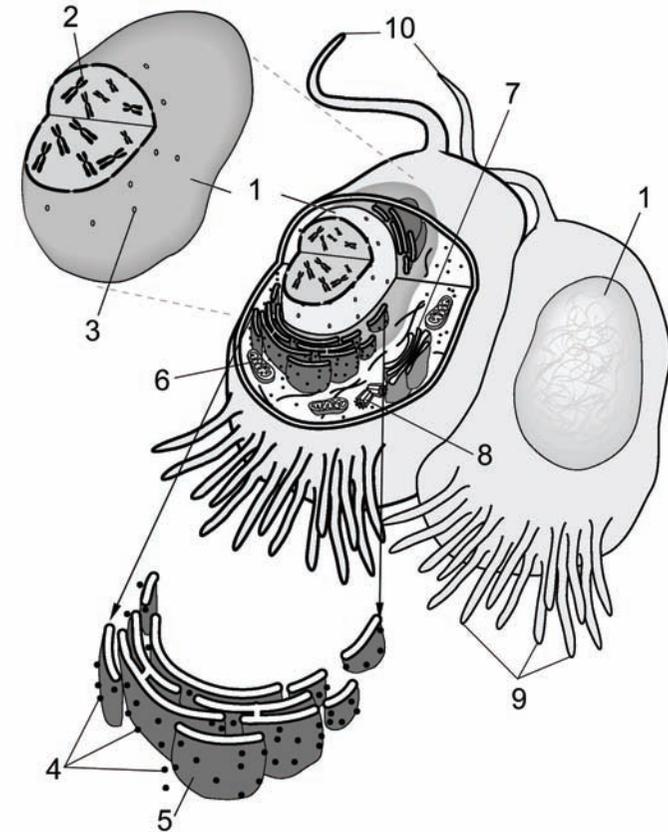


Рисунок 18 – Схема клетки эукариот: 1 – ядро; 2 – хромосомы; 3 – поры в мембране ядра; 4 – рибосомы; 5 – шероховатый эндоплазматический ретикулум; 6 – митохондрия; 7 – аппарат Гольджи; 8 – центриоль; 9 – реснички (*cilia*); 10 – жгутики (*flagella*)

Область между двумя ядерными мембранами называется *перинуклеарным пространством*. Внешняя ядерная мембрана усыпана рибосомами и переходит в *шероховатый эндоплазматический ретикулум*. Внутренняя ядерная мембрана выстлана специальными белками (*ламином* и др.), которые служат для закрепления ядерных структур (ядерная пластинка).

В ядре расположена почти вся ДНК клетки. Эта ДНК является носителем генетической информации и главным местом её *репликации* и *экспрессии*.

В *интерфазе* (фазы между делениями клетки) большая часть ДНК в ядре присутствует в виде *гетерохроматина*, то есть плотно упакованной ДНК, ассоциированной с РНК и белками.

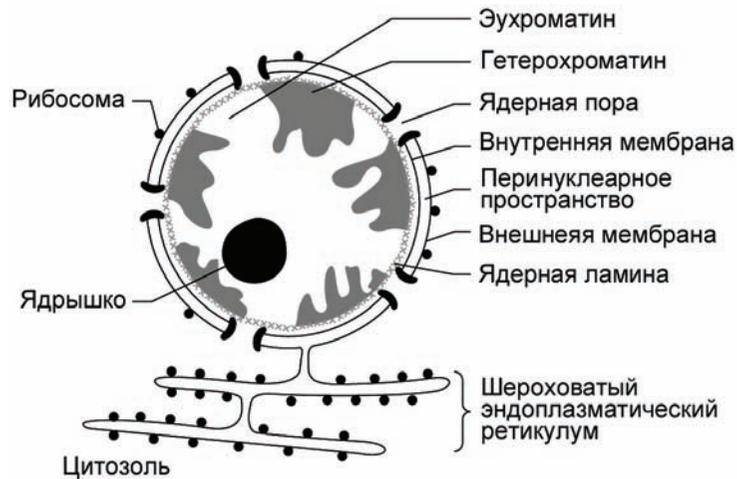


Рисунок 19 – Схема ядра клетки

Менее плотно упакованная ДНК называется *эухроматином*; это место активной *транскрипции* ДНК в РНК (RNA).

Ядро часто содержит ядрышко, а иногда и несколько ядрышек. Во время деления клеток структура ядра разрушается. Хроматин организуется в *хромосомы*, то есть в высшей степени конденсированные формы молекул ДНК, видимые в оптический микроскоп.

Обмен макромолекул, таких, как белки и РНК, между ядром и цитоплазмой осуществляется через *ядерные поры* (диаметр примерно 7 нм), образованные белковым комплексом. Поры *регулируют транспорт* через ядерные мембраны. Пептиды и *небольшие* белки, например гистоны, способны легко проникать в ядро. *Более крупные* белки (свыше 40 кДа) могут

пройти через ядерную мембрану, только если они несут специфическую *сигнальную последовательность*.

**Цитоплазма** – это внутреннее содержимое клетки. Она пронизана густой сетью белковых волокон, составляющих *цитоскелет*, содержит органоиды и мембранную вакуолярную систему. Взаимодействие между ними осуществляется через полужидкую составляющую цитоплазмы – *цитозоль* – своеобразную коллоидную систему, содержащую 75–80% воды, 10–12% белков и аминокислот, 4–6% углеводов, 2–3% липидов и 1% прочих веществ. Цитозоль занимает около 50% общего объема типичной клетки.

Органоиды (органеллы) цитоплазмы являются *обязательными* структурными элементами эукариотической клетки – *при их отсутствии* клетка *теряет жизнеспособность*.

*Основными* органоидами цитоплазмы являются *митохондрии*, *пластиды* и *рибосомы*.

## 2.6. Митохондрии и пластиды

*Митохондрии*, которые имеются у всех клеток эукариот как автотрофных (у фотосинтезирующих растений), так и гетеротрофных (у животных и грибов), содержат ферменты и другие белково-мембранные структуры для окисления органических соединений и синтеза *аденозинтрифосфата* (АТФ) – главного источника энергии внутриклеточных биохимических превращений.

Митохондрии являются одними из самых больших клеточных оргanelл с размерами порядка размеров бактерии *E. coli*. В некоторых эукариотических клетках митохондрии могут занимать до 25% цитозоля.

*Количество митохондрий* в клетках значительно *варьируется* в зависимости от потребностей в энергии данного типа клеток. В клетках некоторых типов водорослей и простейших содержится лишь одна митохондрия, в сперматозоидах различных видов животных – 20–70, а в клетках тела млекопитающих – от 100 до нескольких тысяч. *Больше всего* митохондрий содержится в клетках тканей, постоянно использующих *много энергии* для выполнения своих функций – в *мышцах*, в *печени* и в

*почках*. Митохондрии могут занимать от 2 до 48% от общего объема клетки, но в среднем эта величина составляет 18%.

Митохондрия сформирована *двумя* структурно и функционально различными мембранами – внешней и внутренней, разделенными межмембранным пространством (рисунок 20).



Рисунок 20 – Схема митохондрии

Внутренняя мембрана, на которой сосредоточены ферменты, катализирующие окислительные реакции в дыхательной цепи и синтезирующие АТФ, образует многочисленные *складки-гребни (кристы – cristae)*, которые вогнуты внутрь *матрикса* – центральной части митохондрии.

Митохондрия содержит *свои собственные ДНК и рибосомы*, но большинство белков она получает из цитоплазмы клетки. Чтобы подчеркнуть роль митохондрий, как источника АТФ, их часто называют "энергетическими станциями" (*powerhouses*) клетки.

*Наружная* мембрана митохондрии содержит множество белков-поринов, которые пропускают в межмембранное пространство ионы и малые молекулы-метаболиты (с массой до 5000 Да).

Главным *барьером* на пути метаболитов в матрикс митохондрии является *внутренняя* мембрана митохондрии. Внутренняя мембрана содер-

жит множество мембранных белков (до 75% массы внутренней мембраны), одни из которых осуществляют необходимые биохимические преобразования, а другие (транспортёры) переносят метаболиты через мембрану.

Во внутренней мембране повышенная концентрация кардиолипина (дифосфатидил глицерол), за счет чего снижена её проницаемость для протонов, и на внутренней мембране создается *значительная* протондвижущая сила.

Новые митохондрии образуются только делением или почкованием имеющихся митохондрий.

**Пластиды** встречаются только у фотосинтезирующих эукариотических организмов (высшие растения, водоросли, некоторые одноклеточные простейшие). По *пигментному составу*, связанному с их функциями, различают *три основных типа пластид*: *хлоропласты* (зеленые пластиды), *хромопласты* (желтые или оранжевые пластиды) и *лейкопласты* (бесцветные пластиды). В каждой клетке встречаются пластиды только одного типа.

*Хлоропласты* содержат зеленый пигмент *хлорофилл* и осуществляют на свету *фотосинтез*, в результате которого энергия света превращается в химическую энергию и используется для синтеза нужных растению веществ. Хлоропласты встречаются почти во всех клетках растения, куда проникает свет, но особенно много их в клетках листьев.

*Лейкопласты* встречаются в тех клетках растения, куда не проникает солнечный свет. Их главная *функция* – накопление и хранение запасных питательных веществ.

*Хромопласты* накапливают желтые, оранжевые и красные пигменты (*каротиноиды*). Хромопласты так же, как и окрашенные вакуоли, придают яркий цвет некоторым частям растений. Например, хромопласты придают цвет лепесткам *лютика*, *одуванчика* или *тюльпана*, зрелым плодам *томатов*, *рябины*, *арбуза* или *апельсина*, *моркови* и *свекле*.

Пластиды способны *превращаться друг в друга*. Если освещать бесцветную подземную часть растения, то лейкопласты под действием света начнут накапливать хлорофилл и превратятся в хлоропласты.

По этой причине, например, зеленеет оставленный на солнце клубень картофеля. Хлоропласты же, старея, теряют свою зеленую окраску и превращаются в хромопласты. Такой процесс происходит в листьях осенью: зеленый хлорофилл в хлоропластах начинает разрушаться и тогда становятся видны каротиноиды, которые всё время присутствовали в хлоропластах, но были замаскированы хлорофиллом. В результате зеленые листья становятся желтыми, оранжевыми или красными. Взаимные превращения пластид позволяют рассматривать их как *различные типы дифференцировки* одного типа органеллы. Это подтверждается общностью строения разных пластид.

Основным типом пластид являются *хлоропласты* (рисунок 21). Они обычно имеют постоянную форму вытянутого *эллипсоида вращения* с длинной и короткой полуосями 2–3 и 0,5–1,5 мкм соответственно.



Рисунок 21 – Схема хлоропласта

Большинство растений имеют хлоропласты *объемом* от  $30 \text{ мкм}^3$  до  $60 \text{ мкм}^3$ . (Мелкие пластиды (меньше  $30 \text{ мкм}^3$ ) найдены у *тополя*, *осины*, *ясени*, некоторых видов *осоки*. Очень крупные хлоропласты типичны для тенелюбивых растений, например у *копытня* –  $227 \text{ мкм}^3$ , *заячьей капусты* –  $240 \text{ мкм}^3$ , *фиалки* –  $100 \text{ мкм}^3$ ).

*Число* хлоропластов на клетку варьирует от 3 до 400, обычно в среднем на клетку приходится 10–30 хлоропластов. (Более 400 пластид на

клетку найдено у *табака*, *ревеня*, у некоторых видов *лилий*. *Малопластидными* являются, например, клетки *тростника* (4–10), *земляники* (8–12), *лимона* (5–10)). Число пластид в клетке в значительной мере коррелирует с содержанием ДНК в ядре и гораздо слабее с объемом клетки. Для *оценочных* расчетов можно использовать среднестатистическую величину – 14 хлоропластов на  $10 \text{ тыс. мкм}^3$  объема клетки.

Хлоропласты, так же как и митохондрии, имеют две мембраны: внешнюю, которая содержит порины и проницаема для метаболитов, и внутреннюю, которая содержит транспортные белки, обеспечивающие обмен метаболитами с цитозолем клетки. Обе эти мембраны хлоропластов в фотосинтезе не участвуют.

В отличие от митохондрий, хлоропласты имеют ещё одну, *третью* мембрану – *мембрану тилакоидов*.

В зрелом хлоропласте высших растений различают *два типа внутренних мембран*: (1) плоские протяженные складки, образованные внутренней мембраной оболочки и способные простираться почти через всю пластиду, – *ламеллы стромы* и (2) плоские замкнутые мембранные мешочки, имеющие форму диска, – *тилакоиды*.

Часто тилакоиды образуют стопки наподобие столбика монет, называемые *гранами*. *Число тилакоидов* на одну грану может варьировать от нескольких штук до 50 и более.

*Количество гран* в хлоропластах может достигать 40–60. Тилакоиды в гране сближены друг с другом так, что внешние слои их мембран тесно соединяются. В состав граны, кроме тилакоидов, обычно входят и участки ламелл стромы, которые таким образом связывают между собой отдельные граны хлоропласта.

Все тилакоиды хлоропласта, собранные в *граны* имеют единую *тилакоидную мембрану*, которая разделяет *тилакоидный люмен* – внутренний объем тилакоидов, представляющий единый компартмент, – и *строму* – другой компартмент хлоропласта между тилакоидами и внутренней мембраной хлоропласта.

В тилакоидной мембране расположены множество интегральных мембранных белков, содержащих специфические простетические группы и светопоглощающие пигменты, например, хлорофилл.

*Синтез углеводов* происходит в *строме* хлоропласта. В фотосинтетических бактериях складки плазматической мембраны формируют мембранные структуры, в которых локализованы системы фотосинтеза и которые также называют тилакоидными мембранами.

В строме хлоропластов обнаруживаются молекулы пластидной ДНК, рибосомы и различные включения. Среди включений наиболее распространенными являются *крахмальные зерна* и *пластоглобулы*.

Отложение *крахмальных зерен* тесно связано с функционированием хлоропластов: часть образующихся в процессе фотосинтеза углеводов идет на синтез крахмала в строме. Крахмальные зерна имеют овальную, сферическую или неправильную форму, характерную для каждого вида растения, имеют плотность 1,5–1,6 г/см<sup>3</sup> и обладают двойным лучепреломлением. Диаметр крахмальных зерен варьирует от 0,2 до 7 мкм, когда крахмальные зерна занимают почти весь объем пластиды, обычно лейкопласта, называемого в этом случае *амилопластом*. (Самые крупные крахмальные зерна у *картофеля*, а самые мелкие – у *риса* и *гречихи*. Размер крахмальных зерен, как правило, непостоянен).

*Пластоглобулы* имеют диаметр от 0,2 до 1 мкм в зависимости от вида растения. Их число и величина в общем случае увеличиваются с возрастом хлоропластов, достигая максимума в период осеннего отмирания листьев.

Быстрая сборка мембран тилакоидов при преобразовании лейкопластов в хлоропласты на свету обычно сопровождается уменьшением числа пластоглобул. В этой связи пластоглобулы рассматриваются как *резервный фонд липидов* пластидных мембран.

Строение хлоропластов *низших фотосинтезирующих растений* (зеленые, бурые и красные *водоросли*), называемых *хроматофорами*, в общих чертах *сходно* со строением хлоропластов клеток высших растений.

Водоросли часто содержат *по одному* большому хроматофору на клетку, форма которого может быть очень разнообразна, например, длинная спиральная лента или разветвленная сеть. Так же, как у высших растений, хроматофоры окружены оболочкой из внешней и внутренней мембран, последняя из которых образует внутренние впячивания в виде параллельных плоских мешков.

Однако *граны* в хроматофорах водорослей *не встречаются*. У зеленых водорослей в состав хроматофора входят *пиреноиды*, представляющие собой окруженные мелкими пузырьками зоны, вокруг которых происходит отложение крахмала.

Так же, как новые митохондрии, *новые пластиды* в клетке образуются *только за счет деления или почкования* уже существующих. Увеличение числа пластид обычно происходит за счет деления не имеющих развитой структуры *пропластид* или *инициальных частиц* с последующим развитием и дифференцировкой их в хлоропласты или лейкопласты.

Однако в молодых растущих клетках *делятся не только пропластиды*, но и хлоропласты с хорошо развитой внутренней мембранной системой.

*При созревании* хлоропластов, когда в них накапливается большая масса *пластоглобул*, их способность к делению *утрачивается*. Тем не менее обычно клетка на протяжении всей её жизни поддерживает фонд хлоропластов, имеющих более мелкие размеры и сохраняющих способность делиться. В молодых листьях такие хлоропласты составляют 5%, у зрелых – 1% от общего числа пластид.

Как правило, *деление и рост клетки сопровождаются делением хлоропластов*. Деление хлоропластов прекращается, когда клетка достигает максимальных размеров. В то же время рост клетки и деление хлоропластов *относительно независимы* друг от друга.

В клетках прокариот нет внутренних мембран, но плазматическая мембрана фотосинтетических бактерий содержит *мезосомы* – внутрицитоплазматические мембранные структуры везикулярной и трубчатой формы, образующиеся путём впячивания плазматической мембраны внутрь цитоплазмы.

## 2.7. Цитоскелет

Цитоплазма эукариотических клеток пронизана трехмерной сеткой из белковых нитей (*филаментов*), называемой *цитоскелетом*. В зависимости от диаметра филаменты разделяются на три группы:

– *микрофиламенты* или *актиновые нити* (диаметром 6–8 нм),

- *промежуточные волокна* (диаметром около 10 нм),
- *микротрубочки* (диаметром около 25 нм).

Все эти волокна представляют собой полимеры, состоящие из субъединиц особых глобулярных белков.

*Микрофиламенты* (актиновые нити) состоят из *актина* – белка, наиболее распространенного в эукариотических клетках. Актин может существовать в виде мономера (*G-актин*, глобулярный актин) или полимера (*F-актин*, фибриллярный актин) (рисунок 22).

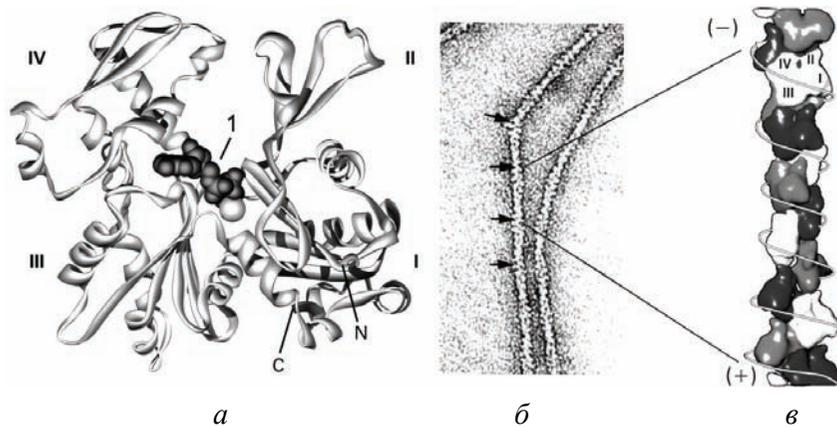


Рисунок 22 – Структура глобулярного и фибриллярного актина: *a* – модель мономера G-актина; 1 – складка, в которой связывается АТФ, С- и N- концы находятся в субдомене I; *б* – спираль F-актина в электронном микроскопе; *в* – модель полимера актина

*G-актин* – асимметричный глобулярный белок (42 кДа), состоящий из *двух доменов* (каждый из которых состоит из двух субдоменов). По мере *повышения* ионной силы G-актин обратимо агрегирует, образуя линейный скрученный в спираль полимер, F-актин. Молекула G-актина несет прочно связанную молекулу АТФ, которая при переходе в F-актин, медленно гидролизует до АДФ, т. е. F-актин проявляет свойства *АТФазы*.

Количество мономеров и полимеров различным образом зависит от концентрации актина в клетке (рисунок 23). С увеличением концентрации

актина в клетке, начиная с некоторого *критического значения*  $C_c \approx 0,1 \mu\text{M}$ , начинается полимеризация F-актина.

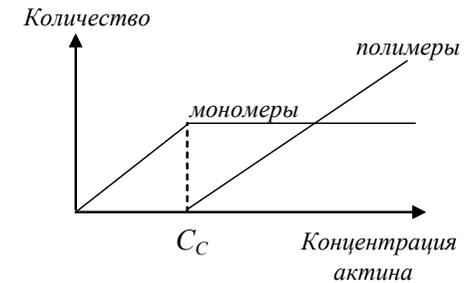


Рисунок 23 – Зависимость количества мономеров и полимеров от концентрации актина

При полимеризации G-актина в F-актин ориентация всех мономеров одинакова, поэтому F-актин обладает *полярностью*. Волокна F-актина имеют *два разноименно заряженных конца*: (+) и (–), которые полимеризуются с различной скоростью, поскольку имеют различную критическую концентрацию:  $C_c^+ \approx 0,1 \mu\text{M}$ ,  $C_c^- \approx 0,6 \mu\text{M}$ . Поэтому, при полимеризации (+)-конец растет со скоростью в 5–10 раз большей, чем (–)-конец (рисунок 24).

Специальные *экспонирующие белки* могут избирательно связываться с тем или другим концом актиновых филаментов или микротрубочек и *играют ключевую роль в создании определенной пространственной структуры цитоскелета* – обеспечивают прикрепление филаментов и микротрубочек к другим клеточным структурам в нужной ориентации, а также независимую регуляцию наращивания или распада с того или другого конца.

Так, например, процесс полимеризации может быть *ингибирован* токсинами грибов. Например, *фаллоидин* (яд бледной поганки) связывается с (–)-концом и ингибирует деполимеризацию, в то время как *цитохалазин* (токсин из плесневых грибов, обладающий свойством цитостатика) присоединяется к (+)-концу, блокируя полимеризацию.

Динамическая структура актиновых филаментов (и микротрубочек) в сочетании с их векторной структурой, при которой два конца структуры неэквивалентны, обусловило появление необычного их свойства, которое называется *течение филаментов* (*trademilling*, эффект *бегущей дорожки*).

При критической концентрации  $C_c^- > C_c > C_c^+$  (+)-конец будет *удлиняться*, а (-)-конец *укорачиваться*, и мономеры G-актина фактически перемещаются вдоль F-актина (рисунок 24(в)).

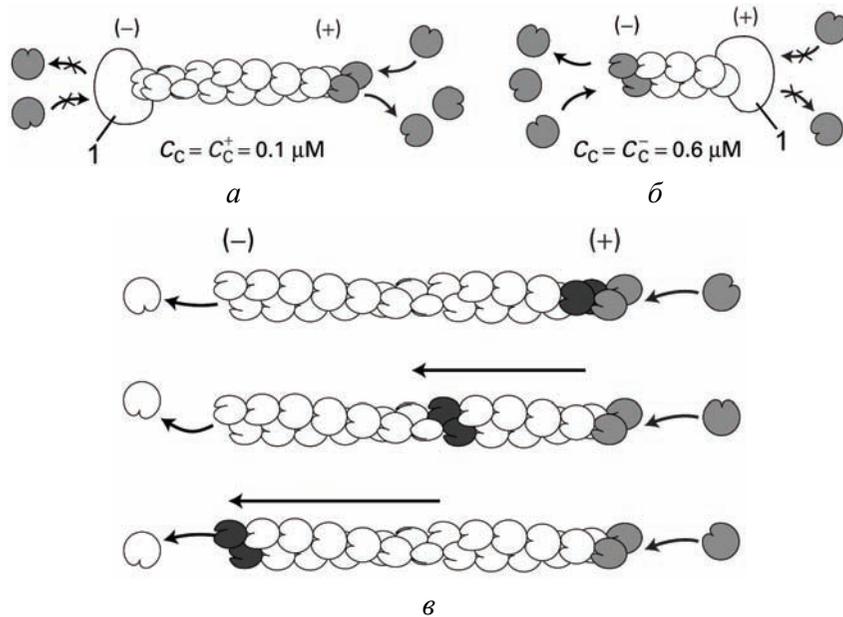


Рисунок 24 – Полимеризация актина: а – рост (+)-конца; б – рост (-)-конца; в – течение филамента; 1 – кэпирующий белок

Эффект течения филаментов состоит в том, что субъединицы постоянно *диссоциируют* с запаздывающего конца (*lagging end*) филамента и присоединяются (*реассемблируют*) на растущем конце (*leading edge*) филамента. В результате, филамент, оставаясь приблизительно неизменной длины, "движется" относительно окружения. Эффект течения фила-

ментов используется клеткой как часть аппарата, обеспечивающего клеточную подвижность.

В цитоплазме клеток имеются более 50 различных типов белков – *актин-ассоциированных* белков, – которые специфически взаимодействуют с G-актином и F-актином. Эти белки выполняют различные функции:

- регулируют объем G-актинового пула (*профилин*),
- оказывают влияние на скорость полимеризации G-актина (*виллин*),
- стабилизируют концы нитей F-актина (*фрагин*,  $\beta$ -*актинин*),
- сшивают филаменты друг с другом или с другими компонентами (как, например, *виллин*,  $\alpha$ -*актинин*, *спектрин*, *MARCKS*),
- разрушают двойную спираль F-актина (*гельзолин*).

Активность этих белков регулируется ионами  $Ca^{2+}$  и *протеинкиназами*.

**Промежуточные волокна.** Структурными элементами промежуточных волокон являются белки, принадлежащие к *пяти* родственным семействам и проявляющие *высокую степень клеточной специфичности*. Типичными представителями этих белков являются *цитokerатины*, *десмин*, *виментин*, *кислый фибриллярный глиапротеин* [КФГП (GFAP)] и *нейрофиламент*.

Все эти белки имеют в центральной части базовую стержневую димерную структуру, которая носит название *суперспирализованной  $\alpha$ -спирали* (*coiled coil*) (рисунок 25(а)). Такие димеры ассоциируют антипараллельно, образуя тетрамер. Агрегация тетрамеров по принципу "голова к голове" дает *протофиламент*. Жгут протофиламентов образует промежуточное волокно.

В отличие от микрофиламентов и микротрубочек свободные мономеры промежуточных волокон едва ли встречаются в цитоплазме. Их полимеризация ведет к образованию *устойчивых* неполярных полимерных молекул.

**Микротрубочки** построены из глобулярного белка тубулина, представляющего собой *димер*  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединиц (53 и 55 кДа) (рисунок 26(а)).  $\alpha, \beta$ -Гетеродимеры образуют линейные цепочки, называемые *протофиламентами*.

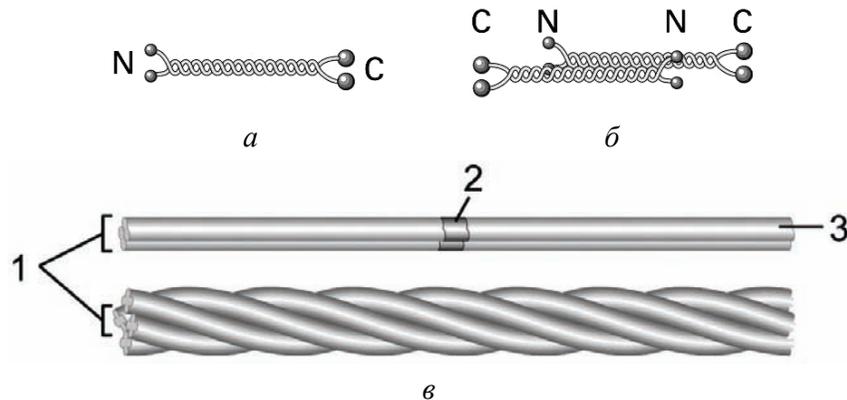


Рисунок 25 – Промежуточные волокна: *а* – скрученная спираль; *б* – тетрамер; *в* – промежуточное волокно: 1 – протофибрилы, 2 – тетрамер, 3 – протофиламент

Тринадцать протофиламентов образуют *циклический* комплекс (рисунок 26(5)). Затем кольца полимеризуются в длинную трубку. Как и микрофиламенты, микротрубочки представляют собой динамические полярные структуры с (+)- и (-)-концами.

(-)-Конец стабилизирован за счет связывания с *центросомой* (центр организации микротрубочек или *клеточный центр*), в то время как для (+)-конца характерна *динамическая нестабильность*. Он может либо медленно расти, либо быстро укорачиваться.

Тубулиновые мономеры связывают гуанозинтрифосфат (ГТФ), который медленно гидролизует в гуанозиндифосфат (ГДФ). С микротрубочками ассоциируют два вида белков: структурные белки, *МАР* (*microtubule-associated proteins*) и белки-транслокаторы.

Микротрубочки демонстрируют интересный эффект, который называют *динамической нестабильностью*. Микротрубочка удлиняется по мере присоединения субъединиц к растущему концу, и, внезапно, этот

растущий конец начинает "растрепываться", и микротрубочка распадается на субъединицы. Благодаря такому свойству микротрубочки постоянно растут, но для стабилизации их структуры необходимы специфические стабилизирующие белки.

Микротрубочки ресничек и жгутиков имеют дублетную структуру (рисунок 26(6)), а базального тела и *центриолей* – триплетную (рисунок 26(7)).

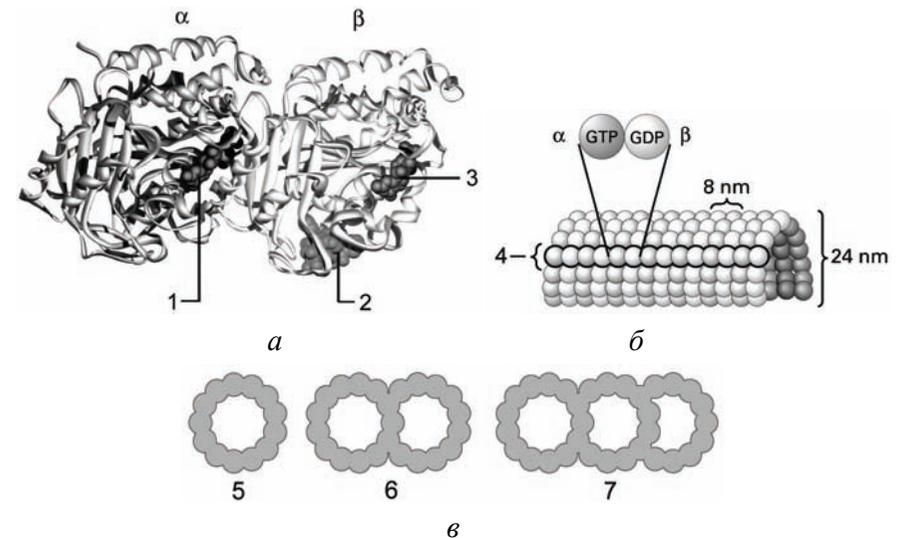


Рисунок 26 – Строение микротрубочек: *а* – гетеродимер тубулина; *б* – цилиндрический полимер; *в* – "упаковка" протофиламентов; 1 – ГТФ (GTP); 2 – молекула таксола (*taxol*); 3 – ГДФ (GDP); 4 – протофиламент; 5–7 – одинарные, двойные и тройные микротрубочки

Центриоли, расположенные в центросоме, являются своеобразными "полюсами" клетки, к которым мигрируют хромосомы в процессе деления клетки, и которые обнаружены только в клетках животных.

*Цитоскелет* выполняет *три* главные функции.

1. Служит клетке *механическим каркасом*, который придает клетке типическую форму и обеспечивает связь между мембраной и

органеллами. Каркас представляет собой динамичную структуру, которая постоянно обновляется по мере изменения внешних условий и состояния клетки.

2. Действует как "мотор" для клеточного движения. Двигательные (сократительные) белки содержатся не только в мышечных клетках, но и в других тканях. Компоненты цитоскелета определяют направление и координируют движение, деление, изменение формы клеток в процессе роста, перемещение органелл, движение цитоплазмы.

3. Служит в качестве "рельсов" для транспорта органелл и других крупных комплексов внутри клетки.

В качестве примера функционирования компонентов цитоскелета на рисунке 27 показан срез микроворсинок клетки кишечного эпителия.

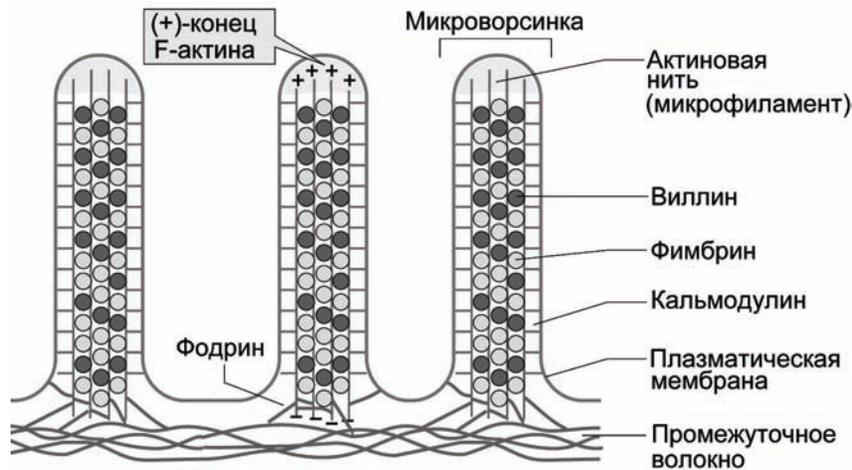


Рисунок 27 – Схема микроворсинок клетки кишечного эпителия

Микрофиламенты, построенные из F-актина, пронизывают микроворсинки, образуя узлы. Эти микроволокна удерживаются вместе с помощью актин-связывающих белков, наиболее важными из которых являются фимбрин и виллин.

Кальмодулин и миозиноподобная АТФаза соединяют крайние микроволокна с плазматической мембраной. ещё один актин-связывающий белок, фодрин, соединяет волокна актина у основания, а также прикрепляет их к цитоплазматической мембране и к сетке, построенной из промежуточных волокон.

В рассмотренном случае микрофиламенты актина выполняют главным образом статическую функцию.

Однако чаще всего актин принимает участие в динамических процессах, таких, как мышечное сокращение, движение клетки, фагоцитоз, образование микровыпячиваний плазматической мембраны и ламеллиподий (клеточных расширений), а также акросом в процессе слияния сперматозоида с яйцеклеткой.

Функции микротрубочек показаны на рисунке 28.

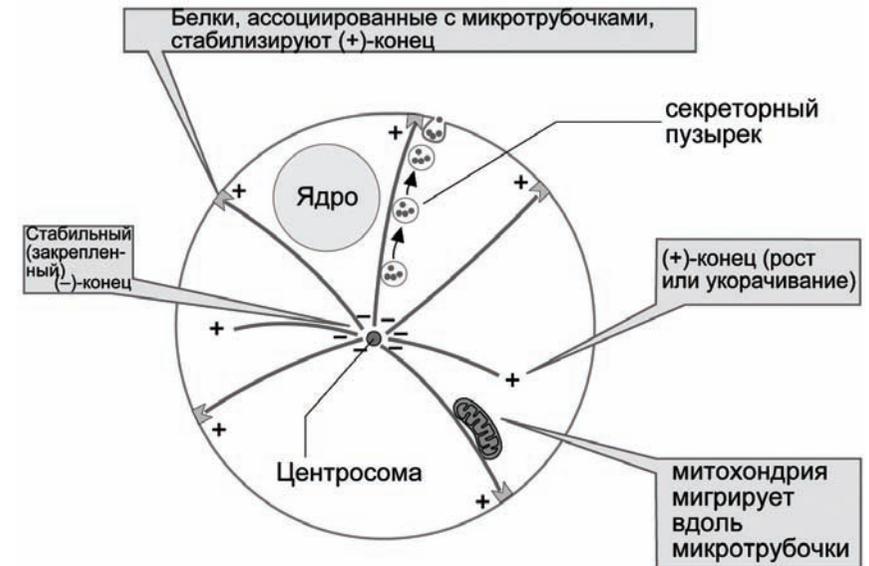


Рисунок 28 – Функции микротрубочек в клетке

Микротрубочки отходят радиально во всех направлениях от структуры вблизи ядра – центросомы. (+)-Конец микротрубочек постоянно находится в состоянии роста и разборки, а (-)-конец заблокирован

ассоциированными белками в центриоли. (+)-Конец может также быть стабилизирован ассоциированными белками, когда, например, микротрубочки достигают цитоплазматической мембраны.

Микротрубочки принимают участие в *поддержании формы клетки*. Они же служат направляющими "*рельсами*" для *транспорта* органелл. Вместе с ассоциированными белками (*динеин, кинезин*) микротрубочки способны осуществлять *механическую работу*, например, транспорт митохондрий, движение ресничек (волосоподобных выростов клеток в эпителии легких, кишечника и яйцеводов) и биение жгутика сперматозоида. Кроме того, микротрубочки выполняют важные функции во время *деления* клеток.

#### ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

1. Сформулируйте определение клетки.
2. Что называется метаболизмом клетки?
3. Сформулируйте определение фермента.
4. Сформулируйте определение гена.
5. Какие вопросы рассматривает клеточная молекулярная биология?
6. Сформулируйте постулаты клеточной теории.
7. Что такое тотипотентность клетки?
8. Охарактеризуйте строение прокариотической клетки, сравните её с эукариотической.
9. Чем клетки эукариот отличаются от клеток прокариот?
10. В чем сходство и отличие нуклеоида и ядра клетки?
11. Дайте определение интронов. Есть ли интроны у эукариот?
12. Что называется цитозолем клетки? В чем отличие цитозоля и цитоплазмы?
13. Какие причины ограничений на размер клеток прокариот?
14. Что такое компартментация клетки? Её функции?
15. В каких случаях размер клеток значительно превышает диффузионные ограничения?
16. Что такое пиноцитоз и в чем его отличие от фагоцитоза?

17. Что такое фагоцитоз и в чем его отличие от пиноцитоза?
18. В чем сходство и различие эндоцитоза и экзоцитоза?
19. Что называется клеточной дифференцировкой и в чем состоит её значение?
20. Перечислите и охарактеризуйте основные составные части клетки.
21. Перечислите и охарактеризуйте основные органоиды цитоплазмы.
22. Охарактеризуйте мембранную систему митохондрий.
23. Что такое кристы митохондрий?
24. Что такое митохондриальный матрикс?
25. Какие органеллы клетки имеют собственные ДНК и рибосомы?
26. Что такое хлоропласты и чем они отличаются от хромопластов?
27. Что такое хромопласты и чем они отличаются от лейкопластов?
28. Что такое лейкопласты и чем они отличаются от хлоропластов?
29. Охарактеризуйте мембранную систему хлоропластов.
30. Что называется стромой пластидов?
31. В чем сходство и чем отличаются ламеллы стромы и тилакоиды?
32. Что такое граны и в чем их отличие от тилакоидов?
33. Что называется цитоскелетом клетки?
34. Что такое микрофиламенты и в чем их отличие от микротрубочек?
35. Что такое микротрубочки и в чем их отличие от актиновых нитей?
36. В чем отличие F-актина от G-актина?
37. Какой из концов актиновой нити при полимеризации растет с большей скоростью, "(+)" или "(−)"?
38. Какова роль кэпирующих белков в процессе полимеризации актина?
39. Полимером какого белка являются микротрубочки?
40. Как называется полимер, мономером которого является G-актин?
41. Перечислите главные функции цитоскелета.

### 3. ТРАНСПОРТ ВЕЩЕСТВ В КЛЕТКЕ

#### 3.1. Вакуолярная система клетки

Внутренние мембраны клетки, несмотря на различия в морфологическом и функциональном отношении, представляют собой единое целое, поскольку, как будет показано ниже, способны переходить друг в друга в процессе функционирования клетки. К вакуолярной системе относятся мембраны эндоплазматического ретикулума, аппарата Гольджи, микротельца, лизосомы и вакуоли растительной клетки.

Эндоплазматическим ретикуломом (ЭР или ER) называется протяженная замкнутая мембранная структура, построенная из сообщающихся трубкообразных полостей и мешочков, называемых цистернами. В области ядра эндоплазматический ретикулум сообщается с внешней ядерной мембраной. Между шероховатым (*rough*) и гладким (*smooth*) эндоплазматическим ретикуломом имеется морфологическое различие – мембраны шероховатого ЭР усеяны множеством рибосом, в то время как гладкий ЭР не имеет связанных рибосом.

Шероховатый эндоплазматический ретикулум, ШЭР (rER) – место активного биосинтеза белков. Именно здесь синтезируются белки, которые будут функционировать в составе мембран, лизосом или секретироваться из клетки. Остальные белки синтезируются в цитоплазме на рибосомах, не связанных с мембранами эндоплазматического ретикулума.

Белки, синтезированные на мембранах шероховатого эндоплазматического ретикулума, претерпевают посттрансляционные модификации (созревание белков). Они либо остаются внутри люмена шероховатого эндоплазматического ретикулума в виде мембранных белков, либо транспортируются с помощью везикул в аппарат Гольджи. Транспортные везикулы образуются почкованием мембран, а затем исчезают, сливаясь с ними.

Аппарат Гольджи (*Golgi apparatus*) представляет собой сложную сеть ограниченных мембранами полостей (цистерн), имеющих форму диска и являющихся местом созревания и сортировки белков (рису-

нок 29). Имеются *цис*- (*cis-Golgi*), промежуточная (*medial-Golgi*) и *транс*-Гольджи-области (*trans-Golgi*) и *транс*-Гольджи-сеть (*trans-Golgi network, TGN*).

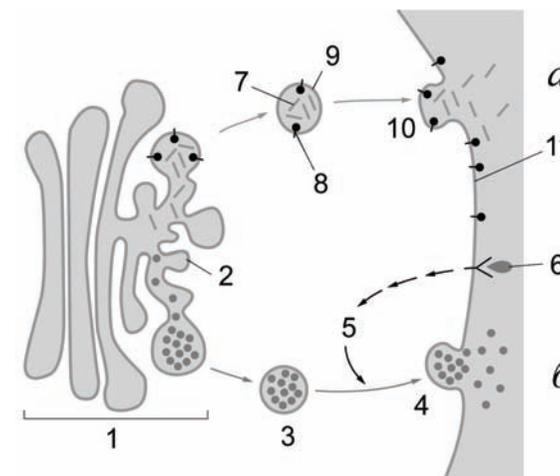


Рисунок 29 – Виды экзоцитоза: *а* – конститутивный экзоцитоз; *б* – регуляторный экзоцитоз. 1 – аппарат Гольджи; 2 – транс-Гольджи-сеть; 3 – секреторная везикула, заполненная секретруемыми белками; 4 – регуляторное слияние с мембраной; 5 – передача сигнала; 6 – внешний сигнал (например, гормон или нейротрансмиттер); 7 – синтезированные в клетке белки для конститутивного экзоцитоза; 8 – синтезированные в клетке белки плазматической мембраны; 9 – синтезированные в клетке липиды плазматической мембраны; 10 – нерегуляторное слияние с мембраной; 11 – плазматическая мембрана

Посттрансляционная модификация белков происходит в разных областях аппарата Гольджи.

Наконец, созревшие (модифицированные) белки переносятся везикулами в различные отделы клетки, такие, как лизосомы, цитоплазматическая мембрана или секреторные пузырьки. Последние высвобождают свое содержимое в межклеточное пространство, сливаясь с плазматической мембраной (*экзоцитоз*). Эти транспортные процессы могут быть конститутивными, т. е. проходить постоянно, или регуляторными, т. е. управляться химическими сигналами. Направленность процесса в первую

очередь зависит от *сигнальной последовательности* синтезируемого белка.

Наряду с белками в аппарате Гольджи осуществляется транспорт мембранных липидов.

Эндоплазматический ретикулум, не имеющий связанных рибосом, называется *гладким эндоплазматическим ретикулумом* (ГЭР) (рисунок 30).

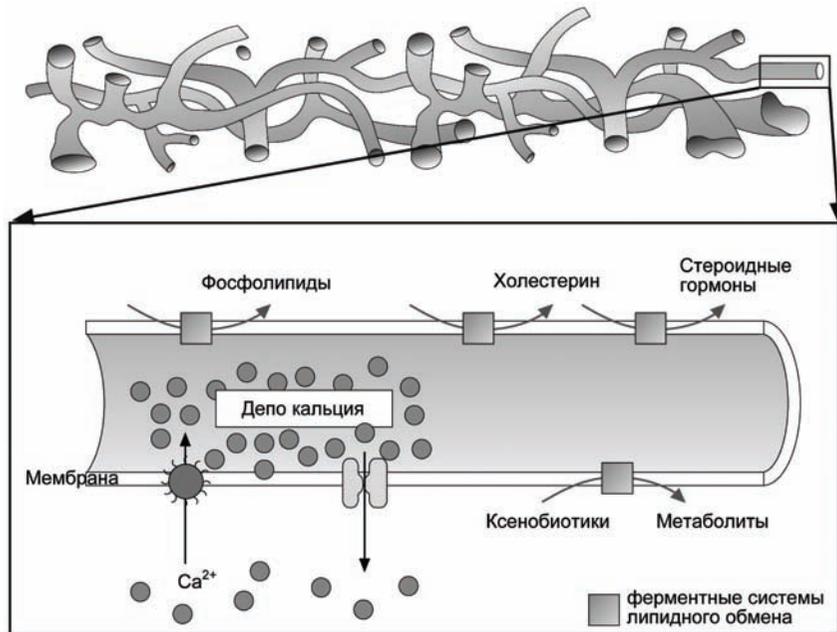


Рисунок 30 – Гладкий эндоплазматический ретикулум

Гладкий эндоплазматический ретикулум занимает в клетке сравнительно небольшой объем. Выраженный гладкий эндоплазматический ретикулум имеется в клетках с активным обменом липидов, таких, как гепатоциты и клетки Лейдига. Для гладкого эндоплазматического ретикулума характерна замкнутая система разветвленных канальцев.

Гладкий эндоплазматический ретикулум принимает участие в *синтезе липидов*. Биосинтез осуществляется ферментами, закрепленными на

мембранах гладкого эндоплазматического ретикулума. Здесь локализован *синтез фосфолипидов* и отдельные стадии *синтеза холестерина*.

В гладком эндоплазматическом ретикулуме специализированных клеток эндокринной системы протекают различные стадии *синтеза стероидных гормонов*.

В гладком эндоплазматическом ретикулуме локализованы также процессы метаболической *трансформации ксенобиотиков*. В этих реакциях принимает участие система *цитохрома P450*, которую считают основной системой гладкого эндоплазматического ретикулума.

Гладкий эндоплазматический ретикулум выполняет функцию *депо ионов кальция*, поддерживающего низкий уровень  $Ca^{2+}$  в цитоплазме. Эта функция более всего свойственна *саркоплазматическому ретикулуму*, специализированной форме гладкого эндоплазматического ретикулума мышечных клеток. В мембранах саркоплазматического ретикулума локализованы управляемые  $Ca^{2+}$ -каналы и энергозависимые  $Ca^{2+}$ -насосы, а высокая концентрация ионов  $Ca^{2+}$  в цистернах поддерживается при участии  $Ca^{2+}$ -связывающих белков.

Эндоплазматический ретикулум, аппарат Гольджи, вакуоли, лизосомы и микротельца представляют собой *единую вакуолярную систему*, поскольку их мембраны постоянно *переходят друг в друга* в процессе функционирования этой системы, а компоненты мембран непрерывно совершают круговорот в клетке.

### 3.2. Три основных механизма внутриклеточного транспорта

Мембранные структуры клетки активно участвуют во внутриклеточном транспорте белков. Существует *три основных механизма*, с помощью которых клетка решает эту задачу (рисунок 31).

1. Белок после синтеза и фолдинга в неизменном виде доставляется в нужную органеллу через специализированные поры в мембранах. Такой вид доставки называется *управляемый транспорт (gated transport)*.
2. *Трансмембранная транслокация (transmembrane translocation)* белков в ходе которой полипептид сначала денатурируется, затем

полипептидная цепочка протягивается через одну или несколько мембран, а затем снова происходит фолдинг функционального белка.

3. *Везикулярное движение (vesicular trafficking)* белков, в ходе которого от мембраны отпочковывается везикула, в состав которой входят транспортируемые вещества.

С помощью *управляемого транспорта*, например, в ядро клетки через ядерные поры доставляются все вещества. *Трансмембранная транслокация* обеспечивает доставку синтезированных в цитозоле белков в пероксисомы, митохондрии и хлоропласты. *Везикулярное движение* обеспечивает доставку веществ в лизосомы и секрецию веществ из клетки.

Адресация белков обеспечивается наличием в их структуре специальных *сортировочных сигналов (sorting signals)*. Сразу после окончания синтеза белка рибосомой в цитозоле, когда он является просто полипептидом, сортировочными сигналами являются последовательности аминокислот на концах белковой цепи, которые называют *нацеливающими (targeting sequences)*.

Для белков, которые синтезируются на мембранах шероховатого эндоплазматического ретикулума, *дополнительные* сортировочные сигналы (такие, как сахара или фосфатные группы) могут быть добавлены с помощью специализированных ферментов в цистернах аппарата Гольджи в ходе посттрансляционной модификации белков.

Такие сигналы обычно представляют собой *специфические лиганды*, которые распознаются рецепторными белками, а эти рецепторные белки с присоединенными к ним транспортируемыми белками, в свою очередь, присоединяются к мембранным транслокационным комплексам соответствующего компартмента.

*Нацеливающие последовательности* белка, которые представляют собой цепочку из 3–80 аминокислот, тоже распознаются специализированными рецепторами, которые доставляют данный белок к соответствующим транслокационным комплексам. После доставки в нужный компартмент нацеливающие последовательности обычно *отрезаются* от белковой цепи специализированными ферментами.

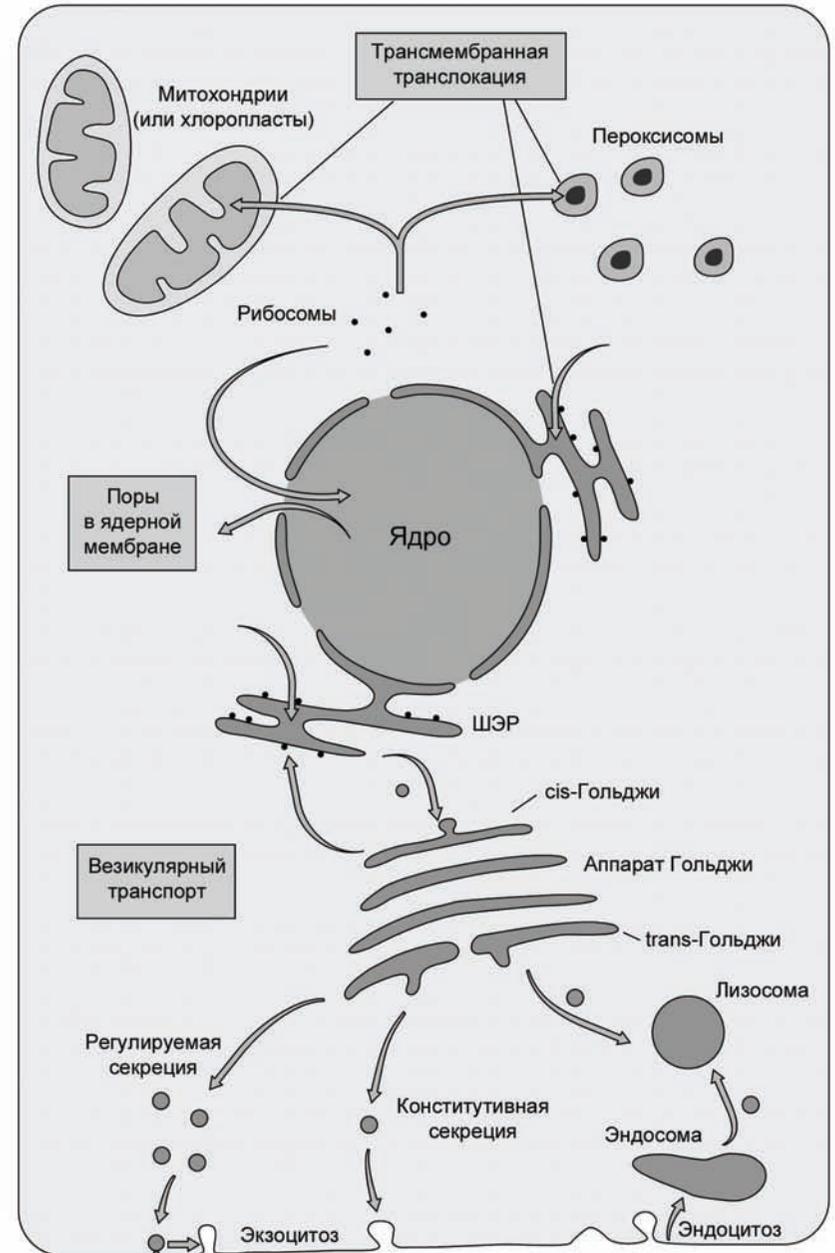


Рисунок 31– Механизмы внутриклеточного транспорта белков

Одними из наиболее изученных нацеливающих последовательностей являются *сигнальные пептиды* (или *сигнальные последовательности*) – цепочки из 5–15 преимущественно гидрофобных аминокислот. Наличие такой сигнальной последовательности в синтезируемом белке вынуждает рибосому присоединиться к эндоплазматическому ретикулуму, и синтезируемая белковая цепь направляется не в цитозоль, а в люмен ретикулума.

Другой пример нацеливающей последовательности – *сигнал импортирования* для белков, которые должны быть перемещены из цитозоля в *матрикс митохондрии*. Этот сигнал представляет собой цепочку из 20–80 аминокислот, формирующих *амфипатическую* полярную  $\alpha$ -спираль, у которой положительно заряженные аминокислоты выстроены с одной стороны спирали, а гидрофобные аминокислоты – с другой.

Для нацеливания белков в ядро клетки определена последовательность из *пяти* положительно заряженных аминокислот.

Для переноса белков в *пероксисому* служит пероксимальная нацеливающая последовательность Ser-Lys-Lys-COOH – С-концевой трипептид.

Существуют также сортировочные сигналы, которые не способствуют перемещению белка, а наоборот, служат сигналом о том, что белок уже доставлен к месту назначения и никуда далее его не следует перемещать. Например, белки с так называемой KDEL-последовательностью Lys-Asp-Glu-Leu-COOH на С-конце остаются в эндоплазматическом ретикулуме и не должны удаляться из него везикулярным транспортом.

Иллюстрацией вышесказанного может быть кальций-связывающий белок гладкого эндоплазматического ретикулума *калретикулин* (*calcium-binding protein of the endoplasmatic reticulum – calreticulin*), чья первичная структура изображена на рисунке 32.

Первые 17 аминокислот на N-конце калретикулина являются сигнальной последовательностью, которая инициирует *транслокацию* белка в люмен эндоплазматического ретикулума, а последние 4 аминокислоты – последовательность KDEL – *не позволяет* белку уйти из ретикулума. Между этими сортировочными сигналами располагается первичная структура функционального белка.

17 аминокислот

(NH<sub>2</sub>)MLLSVPLLLGLLGLAVAEPAVYFKEQFLDGGDWTSRWIESKHKSDFGKFLVSSGKFYGDEEKDKGLQTSQDARFYALSASFEPFSNKGQTLVVQFTVKHEQNIDCGGGYVKLFPNSLDQDTMHDGSEYNIMFGPDICGPGTKKVHVIFNYKGNVLINKDIRCKDDEFTHLYTLIVRPDNTYEVKIDNSQVESGSLEDDWDFLPPKKIKDPDASKPEDWDERAKIDDPTDSKPEDWDKPEHIPDPDAKKPEDWDEEMDGEWEPPIQNPYKGEWKPRQIDNPDYKGTWIHPEIDNPEYSPDPSIYA YDNFVGLGLDLWQVKS GTIFDNFLITNDEA YAEFEGNETWGVTKAAEKQMKDKQDEEQRLKEEEEDKKRKEEEEAEDKEDDEDKDEDEEDEDKEDEEEDVPGQAKDEL(COOH)

4 аминокислоты

Рисунок 32– Аминокислотная последовательность калретикулина

### 3.3. Синтез белка в шероховатом эндоплазматическом ретикулуме

Наличие рибосом на мембранах шероховатого эндоплазматического ретикулума однозначно показывает, что это *место синтеза белков*. Однако в большинстве случаев на рибосомах шероховатого эндоплазматического синтезируются белки, не участвующие ни в каких процессах внутри данной клетки, "ненужные" ей, а иногда даже вредные для клетки.

Например, на рибосомах шероховатого эндоплазматического ретикулума клеток молочной железы в большом количестве синтезируется казеин молока, который совсем не нужен клеткам молочной железы, а на рибосомах шероховатого эндоплазматического ретикулума клеток пищеварительных желез синтезируются гидролитические ферменты, попадание которых в цитозоль неминуемо должно привести к самоперевариванию клетки и её гибели.

Однако этого не происходит, потому что синтезируемые белки переносятся через мембрану шероховатого эндоплазматического ретикулума в его полость и тем самым сразу же *изолируются* от цитозоля и цитоплазматических структур.

Таким образом, роль шероховатого эндоплазматического ретикулума заключается не просто в синтезе белков на рибосомах его мембран, но и в *изоляции* этих белков от остальных функционирующих белков клетки.

Обобщенная схема биосинтеза белка представлена на рисунке 33.

Биосинтез белка (трансляция мРНК) всегда *начинается в цитоплазме* (рисунок 33(1)). Определенная последовательность из 15–60 аминокислот в начале цепи, обозначаемая как *сигнальный пептид*, указывает место синтеза.

Если образующийся на рибосоме белок начинается с сигнального пептида (рисунок 33(2)), ориентирующего белок на шероховатый эндоплазматический ретикулум, с ним связывается РНК-содержащая *сигнал-узнающая частица, SRP (signal-recognition particle)*, и трансляция временно прерывается (рисунок 33(3)).

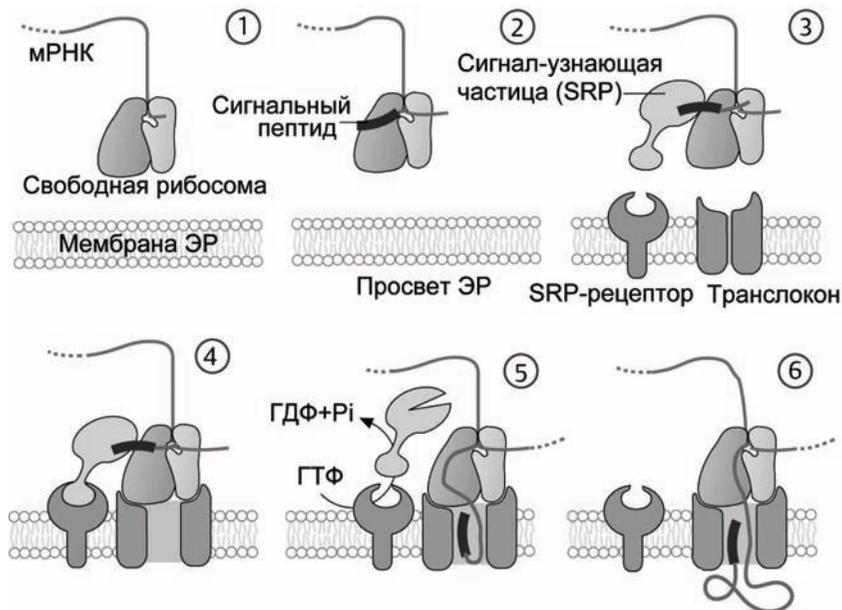


Рисунок 33 – Синтез белка в шероховатом эндоплазматическом ретикулуме

SRP связывает рибосому посредством *SRP-рецептора* с мембраной шероховатого эндоплазматического ретикулума (рисунок 33(4)). Как только рибосома закрепится на мембране, SRP-частица диссоциирует от сигнального пептида и от SRP-рецептора (при этом гидролизует ГТФ), и на рибосоме вновь начинается процесс трансляции (рисунок 33(5)).

Белковая цепь на рибосоме растёт и, ещё не свернувшись, проходит через мембрану по каналу, называемому *транслоконом*, в просвет шероховатого эндоплазматического ретикулума (рисунок 33(6)).

После окончания трансляции *сигнальный пептид* секреторного белка отрезается специальным ферментом *лидер-пептидазой*, и белок уже не может покинуть полость шероховатого эндоплазматического ретикулума. Таким способом осуществляется *направленное выведение (vectorial discharge)* белков.

Прохождение растущего полипептида через мембрану может быть прервано соответствующим *стоп-сигналом*. В этом случае полипептид остается погруженным в мембрану и даёт начало *интегральному мембранному белку*. В ходе белкового синтеза возможно многократное прохождение растущей цепи через мембрану и возобновление синтеза вновь при посредстве сигнального пептида. Образующийся по такому механизму мембранный белок будет иметь *множество* трансмембранных участков.

Большинство белков, синтезированных на мембранах шероховатого эндоплазматического ретикулума, *представляют собой гликопротеины*, тогда как растворимые белки цитозоля не гликозилированы. *Гликозилирование* – это ещё одна из основных биосинтетических функций эндоплазматического ретикулума. Это гликозилирование оказывает влияние на дальнейшую судьбу белков.

### 3.4. Вакуолярный транспорт

Гликопротеины, переносимые из шероховатого эндоплазматического ретикулума в другие места, "упаковываются" в мелкие *транспортные пузырьки (везикулы)*, которые отщепляются от промежуточной части эндоплазматического ретикулума.

Стенка этих пузырьков состоит из липидов и белков мембраны эндоплазматического ретикулума, а сами пузырьки содержат растворимые гликопротеины, захваченные из полости эндоплазматического ретикулума.

Большинство из этих пузырьков сливается, образуя плоские цистерны на ближней к ядру стороне аппарата Гольджи, с так называемой *формирующейся*, или *цис-стороной* (*формирующий полюс*).

В цистернах аппарата Гольджи происходит дальнейшее "созревание" синтезированных в шероховатом эндоплазматическом ретикулуме и перешедших в аппарат Гольджи белков.

"Созревание" белков включает различные ковалентные модификации, в результате которых белки *приобретают свою функционально-активную структуру*. Кроме того, очень сильно модифицируются связанные с остатком аспарагина олигосахариды, присоединившиеся ранее к белкам в эндоплазматическом ретикулуме – некоторые остатки сахаров избирательно отщепляются, а некоторые новые добавляются.

*Процессинг* олигосахаридов осуществляется с помощью нескольких различных чрезвычайно сложных и точно "запрограммированных" ферментных механизмов. Выбор "программы" модификации определяется каким-то (пока неизвестным) свойством каждой индивидуальной полипептидной цепи.

Ферменты, осуществляющие модификацию белков, как и сами модифицирующиеся белки, тоже, вероятно, попадают в аппарат Гольджи из эндоплазматического ретикулума. В настоящее время считается, что после процессинга присоединенный к белку олигосахарид становится "*адресом*", по которому должен быть доставлен данный белок.

"Созревшие" белки снова "упаковываются" в транспортные пузырьки, но уже на *зрелой*, или *транс-стороне* (*секретирующий полюс*).

Обобщенная схема везикулярного транспорта представлена на рисунке 34. Белки, синтезированные в шероховатом эндоплазматическом ретикулуме (рисунок 34(1)) упаковываются в транспортные везикулы (рисунок 34(2)), которые отсоединяются от шероховатого эндоплазматического ретикулума и *сливаются вместе, образуя новую цистерну* цис-Гольджи сети (*cis-Golgi network, CGN*). Ферменты и белки эндоплазматического ретикулума, которые попали в такой пузырек, а также мембранные белки, которые обеспечивают формирование везикул, *возвращаются* в шероховатый ЭР для "повторного" использования (рисунок 34(3)) в

пузырьках, которые отъединяются от цис-стороны аппарата Гольджи и сливаются с мембраной шероховатого эндоплазматического ретикулума.

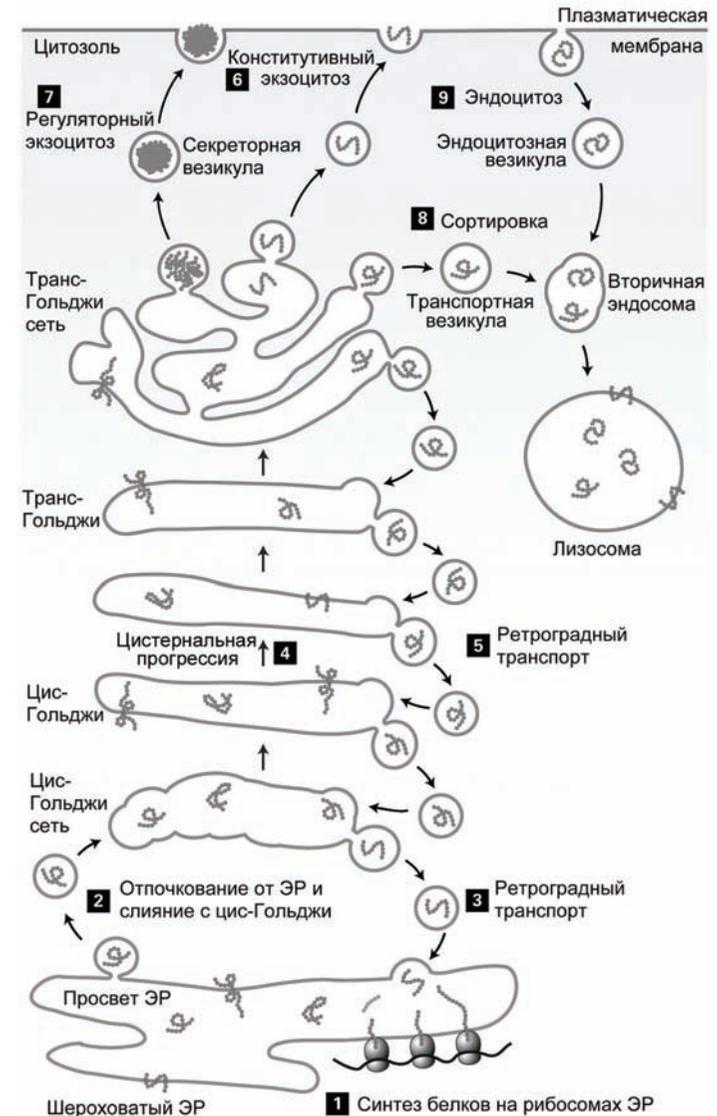


Рисунок 34 – Обобщенная схема везикулярного транспорта

Каждая цистерна Гольджи из цис-области физически *перемещается* через промежуточную область в транс-область аппарата Гольджи посредством неvesикулярного процесса, который называется *цистернальная прогрессия (cisternal progression)* (рисунок 34(4)).

"Возврат" специфических для каждой области аппарата Гольджи белков осуществляется везикулярным механизмом (рисунок 34(5)). Во всех клетках определенные белки постоянно перемещаются к поверхности в везикулах, отъединившихся от транс-стороны аппарата Гольджи, обеспечивая постоянную секрецию (рисунок 34(6)) белков за пределы клетки (*конститутивный экзоцитоз*). В некоторых типах клеток определенные белки "запасаются" в секреторных везикулах (рисунок 34(7)) и секретируются только после получения клеткой внешнего нейро- или гормонального сигнала (*регуляторный экзоцитоз*)

Белки и липиды, которые предназначены для лизосом (рисунок 34(8)), отсоединяются от транс-стороны аппарата Гольджи и присоединяются к *вторичным эндосомам*, которые затем сливаются с лизосомой. Белки из внеклеточного пространства и мембранные белки плазматической мембраны клетки, которые в процессе эндоцитоза (рисунок 34(9)) формируют эндоцитозные везикулы (отъединяющиеся от плазматической мембраны внутрь клетки), также перемещаются внутрь лизосом через эндосомы.

**Окаймлённые пузырьки.** Большинство транспортных пузырьков-везикул представляют особый класс внутриклеточных пузырьков, которые на микрофотографиях выглядят окруженными со стороны цитоплазмы *щетинообразной каймой*, и потому называются *окаймленными пузырьками*. Диаметр окаймленных пузырьков варьирует от 50 до 250 нм.

Окаймление образуют *три типа белков*:

- 1) *СОРII-белок* покрывает везикулы, транспортирующие белки из шероховатого эндоплазматического ретикулума в аппарат Гольджи,
- 2) *СОРI-белок* покрывает везикулы, осуществляющие "возвратный" транспорт белков между цистернами Гольджи и в шероховатый эндоплазматический ретикулум,

- 3) *клатрин* окаймляет везикулы, которые транспортируют белки от плазматической мембраны и от транс-Гольджи сети к вторичным эндосомам (рисунок 35).

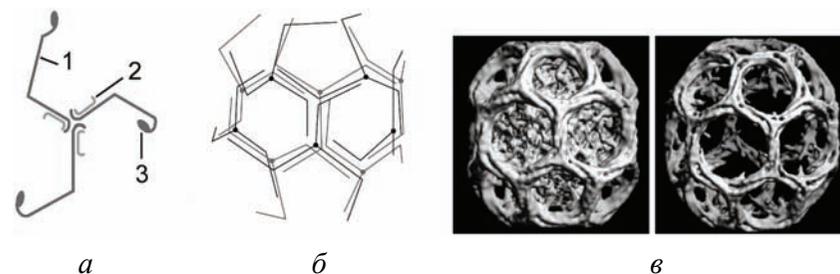


Рисунок 35 – Структура клатринового покрытия: *а* – трискелион; *б* – упаковка трискелионов в клатриновую оболочку; *в* – клатриновые корзинки, образованные спонтанной агрегацией трискелионов *in vitro*; 1 – клатрин; 2 – малый полипептид; 3 – узел связывания клатринов при агрегации

*Клатрин* (180 кДа) вместе с меньшим полипептидом (35 кДа) образует характерный многогранный чехол на поверхности окаймленных пузырьков.

Основным структурным элементом чехла служит белковый комплекс *трискелион*, состоящий из трех полипептидных цепей клатрина и трех малых (35 кДа) полипептидов.

Трискелионы *образуют* на поверхности окаймленных пузырьков *корзиноподобные сетки* из шестиугольников и пятиугольников. Обособленные трискелионы при соответствующих условиях способны к спонтанной агрегации. При этом даже в отсутствие пузырьков формируются типичные многогранные корзинки (рисунок 35(в)).

В мембране везикул интегрированы множество *вспомогательных белков*. Эти белки, *во-первых*, в процессе формирования пузырька "вылавливают" из цистерн аппарата Гольджи белки с одинаковыми олигосахаридными "адресами", и, *во-вторых*, узнают компоненты мембраны, с которой должен слиться данный пузырек (рисунок 36).

Известно, что содержимое каждого транспортного пузырька доставляется точно по правильному "адресу" к определенной внутриклеточной мембране, поэтому должны существовать различные субпопуляции транспортных пузырьков, имеющих на своей поверхности уникальные вспомогательные белки, так называемые *маркеры стыковки* (v-SNARE белки) (рисунки 36 и 37), которые опознаются *комплементарными рецепторами* (t-SNARE белки) на мембранах мишеней и формируют SNARE-комплекс.

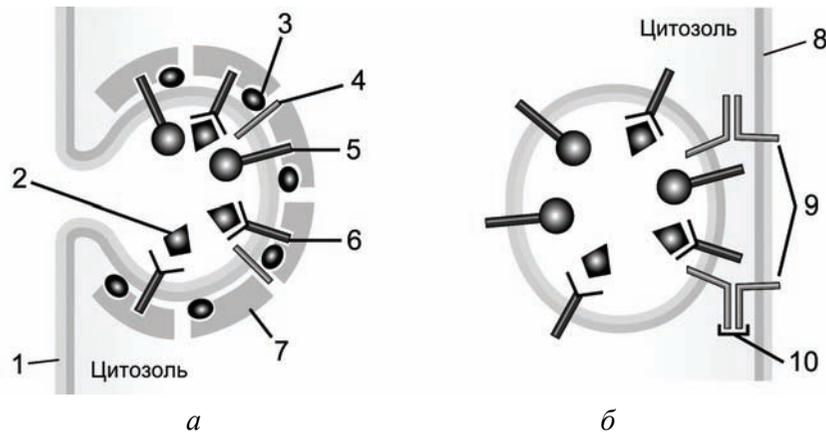


Рисунок 36 – Схема везикулярных процессов: *а* – формирование окаймленного пузырька из донорной мембраны, *б* – слияние везикулы с мембраной-целью. 1 – донорная мембрана; 2 – водорастворимый транспортируемый белок; 3 – ГТФ-связывающий белок; 4 – v-SNARE-белок; 5 – интегрированный в мембрану транспортируемый белок; 6 – мембранный рецептор водорастворимых транспортируемых белков; 7 – окаймляющие белки; 8 – мембрана-цель; 9 – t-SNARE-белки; 10 – t-SNARE-комплекс

Окаймление играет ключевую роль в формировании везикулы, но вскоре после отделения везикулы окаймляющие белки диссоциируют с её поверхности (потеря каймы), и отсутствие окаймления позволяет везикуле слиться с мембраной в конце транспортировки. Схема везикулярного транспорта между ШЭР и цис-Гольджи представлена на рисунке 37.

*Прямой (антероградный) транспорт* обеспечивается COPII-окаймленными везикулами (рисунок 37(1,2,3)), которые образуются полимеризацией COPII-белков на поверхности мембраны эндоплазматического ретикулума.

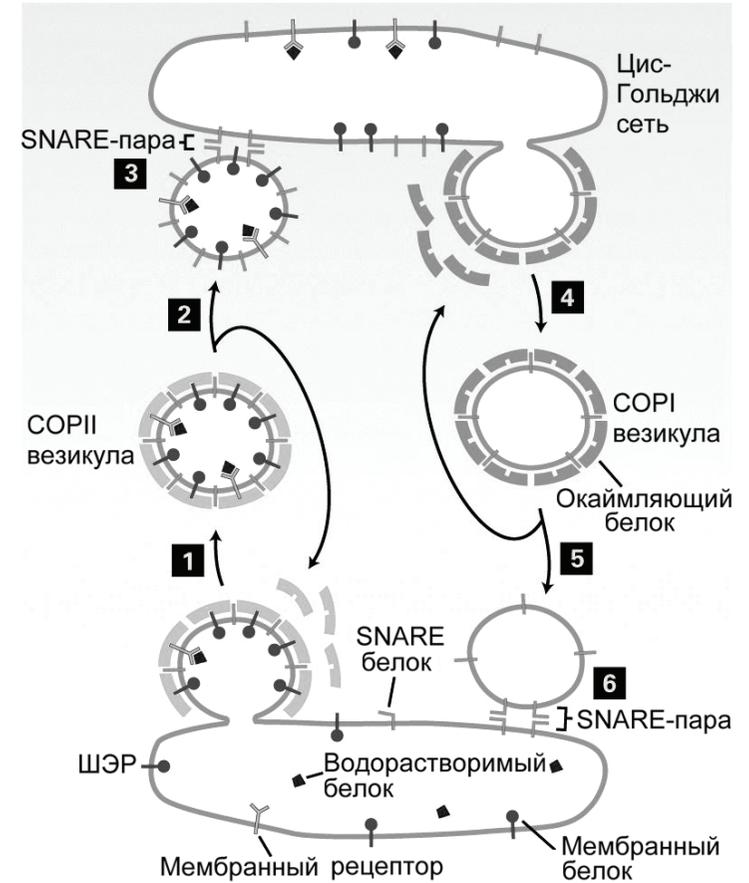


Рисунок 37 – Везикулярный транспорт белков между эндоплазматическим ретикулумом и цис-Гольджи-областью

Диссоциация COPII-белков с поверхности везикулы освобождает v-SNARE-белки. Спаривание v-SNARE с t-SNARE-белками на поверхности цис-Гольджи сети образует SNARE-комплексы, в результате чего становится возможным слияние мембран.

Обратный (энтероградный) транспорт (рисунок 37(4,5,6)), осуществляемый с помощью окаймления везикул COPI-белками, обеспечивает возврат (рециклирование) мембранных липидов, специфических белков (например, v-SNARE) и ошибочно захваченных белков эндоплазматического ретикулума из цис-Гольджи сети обратно в ШЭР.

Транспортные пузырьки, сливающиеся с плазматической мембраной и высвобождающие свое содержимое в межклеточное пространство, называются секреторными, или экзоцитозными пузырьками. Наряду с окаймленными пузырьками в клетке образуются и окаймленные ямки, т.е. эндоцитозные пузырьки, отпочковывающиеся внутрь клетки от окаймленных участков плазматической мембраны.

Когда клетке нужно "выловить" из межклеточной жидкости какое-либо вещество, она, как правило, использует механизм опосредуемого рецепторами эндоцитоза, или адсорбционный эндоцитоз, при котором клетка производит белки-рецепторы для этого вещества, которые встраиваются в состав окаймленных участков плазматической мембраны. Все молекулы, связавшиеся с рецепторами, быстро проникают внутрь клетки, поскольку окаймленные ямки постоянно отщепляются внутрь, образуя окаймленные пузырьки.

Эти пузырьки быстро теряют свою кайму и сливаются с другими пузырьками, образуя более крупные пузырьки, называемые эндосомами. Содержимое эндосом может использоваться клеткой. Хорошо изученный пример использования адсорбционного эндоцитоза – это поглощение животными клетками холестерина из внеклеточной среды.

Некоторые транспортные пузырьки, которые отпочковываются от самой крайней цистерны транс-стороны аппарата Гольджи, становятся первичными лизосомами. Гликопротеины, которыми загружены эти пузырьки, имеют олигосахарид с фосфорилированным остатком маннозы (рисунок 38). Этот маннозо-6-фосфатный маркер и определяет судьбу таких пузырьков. После отщепления маннозо-6-фосфатного маркера

гликопротеины первичных лизосом становятся активными гидролитическими ферментами (т. е. расщепляющими ферментами, осуществляющими перенос функциональных групп на молекулу воды).

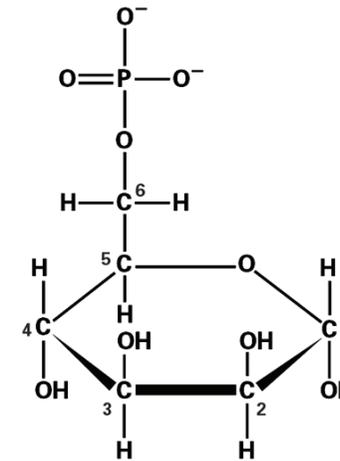


Рисунок 38 – Манноза-6-фосфат

Лизосомы расщепляют до мономерных компонентов макромолекулы, захваченные клеткой в процессе эндоцитоза, или отдельные участки цитоплазмы и органоиды, утратившие свое значение в результате старения или использующиеся как материал для поддержания жизнедеятельности клетки в неблагоприятных экстремальных условиях.

В первом случае первичная лизосома сливается с эндоцитозным пузырьком. Во втором случае подлежащий "перевариванию" участок цитоплазмы или органоид сначала окружается мембраной, а затем получившийся пузырек сливается с первичной лизосомой.

Первичная лизосома, слившаяся с пузырьком, содержащим субстрат для расщепления, называется уже вторичной лизосомой. Мономерные продукты расщепления транспортируются из лизосомы в цитоплазму и могут использоваться клеткой.

Сейчас известно около 60 гидролитических ферментов, содержащихся в лизосомах, которые способны разрушать практически все

природные полимерные органические соединения. Все они обладают наибольшей активностью при  $\text{pH} \approx 5$ . Именно такое значение  $\text{pH}$  поддерживается внутри лизосомы встроенными в их мембрану протонными АТФазами (протонными помпами), использующими энергию АТФ для накачивания ионов  $\text{H}^+$  в полость этих органелл. Хотя в нормальных условиях мембрана лизосомы непроницаема для гидролитических ферментов, необходимость *кислой среды* для их активной работы защищает цитоплазму клетки от разрушения при возможной "утечке" ферментов.

### 3.5. Трансмембранная транслокация

Кроме лизосом, в эукариотической клетке постоянно присутствуют и другие, похожие на них органеллы – *микротельца*. Наиболее распространенными микротельцами являются *пероксисомы* – пузырьки диаметром около 0,5 мкм, окруженные одиночной мембраной (рисунок 39).

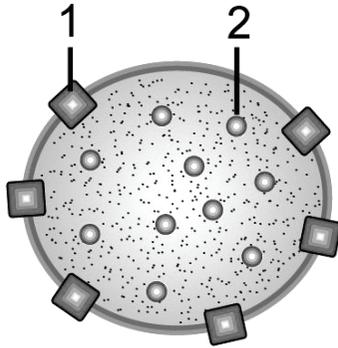
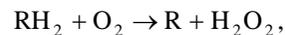
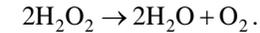


Рисунок 39 – Пероксисома: 1 – мембранные белки пероксисомы; 2 – каталаза

Пероксисомы отщепляются от гладкого эндоплазматического ретикулума и содержат *ферменты*, осуществляющие окислительные *реакции* с участием молекулярного кислорода. Основную реакцию, которую осуществляют пероксисомы, можно записать как



где  $\text{RH}_2$  – окисляемое вещество. Образующаяся перекись водорода либо используется клеткой для окисления других веществ, либо разрушается в пероксисомах ферментом *каталазой*:



Окисление с помощью молекулярного кислорода часто выполняет *защитную функцию* – таким образом пероксисомы превращают *ксенобиотики* (попавшие в организм чужеродные низкомолекулярные вещества) в безопасные продукты.

Например, почти половина выпитого этилового спирта (этанола) окисляется до ацетальдегида в пероксисомах печени. В растительных клетках пероксисомы играют особую роль, осуществляя ферментативные реакции особого метаболического пути, называемого *фотодыханием*.

Кроме того, в клетках прорастающих семян содержатся микротельца особого типа – *глиоксисомы*. Они служат для превращения жирных кислот, запасенных в липидах семян, в сахара, необходимые для протекающих в молодом растении биосинтетических реакций.

В большинство органелл, которые ограничены единственной мембраной, белки доставляются с помощью везикулярного транспорта (рисунок 31). Пероксисомы являются исключением из этого правила.

Белки пероксисом синтезируются в цитозоле, а затем транспортируются в пероксисомы. Пероксисомальные нацеливающие последовательности аминокислот в структуре этих белков связываются с белками-рецепторами импорта в пероксисомы ещё в цитозоле, и затем эти комплексы транспортируемых белков с рецепторами присоединяются к мембране пероксисомы, пересекают мембрану, в люмене пероксисомы транспортируемый белок высвобождается, а рецепторы переносятся обратно в цитозоль.

**Транспорт белков в митохондрию.** Митохондрия содержит собственную ДНК и синтезирует некоторые из необходимых для её функционирования белков, однако большинство митохондриальных белков кодируются ядерным геномом клетки. Такие белки синтезируются на

рибосомах в цитозоле, а затем транспортируются в митохондрию. Как было отмечено выше, те белки, которые предназначены для матрикса митохондрии содержат на своём N-конце специфическую *нацеливающую* последовательность. Митохондриальные рецепторные белки распознают такую последовательность и соединяются с транслокационным комплексом, который разворачивает глобулу белка и пропускает полипептидную нить через обе мембраны митохондрии. После транслокации нацеливающая последовательность удаляется, и происходит фолдинг в нативную функциональную глобулу.

В процессах разворачивания белковой глобулы перед транслокацией и вторичном фолдинге активно участвуют вспомогательные белки *шапероны*, которые предохраняют белковую нить от неспецифической агрегации.

### 3.6. Круговорот мембран в клетке

Рассмотренная выше система вакуолярных структур цитоплазмы является единым целым, отдельные компоненты которого могут переходить друг в друга. При этом происходит закономерный непрерывный *поток мембранных компонентов* от эндоплазматического ретикулаума через аппарат Гольджи к плазматической мембране.

Тем не менее мембраны каждого из органоидов характеризуются *специфичностью*, которая проявляется, в частности, в присутствии или отсутствии ферментов, *маркерных* для данного типа мембран. Такой поток называют "дифференцируемым потоком мембран" (*membrane flow differentiation*).

Встраивающиеся в плазматическую мембрану транспортные пузырьки постоянно наращивали бы её площадь, если бы не *компенсирующий эндоцитоз* – поток пузырьков отщепляющихся от плазматической мембраны и направляющихся внутрь клетки. В результате осуществляется *круговорот мембранных компонент в клетке*, и одна и та же молекула фосфолипида может побывать в составе самых разных мембран. Суммарная схема различных путей круговорота мембран в клетке показана на рисунке 34.

В случае, когда экзоцитоз *не уравнивается* компенсирующим эндоцитозом *или при быстром росте клетки*, необходим дополнительный синтез мембранных компонентов.

И фосфолипиды, и холестерол, представляющие собой основные блоки всех липидных бислоев, *синтезируются на мембранах гладкого эндоплазматического ретикулаума*. Все образующиеся в клетке липиды, за исключением жирных кислот и двух митохондриальных фосфолипидов, синтезируются на этих мембранах.

И включение, и модификация *новых* липидов происходят в *монослое*, обращенном к цитозолу. Перераспределение вновь синтезированных липидов между двумя бислоями происходит при помощи фермента *флиппазы* поскольку естественное перемещение липидов по механизму *флип-флон-диффузии (flip-flop)* слишком медленное и не соответствует экспериментально наблюдаемым скоростям перераспределения липидов.

Гладкий эндоплазматический ретикулум называют фабрикой клеточных мембран. У бактерий отсутствуют внутренние мембраны, и синтез липидов у них происходит в плазматической мембране.

Только *два* из *митохондриальных липидов* – фосфатидилглицерол и кардиолипин – синтезируются в митохондриальных мембранах. Остальные доставляются в митохондрии из гладкого эндоплазматического ретикулаума с помощью специальных водорастворимых *белков-переносчиков*. Каждый такой белок узнает только определенные типы фосфолипидов и связывает одну молекулу. Белок "выхватывает" молекулу фосфолипида из какой-либо мембраны и удаляется с этим липидом, "спрятанным" в связывающем центре. Когда белок встречает другую мембрану с подходящими свойствами, он отдает связанную молекулу фосфолипида новому липидному бислою.

В отличие от митохондрий, всё необходимое для построения мембран *хлоропластов* липиды образуются *в самих пластидах*.

### ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

1. Какие мембранные образования относятся к вакуолярной системе клетки?

2. В чем сходство различие гладкого и шероховатого эндоплазматического ретикулума?
3. В чем сходство и различие цис- и транс-Гольджи областей?
4. Что такое конститутивный экзоцитоз и в чем его отличие от регуляторного экзоцитоза?
5. Каковы функции шероховатого эндоплазматического ретикулума?
6. Каковы функции гладкого эндоплазматического ретикулума?
7. Какова роль сигнал-узнающей частицы в процессе синтеза белка в шероховатом эндоплазматическом ретикулуме?
8. Какова функция эндосом в клетке?
9. Что называется окаймленными пузырьками и из чего образуется это окаймление?
10. Перечислите белки, окаймляющие окаймленные пузырьки.
11. Из чего состоит клатриновый трискелион?
12. Какова функция SNARE-комплексов в везикулярном транспорте?
13. В чем сходство и различие антероградного и энтероградного везикулярного транспорта?
14. Какую реакцию катализирует каталаза?
15. К какому виду органоидов принадлежат пероксисомы?
16. Что такое круговорот мембран в клетке, и какие функции он выполняет?

## 4. КОМПОНЕНТЫ БИМОЛЕКУЛЯРНЫХ КОМПЛЕКСОВ

### 4.1. Атомный состав живых организмов

В живых организмах обнаруживаются только 40 наиболее легких элементов из 92 природных химических элементов, присутствующих в природе. Причем из этих 40, *только* 27 существенны для жизнедеятельности организмов, остальные элементы (например, висмут, свинец, олово, кадмий, сурьма, таллий и др.) являются загрязняющими примесями.

*Атомный состав* даже очень разных по уровню сложности организмов различается значительно меньше, чем состав любого организма отличается от состава литосферы.

На долю *четырёх* химических элементов – С, О, Н и N – приходится около 98% веса организма. Из этих элементов состоят все органические соединения, поэтому их называют *органогенами*.

Остальные элементы, составляющие организм, подразделяются на *макроэлементы* (К, S, P, Cl, Mg, Na, Ca и Fe), которые содержатся в количестве 0,01-0.1 весовых %, и *микроэлементы* (Zn, Cu, I, F, Mn, В, Br, Co, Mo, Si, Ba, Se, V, Cr, Ni), содержание которых меньше 0,01%.

Несмотря на малые количества, микроэлементы выполняют некоторые незаменимые функции (например, входят в состав ферментов), поэтому недостаток любого из них приводит к серьезным нарушениям обмена веществ. Избыток микроэлементов столь же опасен из-за возможности их вступления в неспецифические химические реакции.

Из *неорганических веществ* клетки большая часть находится в виде солей. Концентрации катионов и анионов в клетке и в среде её обитания, как правило, сильно отличаются.

Например, внутри животной клетки концентрация ионов  $K^+$  равна 140 мМ, а  $Na^+$  – от 5 до 15 мМ, тогда как в межклеточной или внешней среде мало калия (5 мМ) и довольно высокая концентрация натрия (145 мМ). Это различие в концентрации ионов между клеткой и средой выполняет специальную функцию создания разности потенциалов на плазматической мембране и, пока клетка жива, активно поддерживается. После смерти клетки содержание ионов в клетке и среде быстро выравнивается.

От солей в значительной мере зависят *поступление воды в клетку* и буферные свойства клеток и тканей. Клеточные мембраны проницаемы для молекул воды и непроницаемы для крупных молекул и ионов.

Если в среде содержание воды более высокое, чем в клетке, то выравнивание концентрации воды между клеткой и средой происходит путем проникновения воды из среды в клетку (явление осмоса). На этом свойстве, например, основано *всасывание воды корнями* растений.

Неорганические ионы ( $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Mg}^{2+}$ ) участвуют в регуляции каталитической способности многих белков-ферментов, связываясь с ними и тем самым активируя их.

Другие ионы ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ) сами входят в состав реакционного центра некоторых ферментов.

Ион  $\text{Ca}^{2+}$  играет важную роль в распространении нервного импульса и мышечном сокращении, а неорганический фосфат является необходимым компонентом внутриклеточной АТФ-зависимой системы переноса энергии.

Неорганические соли содержатся в клетке не только в растворенном, но и в твердом состоянии, выполняя структурную функцию. В частности, прочность и твердость костной ткани и раковинам моллюсков придает нерастворимый гидроксипапатит, состав которого можно приблизительно описать формулой  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ .

В водных растворах биологически важные ионы, такие как  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$ , не существуют в виде изолированных ионов, а всегда гидратированы – окружены электростатически взаимодействующими с ионом полярными молекулами воды (рисунок 40).

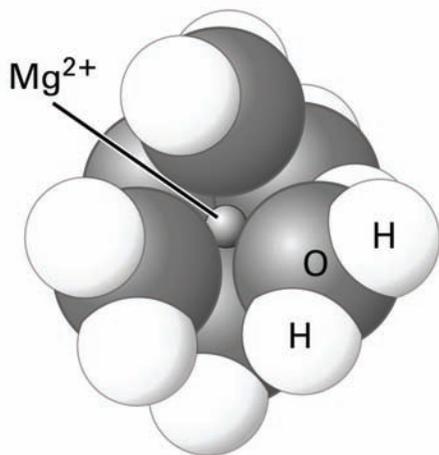


Рисунок 40 – Гидратированный катион магния

## 4.2. Химическая связь и межмолекулярные взаимодействия

Возникновение и существование земной жизни, стало возможно лишь благодаря уникальной способности углерода образовывать большие молекулы. Из-за малых размеров и наличия во внешней оболочке четырех электронов атом углерода может образовывать четыре прочные ковалентные связи с другими атомами.

Ковалентная связь образуется при обобществлении электронов взаимодействующими атомами, при этом различие между ковалентной и ионной связями определяется степенью поляризации связи (рисунок 41).

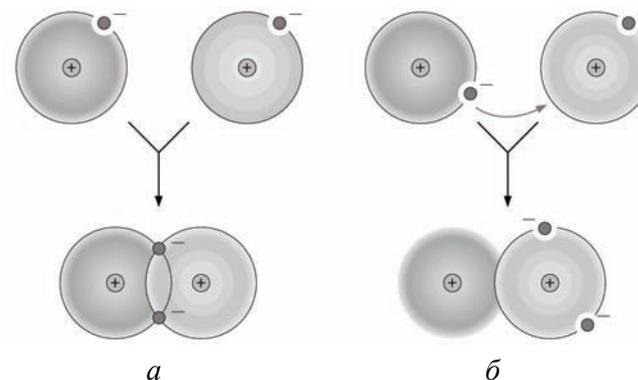


Рисунок 41 – Образование химической связи между двумя атомами: а – ковалентная связь (обобществление электронов); б – ионная связь (перенос электрона)

В случае ионной связи электрон "полностью" переносится от одного атома к другому. В большинстве случаев реализуется промежуточная ситуация ("неравноправное" обобществление электронов), что приводит к образованию полярной ковалентной связи.

Каждый атом образует определенное число ковалентных связей, которые определенным образом расположены в пространстве.

Наиболее важное значение имеет способность атомов углерода соединяться друг с другом (рисунок 42), образуя (а) цепочки, (б) разветвления и (в) кольца и создавая в результате большие и сложные молекулы, на размеры которых не накладывается никаких ограничений.

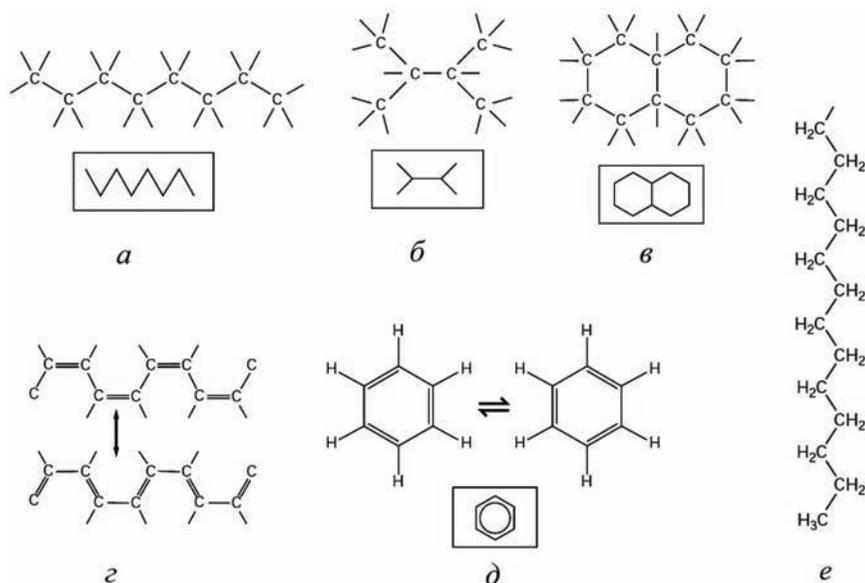


Рисунок 42 – Структуры, образуемые атомами углерода: *a* – цепочка; *б* – разветвление; *в* – кольца; *г* – система двойных С=С связей, стабилизирующих структуру, может быть представлена как суперпозиция двух состояний; *д* – аналогично предыдущему случаю, распределение электронов при образовании углеродного кольца может быть представлено в виде суперпозиции двух состояний; ниже приведено обозначение такой структуры; *е* – углеводородная цепочка

*Нековалентные взаимодействия* являются определяющими в формировании функциональной структуры биологических макромолекул и клеточных компонентов.

*Силы нековалентных межмолекулярных взаимодействий* являются короткодействующими – они проявляются на расстояниях менее  $10^{-9}$  м.

*Нековалентные взаимодействия* подразделяют на:

- (1) электростатические (или ионные) взаимодействия,
- (2) ван-дер-ваальсовы силы,
- (3) водородную связь,
- (4) гидрофобные силы.

*Электростатические силы* обеспечивают взаимодействие между полностью или частично заряженными функциональными группами.

*Ван-дер-ваальсовы взаимодействия* имеют электромагнитную природу и определяются взаимодействием электрических диполей молекул. В зависимости от того, обладает ли взаимодействие молекулы электрическим дипольным моментом, или последнее возникает вследствие поляризации оболочек, существуют различные типы ван-дер-ваальсовых сил:

- 1) диполь-дипольное взаимодействие полярных молекул,
- 2) индукционное взаимодействие диполя полярной молекулы с индуцированным диполем другой молекулы,
- 3) дисперсионное взаимодействие индуцированных диполей двух молекул.

*Водородная связь* определяет растворимость в воде незаряженных молекул.

*Водородная связь* – это взаимодействие частично положительно заряженного атома водорода в молекулярном диполе (пример такого диполя – молекула воды) с неподелённой электронной парой другого атома либо в этой же молекуле (внутримолекулярная), либо на другой молекуле (межмолекулярная водородная связь).

Система водородных связей определяет уникальные свойства *воды* – самого распространенного соединения в живых организмах. Вода заполняет клетки и межклеточные пространства и представляет собой ту среду, в которой осуществляются диффузия веществ, химические реакции и взаимодействия макромолекул (белков и нуклеиновых кислот) друг с другом. Кроме того, вода сама непосредственно участвует во многих химических реакциях клетки.

*Два свойства воды*: (1) способность образовывать *водородные связи* и (2) *обратимая ионизация* – оказываются весьма существенными для протекания внутриклеточных процессов.

Атомы кислорода и водорода обладают *разным сродством к электрону* (электроотрицательностью), и, хотя молекула воды в целом электр-

трически нейтральна, на кислороде локализуется частичный отрицательный, а на атомах водорода – частично положительный заряды. Два электроотрицательных атома связываются через атом водорода, образуя водородную связь. Водородные связи характерны *не только для воды*.

*Белки и нуклеиновые кислоты* содержат большое число *внутримолекулярных* водородных связей, которые играют важную роль в организации структуры и функционировании этих макромолекул (рисунок 43).

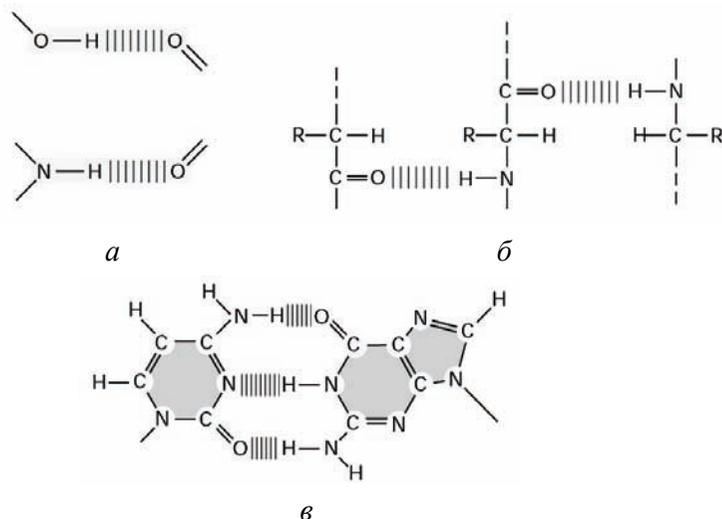


Рисунок 43 – Водородная связь: *а* – сила связи наибольшая при линейном расположении атомов; *б* – водородные связи между полипептидными цепями белков; *в* – азотистые основания цитозин и гуанин в ДНК спариваются, образуя водородные мостики

*Водородные связи* намного слабее ковалентных. Энергия водородных связей в жидкой воде (т.е. энергия, необходимая для разрушения одной связи) составляет примерно 18,8 кДж/моль, тогда как энергия ковалентных связей Н–О в молекулах воды равна 460 кДж/моль.

Молекулы *в жидкой воде* находятся в непрерывном тепловом движении, поэтому образующиеся водородные связи постоянно и быстро *разрываются и вновь восстанавливаются*.

Среднее время жизни водородной связи при комнатной температуре не превышает  $1,5 \times 10^{-9}$  с. Каждая молекула воды может образовывать водородные связи с *четырьмя* соседними молекулами, однако при комнатной температуре каждая молекула воды образует водородные связи в среднем с 3,4 других молекул.

Любые молекулы, между которыми возможны водородные связи, могут образовывать такие же связи с молекулами воды. Из-за такой конкуренции с молекулами воды, водородные связи, образуемые между двумя молекулами в водном растворе, относительно слабы.

*Аномально высокие* (по сравнению с большинством других жидкостей) *удельная теплоемкость* и *теплота испарения* воды является следствием высокого межмолекулярного сцепления в воде, обусловленного образованием водородных связей. Эти особенности воды важны для *поддержания постоянства внутренней температуры* живыми организмами.

При изменении температуры внешней среды в клетке происходит поглощение или выделение тепла благодаря *разрыву или новообразованию* водородных связей между молекулами воды. Таким образом, колебания температуры внутри клетки, несмотря на резкие её изменения во внешней среде, ослабляются – *вода выступает в роли термостата*.

Благодаря *высокой теплоте испарения* воды организмы могут эффективно *защититься от перегрева*, поскольку на испарение 1 г воды с поверхности листа или в виде пота с поверхности кожи расходуется 2,26 кДж тепловой энергии.

*Полярный характер* молекулы воды делает её значительно лучшим *растворителем*, чем большинство других общеизвестных жидкостей. В воде растворяются очень многие вещества, причем растворимость некоторых веществ определяется способностью воды образовывать водородные связи с *гидроксильными и карбоксильными* группами других молекул.

*Неполярные молекулы* не образуют нековалентных связей с молекулами воды, что проявляется в нерастворимости таких веществ в воде – *их гидрофобности*. При этом, молекулы воды вокруг гидрофобного включения образуют упорядоченную ячеистую (клатратную) сеть водородных связей, понижая энтропию воды (рисунок 44).

Агрегация гидрофобных включений приводит к уменьшению числа молекул воды, задействованных в гидратной оболочке, часть молекул воды "освобождается", что повышает энтропию, а, следовательно, такой процесс энергетически выгоден и может протекать самопроизвольно.

Явление агрегации гидрофобных молекул в объеме воды называют гидрофобным эффектом или гидрофобным взаимодействием этих молекул.

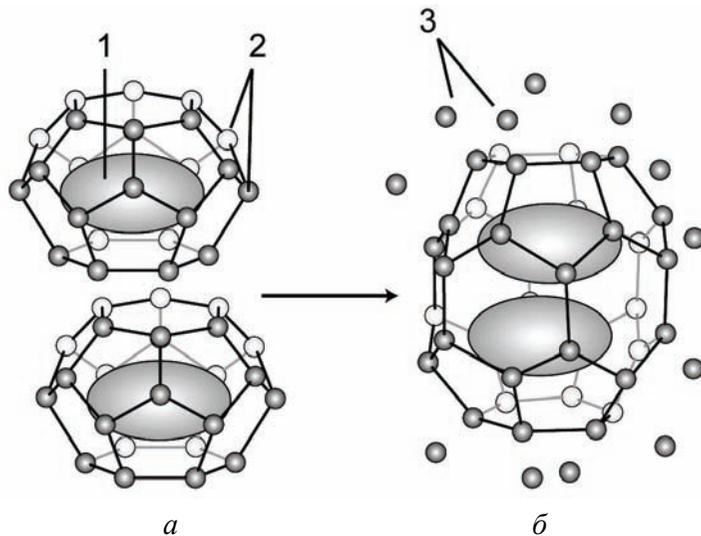


Рисунок 44 – Гидрофобное взаимодействие: *а* – неагрегированное, энергетически невыгодное состояние, водное окружение более упорядочено, энтропия ниже; *б* – агрегированное, энергетически выгодное состояние, водное окружение менее упорядочено, энтропия выше. 1 – неполярное вещество; 2 – упорядоченные молекулы воды; 3 – молекулы воды освобожденные в объем раствора

Рисунок 45 иллюстрирует систему нековалентных связей, посредством которой образуется стабильный комплекс из двух белков. Любое другое пространственное расположение тех же самых функциональных групп двух белков не приведет к такому прочному связыванию.

Именно такие множественные специфические взаимодействия между комплементарными областями белковых молекул (1) формируют и

поддерживают трехмерную функциональную структуру белковых глобул, а также (2) соединяют две цепи ДНК в двойную спираль.

Молекулы воды обладают лишь слабо выраженной способностью к обратимой ионизации – в чистой воде при нормальных условиях концентрация ионов  $H^+$  и  $OH^-$ , на которые диссоциирует молекула воды, не превышает  $10^{-7}$  моль/литр.

Однако образующиеся при объединении с протоном ионы гидроксония ( $H_3O^+$ ), равно как и гидроксил-ионы ( $OH^-$ ) играют исключительно важную роль в биологических процессах.

Поскольку молярная концентрация иона гидроксония мала, её принято выражать через величину её отрицательного десятичного логарифма, который обозначается символом pH. От величины pH зависят структура, растворимость и биологическая активность макромолекул.

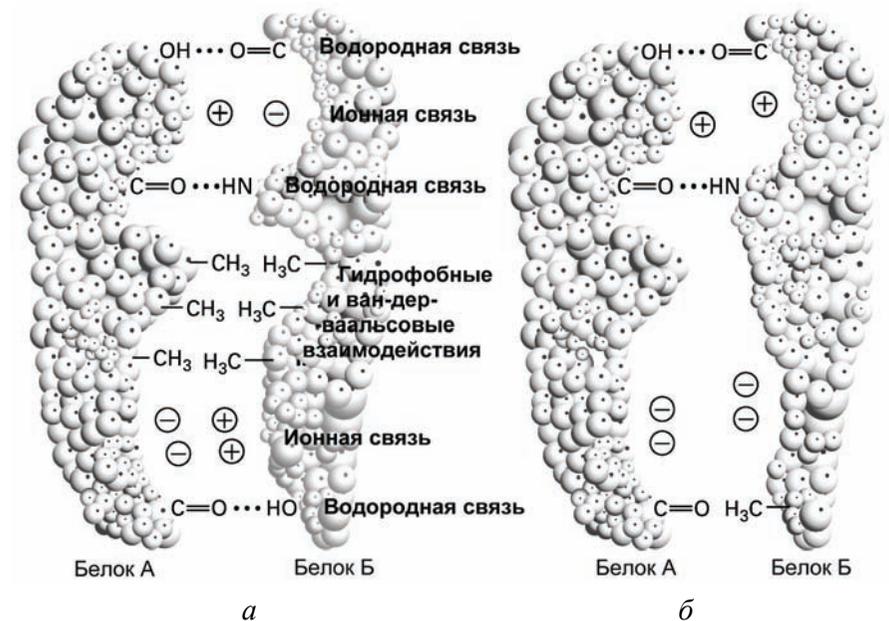


Рисунок 45 – Система нековалентных взаимодействий, объединяющих две белковые молекулы в единый комплекс: *а* – прочный комплекс; *б* – менее прочный комплекс

### 4.3. Углеводы

На долю углеводов приходится до 80% сухого вещества некоторых растительных тканей и до 20% некоторых животных тканей. *Простейшими* углеводами, встречающимися в живых организмах, являются *моносахариды*, имеющие общую формулу  $C_n(H_2O)_n$ , где  $n = 3-7$  (именно этим объясняется их общее название "углеводы"). Практически все природные моносахариды, так же как и аминокислоты, могут существовать в D-форме и в L-форме (рисунок 46). В отличие от аминокислот, почти все моносахариды живых организмов относятся к D-ряду.

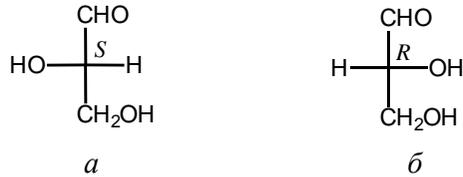


Рисунок 46 – Энантиомеры глицеринового альдегида  $CH_2(OH)CH(OH)CHO$ : *a* – L-глицериновый альдегид; *b* – D-глицериновый альдегид

Моносахариды, содержащие *пять и более атомов углерода*, в растворах существуют как в линейной форме, так и в виде *замкнутых циклических структур* (рисунок 47).

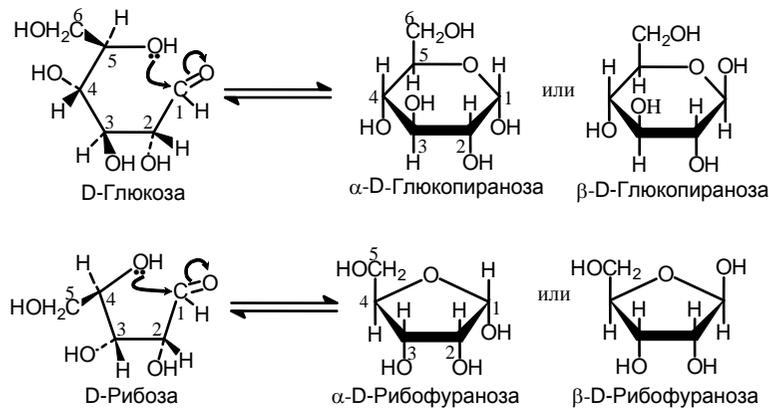


Рисунок 47 – Образование циклической формы моносахаридов

При этом замкнутые структуры могут существовать в виде двух стереоизомеров  $\alpha$  и  $\beta$  (рисунок 47).

В цитозоле молекула моносахарида постоянно "переключается" между линейной формой и двумя циклическими стереоизомерами. Например, моносахарид глюкоза переключается между циклическими изомерами  $\alpha$ -глюкоза и  $\beta$ -глюкоза через линейный изомер (рисунок 48).

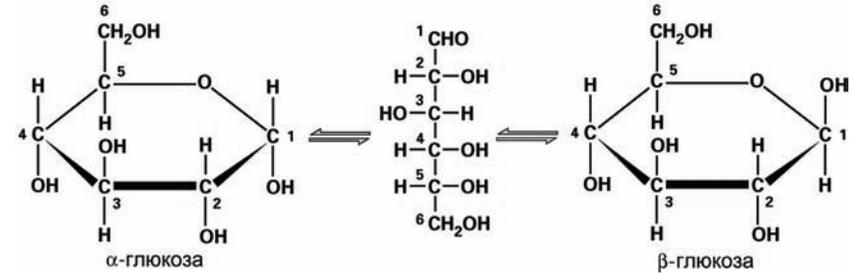


Рисунок 48 – Переключение изомеров глюкозы

Следует иметь в виду, что в действительности шести- и пятичленные кольца неплоские. Шестичленное кольцо большинства сахаров имеет конфигурацию кресла (рисунок 49). Неплоской является и фуранозная форма.



Рисунок 49 – Две конформации кресла  $\beta$ -D-глюкопиранозы. Буква "C" означает конформации кресла (*Chair*); цифры указывают, какой из атомов отогнут вверх (надстрочный индекс), а какой – вниз (подстрочный индекс) при каноническом написании проекции

Обычно в равновесной смеси преобладает тот конформер, в котором наибольшее число объемистых заместителей располагаются на

экваториальных связях.  $\beta$ -D-Глюкопираноза существует в растворе практически полностью в виде  ${}^4C_1$ -конформера (все объемистые заместители расположены на экваториальных связях).

Основными моносахаридами живых организмов являются глюкоза, фруктоза, рибоза (входит в состав РНК) и 2-дезоксирибоза (входит в состав ДНК), а также галактоза, манноза и рибулоза (рисунок 50).

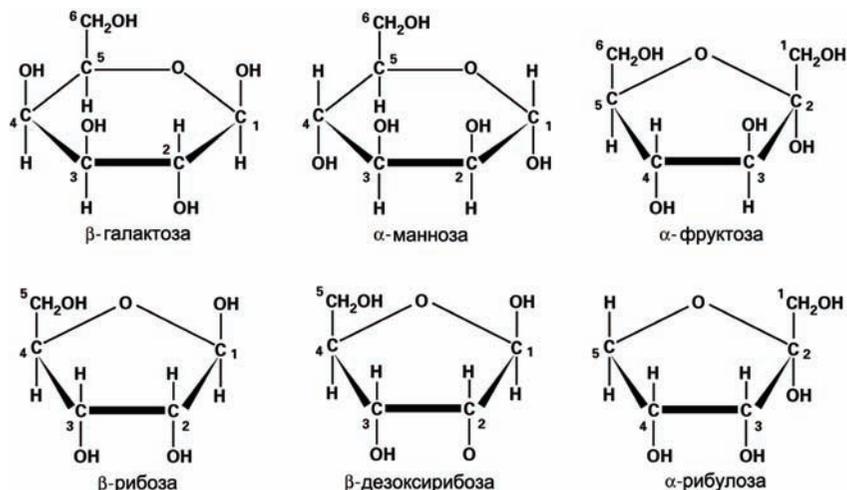


Рисунок 50 – Схемы основных моносахаридов

Моносахариды могут соединяться друг с другом, образуя *гликозидную связь*, которая образуется между гидроксильной группой одного моносахарида и *альдегидной группой* или *кетогруппой* другого моносахарида. При этом отщепляется молекула воды, и образуется дисахарид (рисунок 51).

Присоединение аналогичным путем дополнительных моносахаридов приводит к образованию **олигосахаридов** всё возрастающей длины (трисахаридов, тетрасахаридов и т.д.) вплоть до очень больших молекул **полисахаридов**, содержащих сотни и тысячи моносахаридных остатков.

*Полисахариды*, которые называют также *гликанами*, отличаются друг от друга как природой составляющих их моносахаридных остатков, так и длиной и степенью разветвленности цепей.

Поскольку у каждого моносахарида имеется несколько свободных гидроксильных групп, способных образовывать связь с другим моносахаридом или каким-либо иным соединением, число возможных структур полисахаридов исключительно велико.

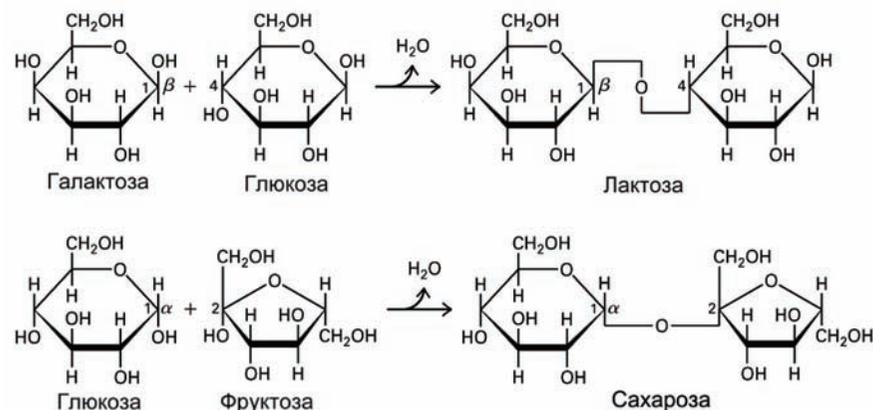


Рисунок 51 – Схема образования дисахаридов

Поскольку каждая из гидроксильных групп может находиться с разных сторон от плоскости кольца ( $\alpha$ - и  $\beta$ -положения), то каждую конкретную *гликозидную связь* обозначают как  $\alpha/\beta$ -m,n-связь, где m и n обозначают номер углеродного атома, несущего гидроксильную группу, участвующую в образовании гликозидной связи. Например, на рисунке 51 показаны  $\beta$ -1,4- и  $\alpha$ -1,2-гликозидные связи.

Даже *простейший дисахарид* из двух остатков глюкозы может быть образован *одиннадцатью* различными гликозидными связями, а *три* различные *гексозы* (например, глюкоза, фруктоза и галактоза), соединяясь между собой, способны образовать *несколько тысяч* различных *трисахаридов*.

**Структурная функция полисахаридов.** В живых организмах углеводы выполняют структурную, энергетическую и специальные функции. Основными структурными полисахаридами служат: у растений – *целлюлоза* и *пектины*, а у животных и грибов – *хитин*.

**Целлюлоза** – самое распространенное органическое соединение на Земле, поскольку из нее построены клеточные стенки растений. В частности, *древесина* и *хлопок* почти целиком состоят из целлюлозы. В день на каждого живущего на Земле человека растения синтезируют примерно 50 кг целлюлозы.

**Целлюлоза** – прочное, волокнистое, водонерастворимое вещество, каждая молекула которого состоит из  $10^4$  и более остатков D-глюкозы, соединенных в неразветвленную цепь посредством  $\beta$ -1,4-гликозидных связей (рисунок 52). Полимерные цепи целлюлозы сильно вытянуты и соединены друг с другом водородными связями.

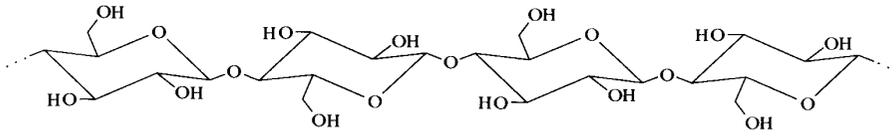


Рисунок 52 – Схема полисахаридной цепи целлюлозы

**Хитин**, как и целлюлоза, – линейный неразветвленный полисахарид, однако структурными единицами его служит не D-глюкоза, а N-ацетил-D-глюкозамин (рисунок 53).

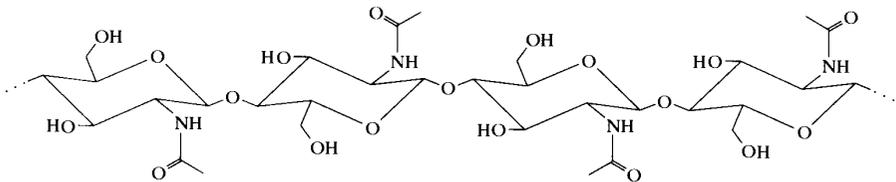


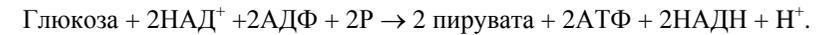
Рисунок 53 – Схема полисахаридной цепи хитина

Из хитина построены прочные нерастворимые покровы ракообразных и насекомых, а также клеточные стенки грибов. Хитиновый каркас многих ракообразных усилен за счет включений карбоната кальция.

**Энергетическая функция полисахаридов.** Углеводы служат главным оперативным источником энергии в клетках. В результате окисления

глюкоза и другие моносахариды распадаются до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ , и высвобождающаяся при этом химическая энергия используется клеткой.

**Гликолиз** – это практически универсальный процесс, в котором шестуглеродная молекула *глюкозы* ( $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ ) в результате серии ферментативных превращений в цитозоле анаэробно превращаются в две трёхуглеродные молекулы *пирувата* ( $\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3$ ). При этом расходуются две молекулы АТФ, но четыре молекулы АТФ синтезируются в ходе гликолиза, поэтому гликолиз одной молекулы глюкозы сопровождается синтезом двух молекул АТФ. Кроме того, восстанавливаются две молекулы *никотинамид адениндинуклеотида* НАД:



Для *запасания энергии* впрок используются полисахариды, построенные из повторяющихся остатков глюкозы, – **крахмал** (у растений) и **гликоген** (у животных).

Когда необходима энергия, молекулы глюкозы отщепляются от крахмала или гликогена, а при избытке глюкозы её молекулы присоединяются к полимерным цепям крахмала или гликогена и удлиняют их. Таким образом, *резервные полисахариды* всё время *меняют* свой размер в зависимости от потребности организма в энергии.

**Крахмал** представляет собой смесь двух полимеров D-глюкозы –  $\alpha$ -амилозы и амилопектина (рисунок 54).

$\alpha$ -Амилоза состоит из длинных неразветвленных цепей с молекулярной массой от нескольких тысяч до  $5 \times 10^5$ , построенных из остатков D-глюкозы, соединенных  $\alpha$ -1,4-гликозидными связями.

Амилопектин также имеет высокую молекулярную массу, но, в отличие от  $\alpha$ -амилозы, его молекулы сильно разветвлены. В *неразветвленных участках* амилопектина остатки D-глюкозы соединены  $\alpha$ -1,4-гликозидными связями, а в *местах ветвления* –  $\alpha$ -1,6-гликозидными связями.

**Гликоген** – сильно разветвленный полисахарид, так же, как и амилопектин, состоящий из остатков D-глюкозы, связанных  $\alpha$ -1,4-гликозидными связями, а в местах ветвления –  $\alpha$ -1,6-гликозидными связями.

Больше всего гликогена содержится в клетках печени, где на его долю приходится до 7% общего веса органа. В клетках печени гликоген присутствует в виде *крупных гранул*, состоящих в свою очередь из *меньших гранул*, каждая из которых образована *одной* сильно разветвленной молекулой со средней молекулярной массой в несколько миллионов. С этими гранулами прочно связаны ферменты, ответственные за синтез и распад гликогена.

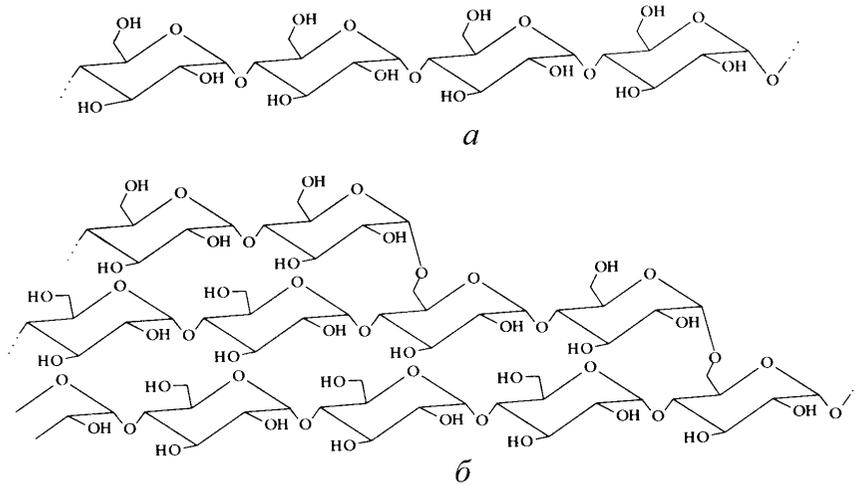


Рисунок 54 – Схема полисахаридов крахмала: а – амилоза; б – амилопектин

Хотя и целлюлоза, и крахмал, и гликоген состоят из остатков глюкозы, они сильно различаются по своим свойствам из-за *различия гликозидных связей*, которыми соединены остатки глюкозы в этих молекулах.

Благодаря геометрическим особенностям  $\alpha$ -1,4-гликозидных связей линейные участки полимерных цепей в молекулах *гликогена и крахмала* стремятся принять *скрученную, спиральную* конформацию, что способствует образованию плотных гранул крахмала и гликогена, обнаруживаемых в клетках.

Напротив, из-за структурных особенностей  $\beta$ -1,4-гликозидных связей молекулы *целлюлозы* имеют сильно *вытянутую линейную* конформацию.

$\alpha$ -1,4-связи *легко гидролизуются* ферментом *амилазой*, поэтому крахмал легко усваивается животными и человеком, расщепляясь до D-глюкозы. Однако в кишечнике животных нет фермента, способного гидролизовать  $\beta$ -1,4-гликозидные связи, поэтому *целлюлоза не переваривается*, и её D-глюкозные остатки не могут служить пищей для большинства организмов.

Тем не менее, *жвачные и термиты* используют целлюлозу в качестве пищи благодаря обитающим в их кишечнике микроорганизмам (бактериям и простейшим), которые синтезируют *целлюлазу* – фермент, гидролизующий  $\beta$ -1,4-гликозидные связи. Целлюлазу синтезируют также *некоторые грибы*, вызывающие гниение древесины.

**Специальные функции полисахаридов.** К *полисахаридам со специальными функциями* относятся очень сложные соединения, биохимические функции которых не всегда известны, например, *камеди и слизи*.

Углеводы могут ковалентно связываться с белками и липидами, образуя *гликопротеины и гликолипиды*.

Как правило, такие *гибридные молекулы* входят в состав оболочек клеток, и их олигосахаридная часть участвует в *процессах межклеточного узнавания и рецепции* сигнальных молекул.

*Жесткость* олигосахаридных структур, их растворимость в воде и огромное разнообразие возможных конфигураций делают их наиболее подходящими для выполнения этих функций.

*Протеогликанами* (или пептидогликанами) называются гликопротеины, в которых на долю полисахарида приходится основная часть молекулы – более 95%. Они входят в состав основного вещества, заполняющего пространство между клетками в большинстве тканей, а у бактерий (прокариоты) именно пептидогликаны (но не хитин и целлюлоза) служат структурной основой клеточных стенок. В эукариотической клетке клеточная стенка, если она есть может содержать хитин или целлюлозу (но не пептидогликан).

Большое количество гидроксильных групп в полисахаридах образуют водородные связи с другими донорами или акцепторами, обеспечивая существование *двух важных типов структур* в живых организмах.

В одном случае, отдельные полисахаридные цепи ассоциируются с большим количеством молекул воды, образуя *клейкий гель*. В таком виде углеводы покрывают большинство наших клеток, образуя их клейкую защитную оболочку. Гликопротеины *слизи* дают представление о внешнем виде и свойствах такого образования.

В другом случае, углеводные цепи прочно ассоциируются друг с другом посредством сети водородных связей, образуя *прочные волокна*, внутри которых практически нет воды. В таком виде полисахариды используются для формирования макроскопической инфраструктуры клеток и межклеточных образований и для запасания энергии. Некоторые из наиболее впечатляющих биологических структур, созданных природой, включая прочные стволы гигантских *деревьев* и жесткие водонепроницаемые панцири *членистоногих*, обязаны своей силой и прочностью полисахаридам.

#### 4.4. Липиды и биомембраны

*Липидами* называют природные соединения, которые получают из растительных или животных тканей экстракцией неполярными растворителями (например, эфиром, бензолом или хлороформом) и которые не растворимы в воде.

К ним относятся продукты взаимодействия *жирных кислот* со спиртами (*простые липиды*), аминокспиртами и другими соединениями (*сложные липиды*), *простагландины* и *изопреноидные липиды* (например, каротиноиды, хлорофилл, витамины Е и К).

**Триацилглицеролы** – простые липиды, представляющие собой эфиры трёхосновного спирта *глицерола* и *трех жирных кислот* (рисунок 55(а)). Они бывают различных типов в зависимости от природы трех остатков жирных кислот, присоединенных к гидроксильным группам глицерина.

Жирные кислоты также являются основой *фосфолипидов*, из которых образуются плазматические мембраны. Жирные кислоты состоят из углеводородной цепи и карбоксильной группы COOH. Они различаются по длине, хотя *преимущественно* в клетках жирные кислоты имеют

четное число атомов углерода, обычно 14, 16, 18 и 20. Основные жирные кислоты фосфолипидов приведены в таблице 2.

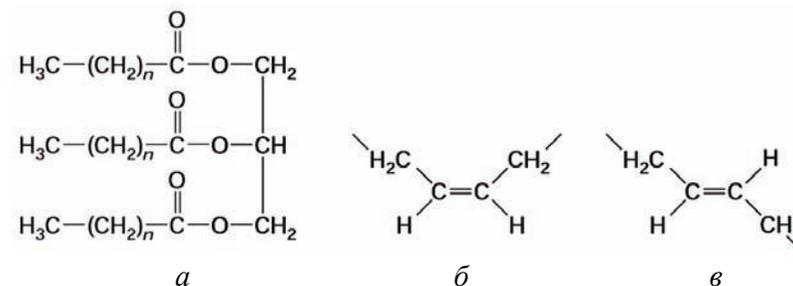


Рисунок 55 – Схема ориентации связей в липидах: а – триацилглицерол; б – цис-, в – транс- стереоизомерные конфигурации относительно двойной С=С связи

Жирные кислоты обычно *обозначают* Сх:у, где х – число атомов углерода в цепи, у – число двойных связей. Жирные кислоты, в которых нет двойных С=С связей, называют *насыщенными*, в случае, если есть хоть одна двойная связь, их называют *ненасыщенными*.

Таблица 2 – Основные жирные кислоты фосфолипидов

Название кислот	Обозначение	Строение (химическая формула)
Насыщенные жирные кислоты		
Миристиновая	C14:0	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>12</sub> COOH
Пальмитиновая	C16:0	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>14</sub> COOH
Стеариновая	C18:0	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>16</sub> COOH
Ненасыщенные жирные кислоты		
Олеиновая	C18:1	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> CH=CH(CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> COOH
Линолевая	C18:2	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> CH=CHCH <sub>2</sub> CH=CH(CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> COOH
Арахидоновая	C20:4	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> (CH=CHCH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH=CH(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> COOH

Жирные кислоты арахидоновая (C20:4), линолевая (C18:2) и линоленовая (C18:3) называют *незаменимыми*, поскольку они не синтезируют-

ся в клетках млекопитающих и должны поступать туда с пищей. Вокруг каждой двойной C=C связи возможны две стереоизомерные конфигурации (рисунок 55(б,в), рисунок 56(б)). Цис-двойная связь обеспечивает жесткий излом (кинк) в, вообще говоря, гибком углеводородном "хвосте" жирной кислоты.

Основная функция триацилглицеролов в живых организмах – это запасание энергии. Для этого они накапливаются в цитозоле клеток запасющих тканей (например, подкожной клетчатки) в виде мелкодисперсной эмульсии масляных капелек и могут занимать почти весь объем запасавшей клетки.

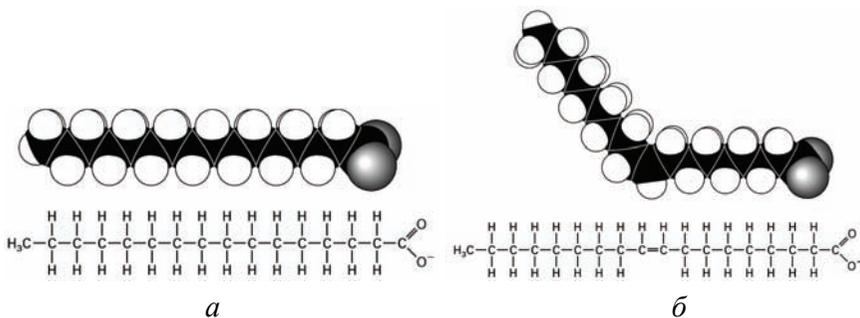


Рисунок 56 – Влияние двойной C=C связи на форму жирной кислоты: а – пальмитат (ионизированная форма пальмитиновой кислоты); б – олеат (ионизированная форма олеиновой кислоты)

В расчете на единицу веса триацилглицеролы запасают вдвое больше энергии, чем углеводы, и, накапливаясь в больших количествах, могут обеспечивать энергетический обмен организма в течение нескольких недель, тогда как в форме гликогена организм может запасти энергию не более чем на сутки.

Однако энергия, запасенная в углеводах, становится доступна для использования организмом быстрее, чем запасенная в форме триацилглицеролов. Поэтому полисахариды (крахмал и гликоген) и жиры (триацилглицеролы) работают как оперативная и долговременная системы запасания энергии соответственно.

Дополнительно триацилглицеролы могут служить для теплоизоляции и как источник воды: при окислении триацилглицеролов образуется вдвое больше воды, чем из углеводов, и это используется пустынными животными.

Толстый подкожный слой жировой клетчатки надежно защищает тюленей, моржей, пингвинов и других полярных теплокровных животных от холода.

**Фосфолипиды** – сложные липиды, похожие на триацилглицеролы наличием жирных кислот, связанных с глицеролом. Однако в фосфолипидах глицерол связан не с тремя, а лишь с двумя цепями жирных кислот, а оставшееся свободное место в молекуле глицерола занимает фосфатная группа, которая в свою очередь соединена с молекулой полярного спирта, различного для разных фосфолипидов. Полярный спирт образует как бы "голову" молекулы фосфолипида, к которой через глицерол присоединены два неполярных "хвоста" (рисунок 57)

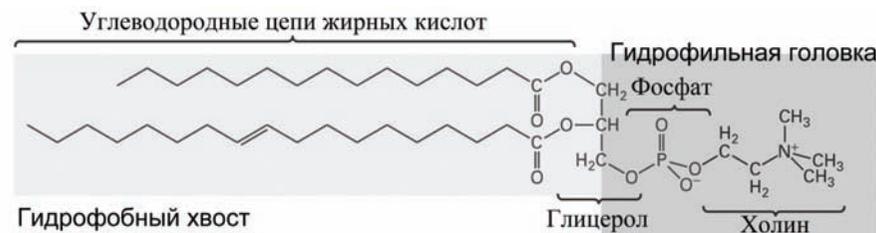


Рисунок 57 – Фосфатидилхолин – типичный фосфолипид

Примечательно, что самые большие пространственные структуры, которые формируются в клетке, образованы не из макромолекул, таких, как белки или нуклеиновые кислоты, а агрегацией липидов в биомембране – обособленную жидкую фазу. Липиды, которые используются клеткой, устроены так, чтобы осуществлялась самопроизвольная агрегация, в результате которой в клетке формируется клеточная инфраструктура.

В молекуле липидов объединены два противоположных химических качества. Они одновременно содержат и полярную или даже заряженную гидрофильную группу атомов, которая стремится раствориться в

воде, и одну или несколько гидрофобных углеводородных цепей, которые выталкиваются из воды (рисунок 57). Такие молекулы называются *амфифильными*.

Двойственная природа липидных молекул приводит к их самоорганизации в мембранные структуры, в которых заряженные (или полярные) головки обращены в сторону воды, а углеводородные хвосты упакованы внутри мембраны (рисунок 58).

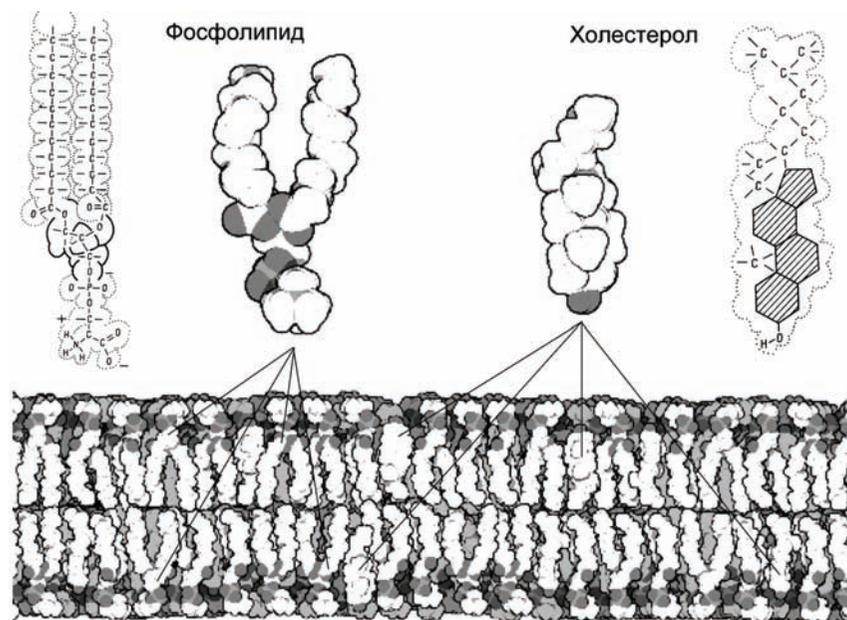


Рисунок 58 – Молекулы фосфолипидов (фосфатидилсерин) и холестерина из которых происходит самосборка биомембраны. Темно-серым цветом обозначены полярные участки молекул

При этом основными межмолекулярными взаимодействиями, обеспечивающими самосборку липидов в биомембрану, являются *неспецифические нековалентные взаимодействия*: ван-дер-ваальсовы, электростатические, водородные и гидрофобные.

Наиболее распространенные типы липидов в природе это *фосфолипиды* и *гликолипиды*. В основе их конструкции лежит молекула глицерола,

имеющая три гидроксильные группы, вместо которых могут быть присоединены три другие группы. Две из них, как правило, это жирные кислоты, присоединенные к глицеролу через карбоксильную группу. Вместо третьей гидроксильной группы к глицеролу присоединяется фосфатная группа или другая полярная (или заряженная) группа. Если жирнокислотные хвосты имеют в своем составе ненасыщенные углерод-углеродные связи, то в таких местах образуются *жесткие кинки* (рисунок 56(б)).

Жирнокислотные хвосты с кинками гораздо хуже упаковываются в упорядоченную структуру, и, поэтому, биомембрана с ненасыщенными углеводородными цепями в липидах имеет более низкую температуру фазового перехода из физиологического жидкокристаллического в замороженное гель-состояние, чем у биомембраны с насыщенными С–С связями в липидах.

*Холестерол* и другие стеролы устроены иначе. Они состоят из нескольких жестко связанных гидрофобных углеводородных колец протяженностью такой же, как и углеводородные хвосты фосфолипидов. Гидроксил на одном из концов обеспечивает гидрофильность, ориентируя холестерол в мембране. Холестерол добавляется к мембранам в разных пропорциях для того, чтобы модифицировать свойства биомембран. Поскольку молекула холестерола является жесткой, то добавление холестерола ингибирует (затрудняет) движение соседних липидов, увеличивая тем самым вязкость мембраны и делая её менее проницаемой для малых молекул.

Липиды используются клетками для формирования мембранных структур клетки.

**Биомембраны** непроницаемы для ионов и больших молекул, начиная с сахаров и полипептидов, но легко проницаемы для молекул воды, кислорода, азота. Примечательно, что молекулы, содержащие много атомов углерода, достаточно легко проникают через мембраны. Именно поэтому алкоголь легко распространяется по организму, пересекая все барьеры.

При взбалтывании в воде или водных растворах молекулы липидов спонтанно формируют *мицеллы*, в которых углеводородные неполярные

"хвосты" липидов спрятаны от воды, а полярные "головы" располагаются на поверхности частицы, взаимодействуя с водным окружением (рисунок 59(а)).

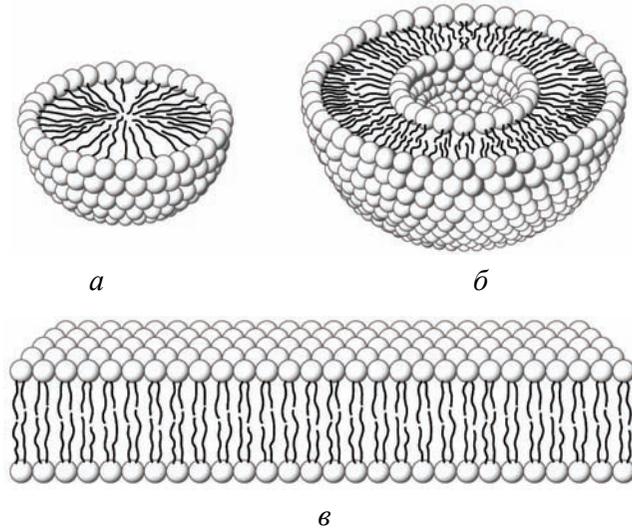


Рисунок 59 – Поперечное сечение трех структур, формируемых липидами в водных растворах: *а* – мицелла; *б* – липосома; *в* – плоская липидная мембрана

На поверхности *раздела двух водных фаз* липиды самопроизвольно формируют *бислои*.

В бислоях углеводородные "хвосты" направлены внутрь от водной фазы и образуют *непрерывный гидрофобный углеводородный слой*, а располагающиеся снаружи гидрофильные "головы" погружены в водный раствор (рисунок 59(в)).

При сильном встряхивании бислоев из них формируются *липосомы* – замкнутые пузырьки, окруженные непрерывным липидным бислоем (рисунок 59(б)).

Плотная упаковка молекул липидов в биомембранах обеспечивается *сочетанием* гидрофобных сил со стороны водного окружения и ван-дер-ваальсовых взаимодействий между молекулами липидов. Липидный бислой является основным структурным компонентом всех биомембран.

Хотя в мембранах присутствуют и другие молекулы: холестерин, гликолипиды, белки, – именно гидрофобный углеводный слой, формируемый липидными молекулами, обеспечивает *главную*, барьерную, функцию биомембран, которая, в свою очередь, обеспечивает компартментацию клеточных субструктур.

#### ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

1. Запишите общую формулу углеводов.
2. В чем сходство и различие рибозы и дезоксирибозы?
3. В чем сходство и различие  $\alpha$ - и  $\beta$ -гликозидной связей?
4. В чем сходство и различие гликогена и целлюлозы?
5. В чем сходство и различие гликогена и крахмала?
6. Что такое гликопротеины и чем они отличаются от протеогликанов?
7. В чем сходство и различие гликогена и триацилглицеролов?
8. Перечислите основные жирные кислоты фосфолипидов?
9. В чем сходство и различие фосфолипидов и триацилглицеролов?
10. Какие межмолекулярные взаимодействия обеспечивают формирование биомембран?

#### 5. НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ И БЕЛКИ

Вся информация о строении и функционировании любого живого организма содержится в закодированном виде в его генетическом материале, основу которого составляет *дезоксирибонуклеиновая кислота* (ДНК). ДНК большинства организмов – это длинная двухцепочечная полимерная молекула. Индивидуальными генетическими элементами со строго специфичной нуклеотидной последовательностью, кодирующими определенные продукты, являются *гены*. Одни из них кодируют белки, другие – только молекулы РНК.

Информация, содержащаяся в генах, которые кодируют белки (структурных генах), расшифровывается в ходе двух последовательных процессов: синтеза РНК (*транскрипции*) и синтеза белка (*трансляции*). Сначала на определенном участке ДНК как на матрице синтезируется

матричная РНК (мРНК). Затем в ходе согласованной работы многокомпонентной системы при участии транспортных РНК (тРНК), мРНК, ферментов и различных белковых факторов осуществляется синтез белковой молекулы. Все эти процессы обеспечивают правильный перевод зашифрованной в ДНК генетической информации с языка нуклеотидов на язык аминокислот.

Нуклеиновые кислоты (и ДНК, и РНК) являются *нерегулярными полимерами*, мономеры которых называются *нуклеотидами*.

### 5.1. Нуклеотиды

В нуклеиновых кислотах встречаются, в основном, пять *нуклеиновых (азотистых) оснований*, три пиримидиновых – урацил, тимин и цитозин и два пуриновых – аденин и гуанин (рисунок 60).

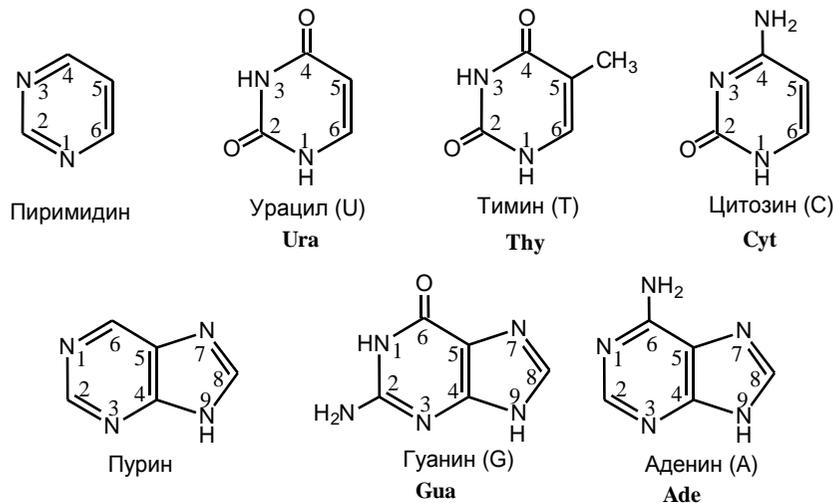


Рисунок 60 – Структура нуклеиновых оснований

*Нуклеозиды* представляют собой гликозиды, в которых либо D-рибофураноза (в рибонуклеозидах), либо дезокси-D-рибофураноза (в дезоксирибонуклеозидах) связана гликозидной связью с атомом N1 пиримидиновых или атомом N9 пуриновых оснований (рисунок 61).

Рибонуклеозиды входят в состав *рибонуклеиновых кислот* (РНК), а дезоксирибонуклеозиды – в состав *дезоксирибонуклеиновых кислот* (ДНК).

*Нуклеотиды* являются фосфорными эфирами нуклеозидов. Фосфорная кислота присоединена к одному из гидроксильных групп рибозного (или дезоксирибозного) остатка.

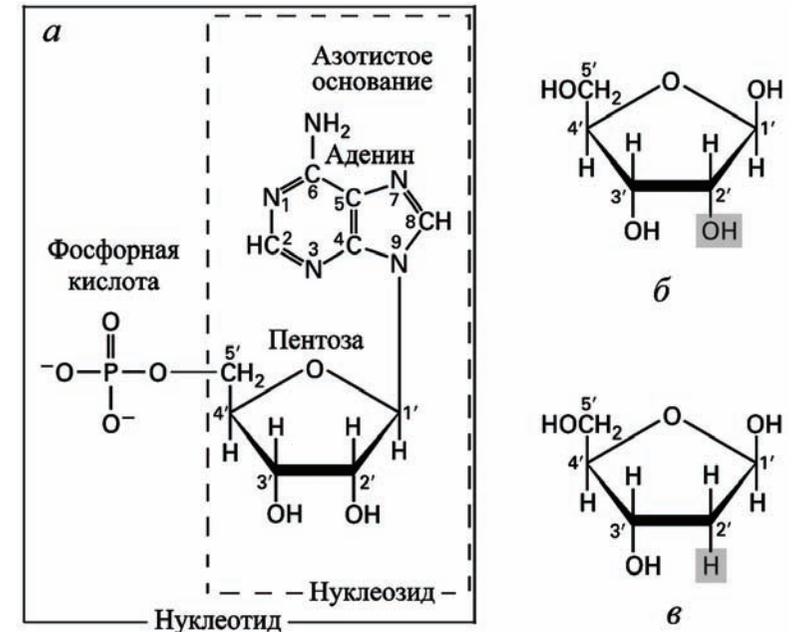


Рисунок 61 – Структура нуклеотида: а – аденозин-5'-монофосфат (АМФ), б – рибоза, в – дезоксирибоза

В зависимости от места присоединения различают 2'-, 3'- и 5'-нуклеотиды. Символ «'» (произносится как "штрих" или "прим") показывает, что соответствующий номер нумерует атомы пентозного кольца; атомы азотистого основания нумеруются без штрихов.

*Мононуклеотиды* представляют собой эфиры ортофосфорной кислоты и, следовательно, содержат один атом фосфора на молекулу.

Нуклеотид = нуклеозид + фосфорная кислота =  
 = азотистое основание + пентоза +  
 + фосфорная кислота,

где пентоза в РНК – рибоза, а в ДНК – дезоксирибоза.

В природе широко распространены *моно-* и *диэфир*ы пирофосфорной (дифосфорной) и трифосфорной кислот (рисунок 62).

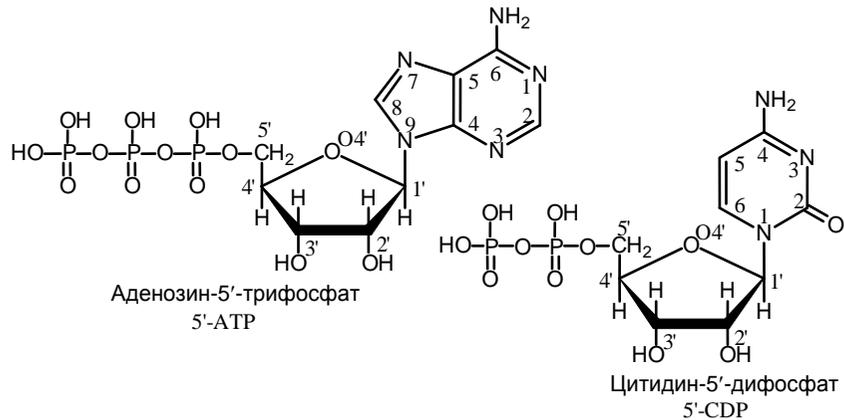


Рисунок 62 – Строение ди- и трифосфатов

На рисунке 63 показана схема другой важной молекулы, которая образуется из аденозина. Здесь аденозин и никотинамид нуклеотид соединены через фосфатную группу. В результате получилась молекула никотинамид аденин динуклеотид (НАД, *nicotinamide adenine dinucleotide*,  $\text{NAD}^+$ ), которая играет ключевую роль в биоэнергетических процессах.

Молекулы с несколькими гидроксильными группами могут присоединять несколько фосфатных групп (фосфорилироваться). На рисунке 63 представлена молекула инозитол трифосфат ( $\text{IP}_3$ ), которая является одним из внутриклеточных месенджеров в процессах клеточной сигнализации.

Обе молекулы – и АТФ (рисунок 62), и  $\text{IP}_3$  (рисунок 63) – содержат три фосфатных группы, однако для того, чтобы подчеркнуть, что в АТФ

эти три фосфатные группы образуют цепочку, а в молекуле  $\text{IP}_3$  они присоединены к разным углеродам, используют разные приставки: приставку *три* в случае аденозин трифосфата, но приставку *трис* в случае инозитол трифосфата.

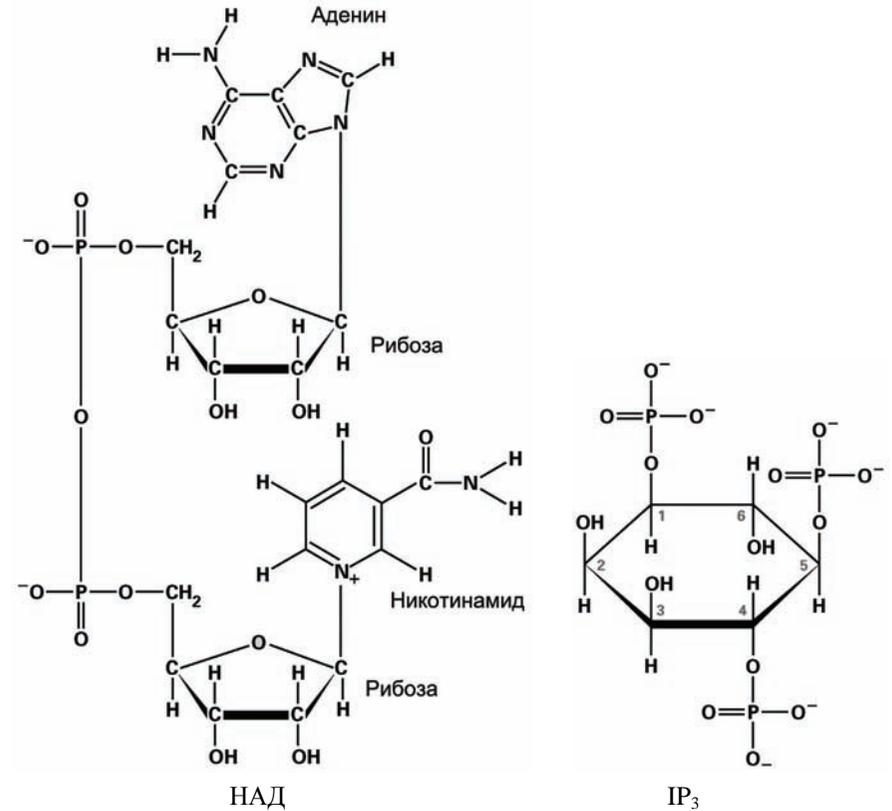


Рисунок 63 – Схемы молекул никотинамид аденин динуклеотида (НАД) и инозитол трифосфата ( $\text{IP}_3$ )

Совершенно аналогично молекула имеющая цепочку из двух фосфатов, называется *дифосфат*, а молекула, имеющая две фосфатные группы, присоединённые к разным атомам углерода, называется *бисфосфат*.

## 5.2. Нуклеиновые кислоты

Нуклеотиды *соединяются друг с другом* в полимерную цепочку с помощью *фосфодиэфирных* связей (рисунок 64). Азотистые основания не принимают участия в соединении нуклеотидов одной цепи.

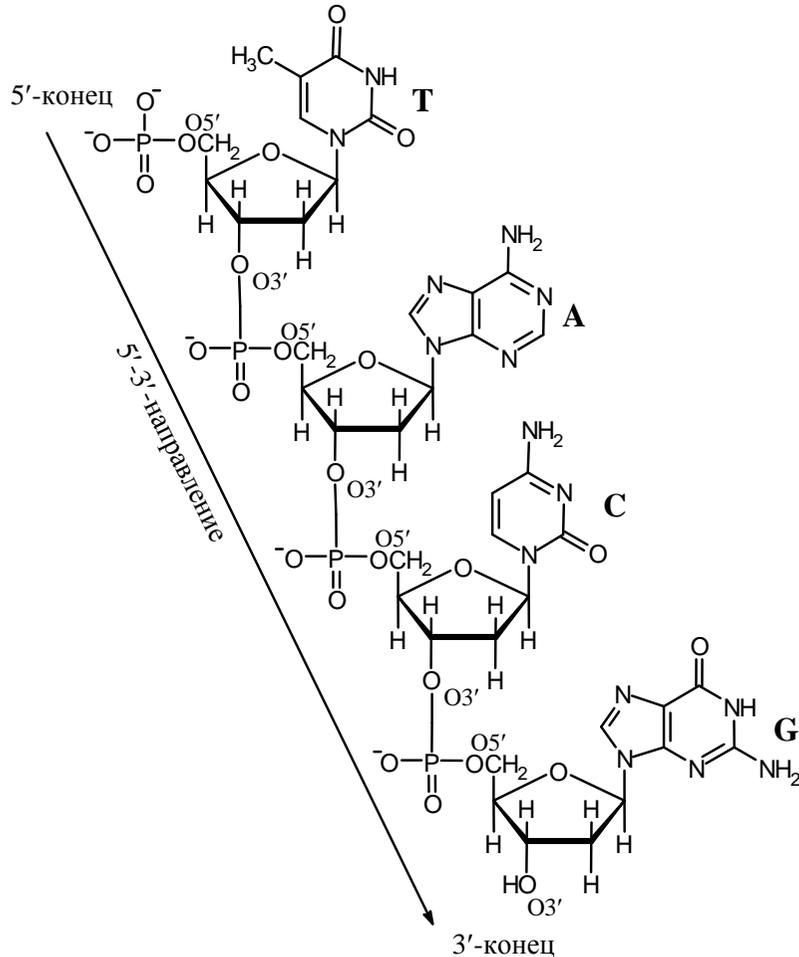


Рисунок 64 – Строение тетрадезоксинуклеотида 5'-d(TACG)

В *природных полинуклеотидах*, будь то дезоксирибополимеры или рибополимеры, остаток фосфорной кислоты *всегда* связывает 3'- и 5'-гидроксигруппы соседних нуклеозидов (3'→5'-связь). Таким образом, полинуклеотидные цепи имеют *определенную направленность*, и каждая полинуклеотидная цепь имеет 5'- и 3'-концы.

Ковалентный сахарофосфатный остов нуклеиновой кислоты состоит из монотонно чередующихся фосфатных и пентозных групп. Нуклеиновые основания можно рассматривать как боковые радикалы, присоединенные к остову на равных расстояниях.

Отметим, что сахарофосфатный остов нуклеиновой кислоты несет *отрицательный* заряд, поскольку фосфатные остатки ионизованы при физиологических значениях pH (~7).

*Комплементарные* друг другу одноцепочечные молекулы нуклеиновой кислоты способны образовывать *двухцепочечную* спиральную структуру. Внутри этой спирали *аденин* образует пару с *тимин*ом, а *гуанин* – с *цитозином*. Аденин соединяется с тимином двумя водородными связями (A=T), а гуанин соединяется с цитозином тройной водородной связью (G≡C) (рисунок 65).

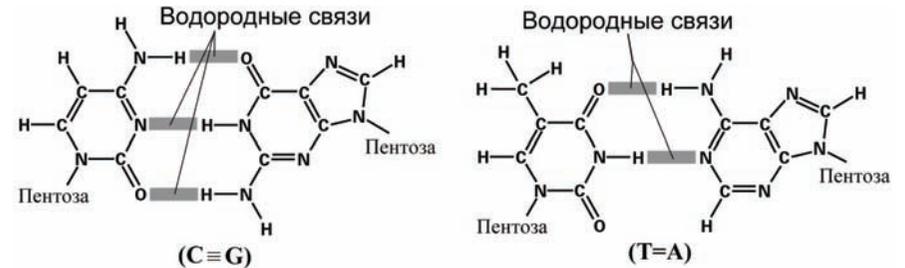


Рисунок 65 – Схема связывания уотсон-криковских пар водородными связями

Цепи молекулы ДНК антипараллельны: одна из них имеет направление 3'→5', другая 5'→3'. В соответствии с принципом комплементарности, если в одной из цепей имеется нуклеотидная последовательность 5'-TAGGCAT-3', то в комплементарной цепи в этом месте должна

находиться последовательность 3'-ATCCGTA-5'. В этом случае двухцепочечная форма будет выглядеть следующим образом:



В такой записи 5'-конец верхней цепи всегда располагают слева, а 3'-конец – справа.

Структуру двойной спирали открыли в 1954 году Джеймс Уотсон и Фрэнсис Крик. Наиболее известна наглядная модель двойной спирали ДНК в виде винтовой лестницы, в которой поперечные "ступеньки" – это комплементарные пары оснований, а "боковины" – сахарофосфатный остов (рисунок 66).

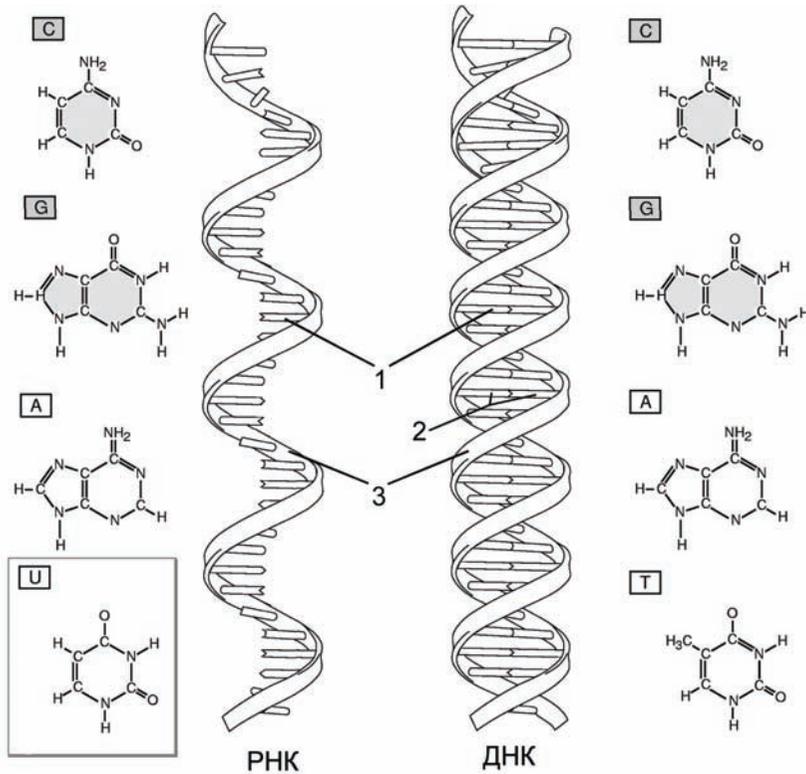


Рисунок 66 – Схемы нуклеиновых оснований и образования РНК и ДНК. 1 – нуклеиновые основания; 2 – уотсон-криковские пары; 3 – сахарофосфатный остов

В состав ДНК входит аденин, тимин, цитозин и гуанин, в РНК *вместо тимина* входит урацил.

Пространственная структура нуклеиновой кислоты определяется взаимодействиями оснований каждого нуклеотида. Поскольку нуклеиновые основания имеют ароматическую структуру, то они располагаются стопкой одно над другим в водном растворе. Такой процесс формирования стопок из плоских циклических органических молекул называется *стекинг* (рисунок 67(1)). Кроме того, нуклеиновые основания спариваются друг с другом с помощью водородных связей (рисунок 67(2)).

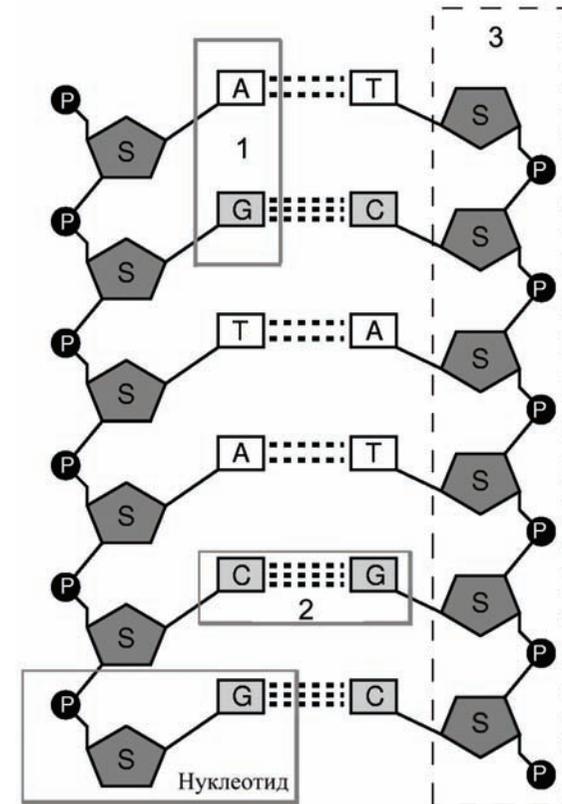


Рисунок 67 – Схема межатомных связей в ДНК: 1 – стекинг; 2 – водородные связи; 3 – сахарофосфатный остов

Такая комбинация *двух* типов взаимодействий: *нормальных* взаимодействий, формирующих стопки оснований (стекинг) и перпендикулярных им *латеральных* взаимодействий между нуклеиновыми основаниями посредством водородных связей формируют известную структуру двойных спиралей ДНК и определенных участков РНК.

ДНК – это большой архив, в котором хранится информация, а РНК – это молекулы, которые переносят информацию из ядра в цитоплазму и обеспечивают синтез белков.

С различием в функциях связаны *различия в строении* ДНК и РНК, которые суммированы в таблице 3.

Таблица 3 – Отличия между ДНК и РНК

	ДНК	РНК
Сахар	Дезоксирибоза	Рибоза
Азотистые основания	А, Т, Г, Ц	А, У, Г, Ц
Количество цепей в молекуле	99.99% двойная спираль 0.01% одноцепочечная.	99.99% одноцепочечная 0.01% двухцепочечная
Форма молекулы	Все одноцепочечные – кольцевые. Большинство двухцепочечных – линейные, часть – кольцевые.	Линейные молекулы

РНК более химически активна из-за того, что её сахар – рибоза – имеет в своем составе гидроксильную группу, а в дезоксирибозе кислорода нет. Из-за отсутствия кислорода ДНК более инертна, что важно для её функции хранения информации, чтобы она не вступала ни в какие реакции. *Виды РНК* перечислены в таблице 4.

Итак, перечислим основные *принципы* строения ДНК.

1. *Нерегулярность*. Существует регулярный сахарофосфатный остов, к которому присоединены азотистые основания. Их чередование нерегулярно.

2. *Антипараллельность*. ДНК состоит из двух полинуклеотидных цепей, ориентированных антипараллельно. 3'-конец одной расположен напротив 5'-конца другой.

3. *Комплементарность* (дополнительность). Каждому азотистому основанию одной цепи соответствует строго определенное азотистое основание другой цепи.

4. *Наличие регулярной вторичной структуры*. Две комплементарные, антипараллельно расположенные полинуклеотидные цепи образуют *правые спирали* с общей осью.

Таблица 4 – Виды РНК

Виды РНК	Размер в нуклеотидах
гРНК – геномные РНК (gRNA)	
мРНК – информационные (матричные) РНК (mRNA)	100–100000
тРНК – транспортные РНК (tRNA)	10000–100000
рРНК – рибосомные РНК (rRNA)	несколько дискретных классов от 100 до 500000
сРНК – малые РНК (sRNA)	100–300

Существуют *несколько форм* двойной спирали ДНК.

*В-форма* является основной, в неё на виток приходится 10 комплементарных пар. Плоскости азотистых оснований перпендикулярны оси спирали. Соседние комплементарные пары повернуты друг относительно друга на 36°. Диаметр спирали составляет 20 Å, причем пуриновый нуклеотид занимает 12 Å, а пиримидиновый – 8 Å.

*А-форма* состоит из 11 пар азотистых оснований на виток. Плоскости азотистых оснований отклонены от нормали к оси спирали на 20°. Отсюда следует наличие внутренней пустоты диаметром 5 Å. Высота витка равна 28 Å. Такие же параметры у гибрида из одной цепи ДНК и одной цепи РНК.

*С-форма* имеет шаг спирали 31 Å, 9,3 пар оснований на виток, угол наклона к перпендикуляру 6°.

Все три формы – А, В, и С – *правозакрученные* спирали.

Есть ещё несколько форм правых спиралей и *всего одна левая спираль (Z-форма)*. Высота витка в Z-форме – 44,5 Å, на виток приходится 12 пар нуклеотидов.

Ни А-, ни Z- формы не могут существовать в водном растворе без дополнительных воздействий (стабилизация белками или суперспирализация ДНК).

Перечислим основные *функции* ДНК.

1. ДНК является *носителем* генетической информации, что обеспечивается фактом существования генетического кода.
2. *Воспроизведение и передача* генетической информации в поколениях клеток и организмов. Эта функция обеспечивается процессом репликации.
3. *Реализация* генетической информации в виде белков, а также любых других соединений, образующихся с помощью белков-ферментов. Эта функция обеспечивается процессами транскрипции и трансляции.

### 5.3. Упаковка ДНК эукариот

ДНК эукариот плотно упакованы в *метафазные хромосомы*, что позволяет уменьшить линейные размеры ДНК в 10 000 раз – с 5 см до 5 мкм. Это всё равно, что нить, длиной с Останкинскую телебашню (500 м), уложить в спичечный коробок (5 см).

Выделяют несколько уровней компактизации (рисунок 68).

- а) двойная спираль ДНК,
- б) нуклеосомный уровень – хроматин в форме "бусин на нити" – нуклеосом,
- в) соленоидный уровень – хроматиновая фибрилла, состоящая из упакованных нуклеосом, свернута в спираль,
- г) петлевой уровень – петли, в которые свернуты хроматиновые фибриллы,
- д) доменный уровень,
- е) целая метафазная хромосома.

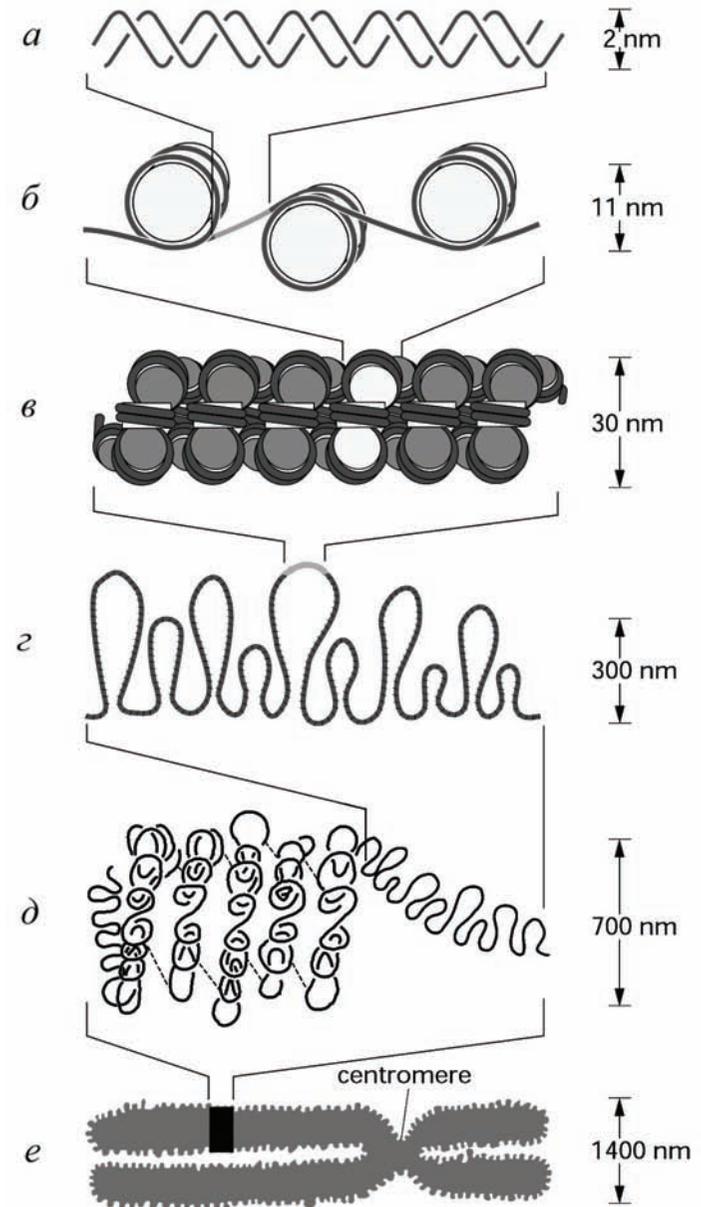


Рисунок 68 – Уровни упаковки ДНК в хромосому

Нуклеосомный уровень компактизации обеспечивается специальными белками – *гистонами*. Восемь положительно заряженных гистоновых доменов образуют *кор* (сердцевину) *нуклеосомы*, на которую наматывается отрицательно заряженная молекула ДНК (рисунок 68(б)). Это дает укорочение в 7 раз, при этом диаметр увеличивается с 2 до 11 нм.

*Соленоидный уровень* – нуклеосомы формируют *соленоид* или *супербид* хроматической фибриллы (рисунок 68(в)). Линейный размер сокращается в 6–10 раз, диаметр увеличивается до 30 нм.

*Петлевой уровень* обеспечивается специфическими негистоновыми сайт-специфическими *ДНК-связывающими белками*, которые распознают определенные последовательности ДНК и связываются с ними, образуя петли по 20-90 тысяч пар нуклеотидов (рисунок 68(г)). *Петля обеспечивает экспрессию генов*, т.е. петля является не только структурным, но и функциональным образованием. Укорочение на этом уровне происходит в 20-30 раз. Диаметр увеличивается до 300 нм.

*Образование петлевых доменов* (рисунок 68(д)) увеличивает диаметр до 700 нм, образуя хроматин – аморфный беспорядочно распределенный по клеточному ядру материал – выглядит как очень тонкие волокна, которые содержат 60% белка, 35% ДНК и 5% РНК, и которые практически не видны во всех фазах клеточного цикла за исключением митоза.

Во время деления клетки хроматин спирализуется, *конденсируется* и приобретает четкие формы, образуя строго определенной, свойственное данному виду число *хромосом* (рисунок 68(е)).

Каждая *митотическая* (т.е. наблюдаемая во время митоза) (или *метафазная*) *хромосома* состоит из двух *хроматид*, соединенных между собой с помощью специального образования – *центромеры*, или *кинетохора*. При столь плотной упаковке *невозможны транскрипция и репликация ДНК*, поэтому после деления клетки происходит *деконденсация* хромосом.

Метафазная хромосома представляет собой последний уровень компактизации ДНК.

## 5.4. Белки. Классификация аминокислот

*Белки* – это нерегулярные полимеры, мономерами которых являются  $\alpha$ -L-аминокислоты.

**5.4.1. Структура аминокислот.** Каждая аминокислота имеет *аминогруппу*, связанную с атомом углерода, с этим же атомом связана *карбок-ильная группа, водород* и *аминокислотный остаток*. Такая конфигурация присутствует во всех аминокислотах. Аминогруппа может быть присоединена к первому за карбок-ильной группой атому углерода или ко второму атому и т. д. (рисунок 69).

Атомы нумеруются греческими буквами, и в зависимости от того, к какому по порядку атому присоединена аминокислота, её называют альфа-аминокислота или бета-аминокислота и т. д. *В состав белков входят только альфа-аминокислоты.*

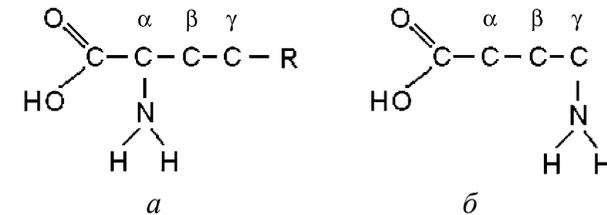


Рисунок 69 – Структура аминокислот: *а* –  $\alpha$ -аминокислота, *б* –  $\gamma$ -аминокислота

*Карбок-ильная группа* имеет *кислотный* характер, она диссоциирует на ионы в водном растворе с образованием протона и отрицательно заряженной группы  $\text{COO}^-$ , а *аминогруппа* ( $\text{NH}_2$ ) имеет *основной* характер, она способна присоединять протон водорода, становясь положительно заряженной. В молекуле аминокислоты протон от карбок-ильной группы может переноситься на аминогруппу – такие образования называются *цвиттер-ионы (дипольные ионы)*. В водном растворе аминокислоты находятся в виде цвиттер-ионов (рисунок 70).

Существенно, что молекулы аминокислот могут отличаться своей *пространственной конфигурацией*. Это явление называется *стереоизо-*

мерией. Такие молекулы называются D-изомерами и L-изомерами (правовращающими и левовращающими, соответственно) (рисунок 71).

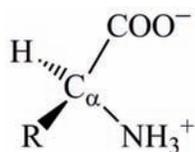


Рисунок 70 – Схема цвиттериона аминокислоты

D- и L-изомеры являются зеркальным отображением друг друга, и иначе, чем через четвертое измерение они один в другой перейти не могут. На схематических рисунках (например, на рисунке 70) тот атом, который находится ближе, перед плоскостью рисунка, принято изображать треугольной стрелкой, тот, что дальше, за плоскостью – пунктиром.

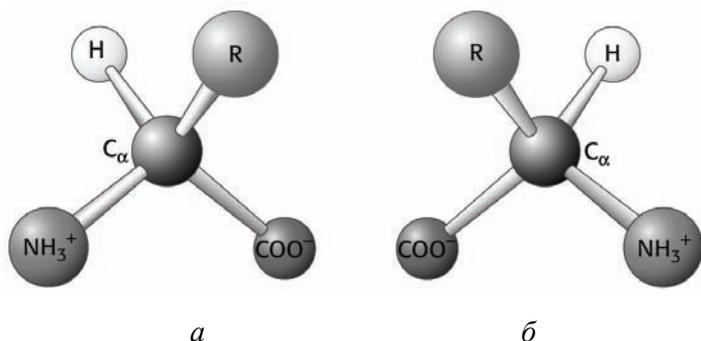


Рисунок 71 – Изомеры аминокислот: а – L-изомер, б – D-изомер

В живом организме все аминокислоты – L-изомеры, точнее 19 хиральных асимметричных L-аминокислот, а двадцатая аминокислота – глицин – не имеет хиральности. D-изомеры встречаются довольно редко и имеют определенные функции, например, могут входить в состав антибиотиков.

Всего живая клетка использует 20 стандартных аминокислот (точнее, 19 аминокислот и одна иминокислота – пролин).

Обозначения протеиногенных аминокислот приведены в таблице 5, а схемы их аминокислотных остатков изображены на рисунке 72.

Таблица 5 – Названия и обозначения аминокислот

№	Аминокислоты	Амінокислоти	Обозначения			Amino acids
			<i>cyr</i>	<i>symp</i>	<i>lat</i>	
1	Аланин	Аланін	Ала	A	Ala	Alanine
2	Аргинин	Аргінін	Арг	R	Arg	Arginine
3	Аспарагин	Аспарагін	Асп	N	Asn	Asparagine
4	Аспарагиновая кислота	Аспарагінова кислота	Асп	D	Asp	Aspartate
5	Валин	Валін	Вал	V	Val	Valine
6	Гистидин	Гістидин	Гис	H	His	Histidine
7	Глицин	Гліцин	Гли	G	Gly	Glycine
8	Глутамин	Глутамін	Глн	Q	Gln	Glutamine
9	Глутаминовая кислота	Глутамінова кислота	Глу	E	Glu	Glutamate
10	Изолейцин	Ізолейцин	Иле	I	Ile	Isoleucine
11	Лейцин	Лейцин	Лей	L	Leu	Leucine
12	Лизин	Лізін	Лиз	K	Lys	Lysine
13	Метионин	Метионін	Мет	M	Met	Methionine
14	Пролин	Пролін	Про	P	Pro	Proline
15	Серин	Серин	Сер	S	Ser	Serine
16	Тирозин	Тирозин	Тир	Y	Tyr	Tyrosine
17	Треонин	Треонін	Тре	T	Thr	Threonine
18	Триптофан	Триптофан	Трп	W	Trp	Tryptophan
19	Фенилаланин	Фенілаланін	Фен	F	Phe	Phenylalanine
20	Цистеин	Цистеїн	Цис	C	Cys	Cysteine

В состав аминокислот входят центральный атом  $\alpha$ -углерода ( $C^\alpha$  или  $C_\alpha$ ), и три боковые группы: аминогруппа, карбоксильная кислотная группа, и боковая группа аминокислотного остатка. В белковой цепи аминокислота каждой аминокислоты соединена пептидной связью с карбоксилем последующей аминокислоты.

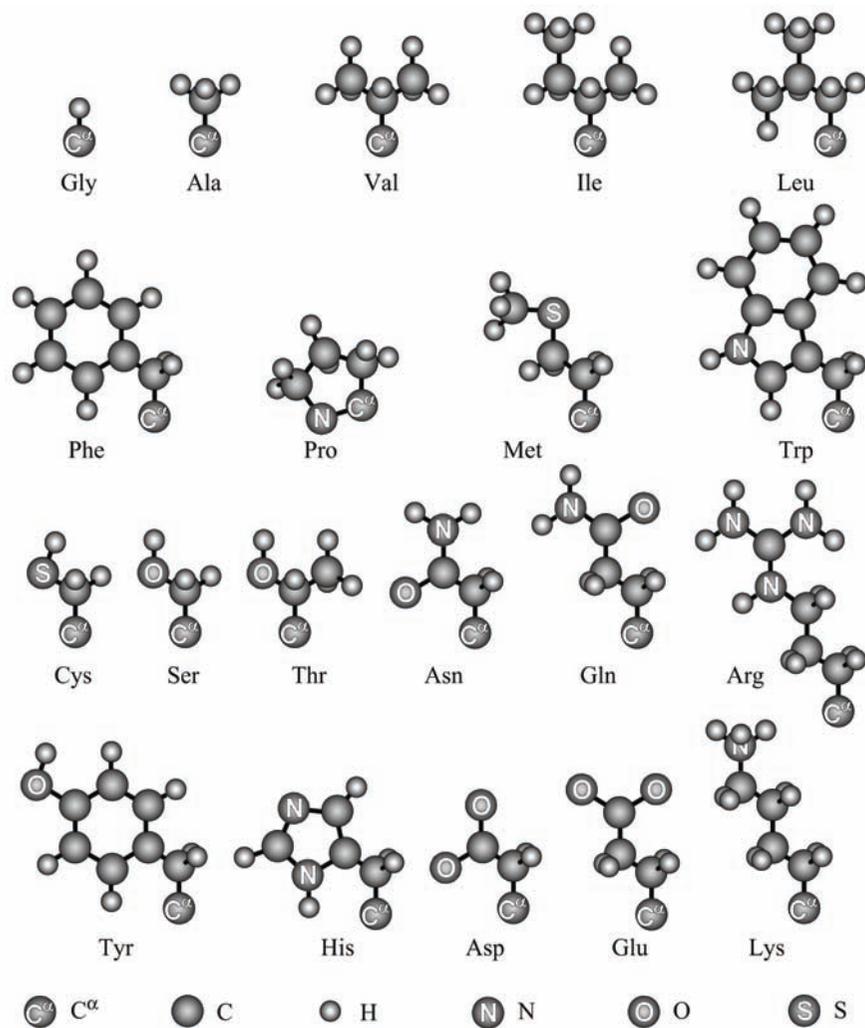


Рисунок 72 – Боковые цепи стандартных аминокислотных остатков

Двадцать *стандартных* аминокислот, которые используются в биосинтезе белка (из-за чего их и называют *протеиногенными* аминокислотами), отличаются как *химически*, так и *структурно*. Комбинируя эти

аминокислоты можно добиться как желаемой формы белковой глобулы, так и того, чтобы данная глобула была устойчивым образованием.

Кроме того, необходимые для реализации той или иной биохимической реакции боковые группы могут быть размещены в необходимых местах белковой цепи.

Аминокислоты принято классифицировать следующим образом:

- *неполярные* (глицин, пролин, аланин, валин, лейцин, изолейцин),
- *ароматические* (фенилаланин, тирозин, триптофан),
- *полярные незаряженные* (серин, треонин, цистеин, метионин, аспарагин, глутамин),
- *заряженные* (отрицательно заряженные: аспарагиновая кислота и глутаминовая кислота; положительно заряженные: лизин и аргинин).
- *гистидин* в силу своей специфичности может быть отнесен как к полярным незаряженным, так и к положительно заряженным аминокислотам.

**5.4.2. Специальные аминокислоты.** Четыре аминокислоты: глицин, пролин, цистеин и метионин – часто называют специальными, поскольку их наличие в белковой цепи связано с выполнением ими специфических функций.

Аминокислоты *глицин* (Gly, рисунок 73) и *пролин* (Pro, рисунок 74) выполняют специфические структурные функции при "строительстве" белковой глобулы.

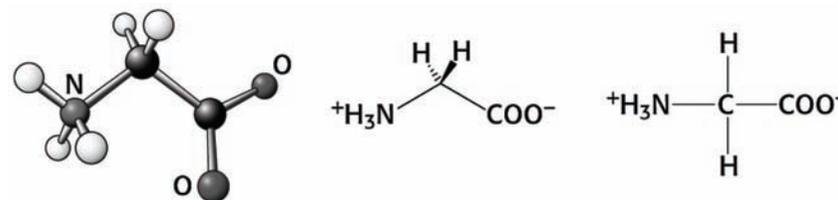


Рисунок 73 – Схема аминокислоты глицин (Gly)

Глицин это самая маленькая аминокислота, не имеющая бокового радикала. Вследствие этого полипептидная цепь в том месте, где расположен глицин, более лабильна (подвижна).

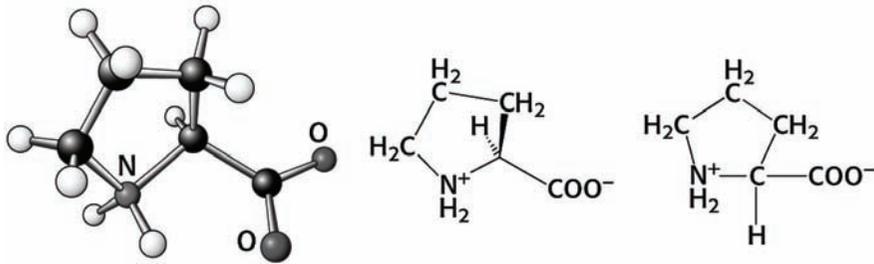


Рисунок 74 – Схема аминокислоты пролин (Pro)

Глицин используется в тех местах белковой цепи, которые для достижения наиболее плотной конформации должны быть максимально изогнуты, и там, где другие аминокислоты просто не поместились бы вследствие плотной упаковки окружающих атомов, как это имеет место, например, в случае плотного тройного спирального жгута *коллагена*, изображенного на рисунке 75.

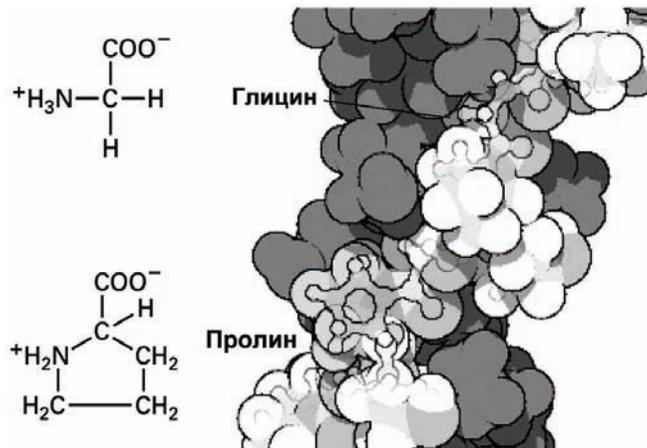


Рисунок 75 – Структурные особенности глицина и пролина

Пролин является единственной циклической аминокислотой (точнее, пролин – это иминокислота), у которой радикал присоединен к полипептидной цепи *двумя* ковалентными связями ( $\text{CH}_2-\alpha\text{C}$  и  $\text{CH}_2-\text{N}$ ). Пролин формирует жесткий изгиб (кинк) в белковой цепи. В коллагене такие кинки обеспечивают формирование тугой тройной белковой спирали.

Аминокислоты *цистеин* и *метионин* содержат атомы серы (рисунки 76, 77, 79).

*Цистеин* (Cys) является наиболее реакционно-способной аминокислотой, он содержит *тиольную* (SH) группу.

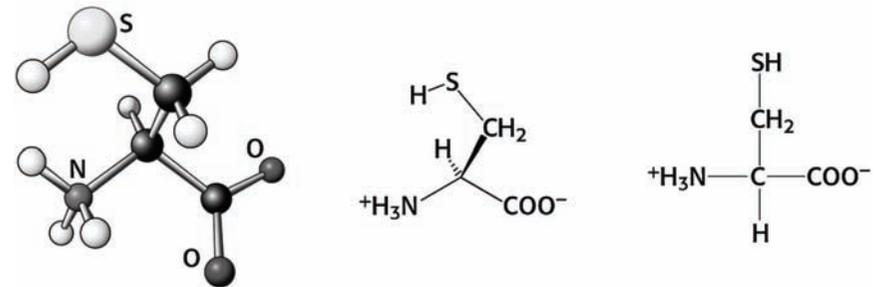


Рисунок 76 – Схема аминокислоты цистеин (Cys)

Два цистеина из разных участков белковой цепи способны образовывать ковалентно связанный дисульфидный мостик.

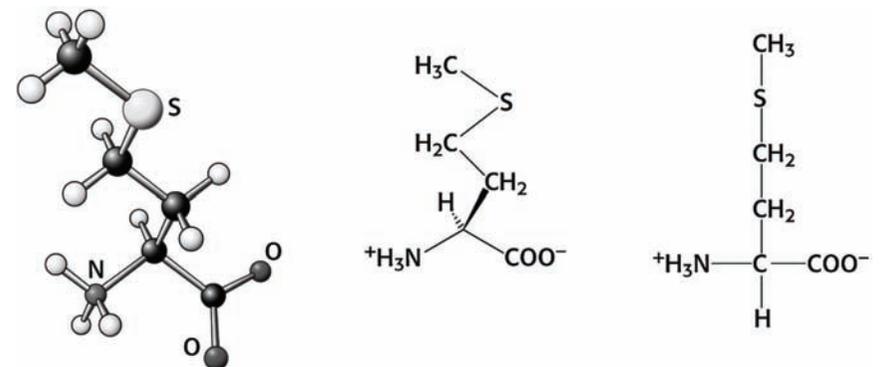


Рисунок 77 – Схема аминокислоты метионин (Met)

Цистеин также (как и серин) используется в формировании каталитических *активных центров* ферментов. Цистеин эффективно взаимодействует с ионами металлов и используется при формировании металлосвязывающих центров.

*Метионин* (Met) имеет гидрофобный атом серы. Именно с метионином (точнее с формилметионином (рисунок 78(a))) начинается синтез любой белковой цепи.

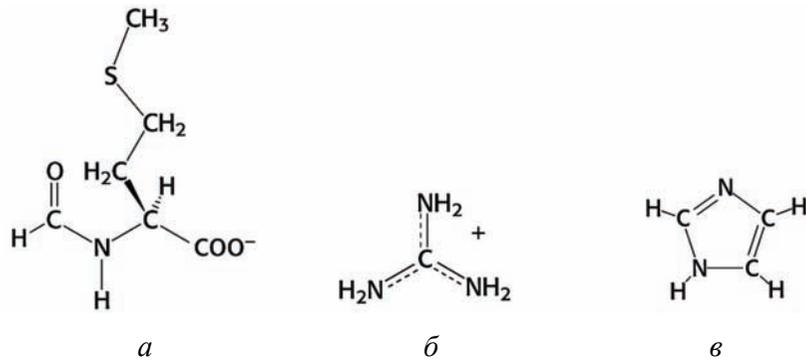


Рисунок 78 – Структурные схемы: *a* – формилметионин, *б* – гуанидин, *в* – имидазол

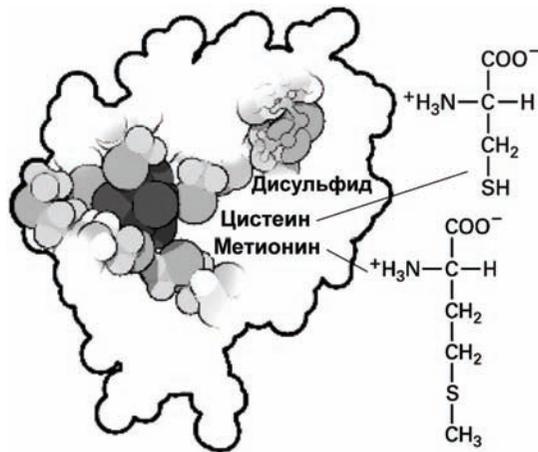


Рисунок 79 – Структурные особенности цистеина и метионина

Метионин часто используется подобно гидрофобным алифатическим аминокислотам для обеспечения фолдинга белка. Атом серы является нуклеофильным и может взаимодействовать с некоторыми типами ионов металла.

Эти свойства цистеина и метионина используются в малом электрон-несущем белке *ферредоксин* (рисунок 79). Дисульфидная связь показана в правом верхнем углу ферредоксина, *четыре цистеина* удерживают кластер, состоящий из атома железа и четырех атомов серы (кластер показан темно-серым цветом в центре ферредоксина). *Два метионина* окружают кластер, стабилизируя его внутри белка.

**5.4.3. Неполарные и ароматические аминокислоты.** Аминокислоты *аланин* (Ala), *валин* (Val), *лейцин* (Leu) и *изолейцин* (Ile) (рисунки 80 – 83) являются *неполярными алифатическими* аминокислотами, боковые цепи которых насыщены углеводородными группами и различаются формой и размером.

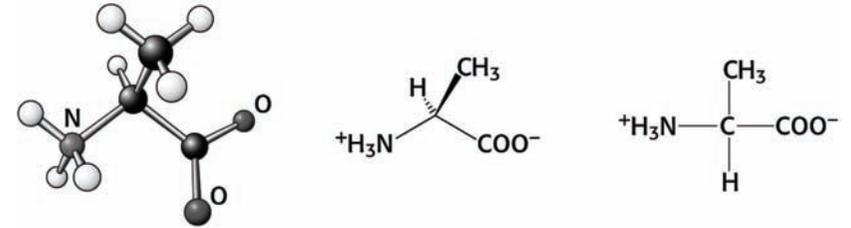


Рисунок 80 – Схема аминокислоты аланин (Ala)

Аминокислоты аланин, валин, лейцин и изолейцин обеспечивают относительную жесткость, негибкость, полипептидной цепи и являются *сильно гидрофобными*.

Зачастую именно наличие этих гидрофобных аминокислот обеспечивает фолдинг белковой цепи.

На рисунке 84 изображено положение этих аминокислот внутри глобулы *инсулина*, образуя плотно упакованный кластер внутри белка.

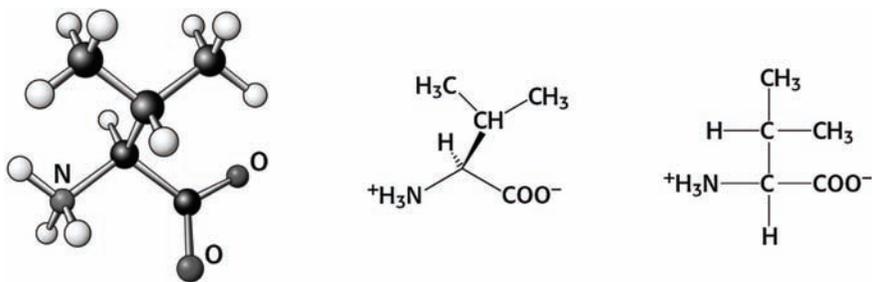


Рисунок 81 – Схема аминокислоты валин (Val)

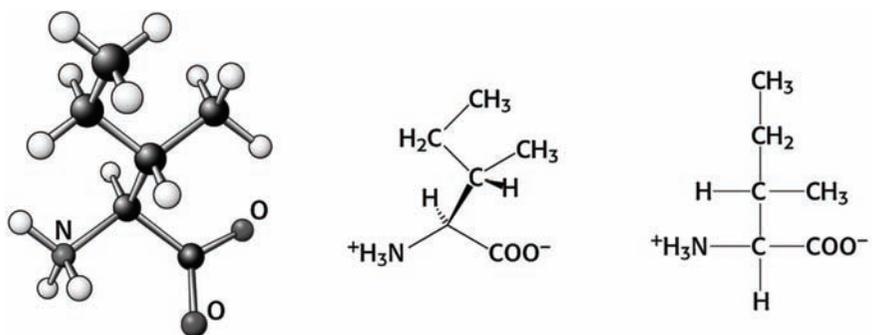


Рисунок 82 – Схема аминокислоты изолейцин (Ile)

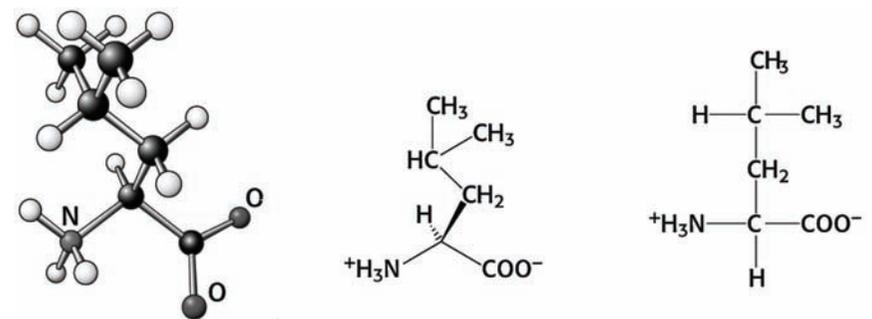


Рисунок 83 – Схема аминокислоты лейцин (Leu)

Хотя можно представить себе большое количество других подобных аминокислотных остатков, отличающихся числом и расположением углеводородных групп, но только эти четыре аминокислоты кодируются генетически в естественных биосистемах.

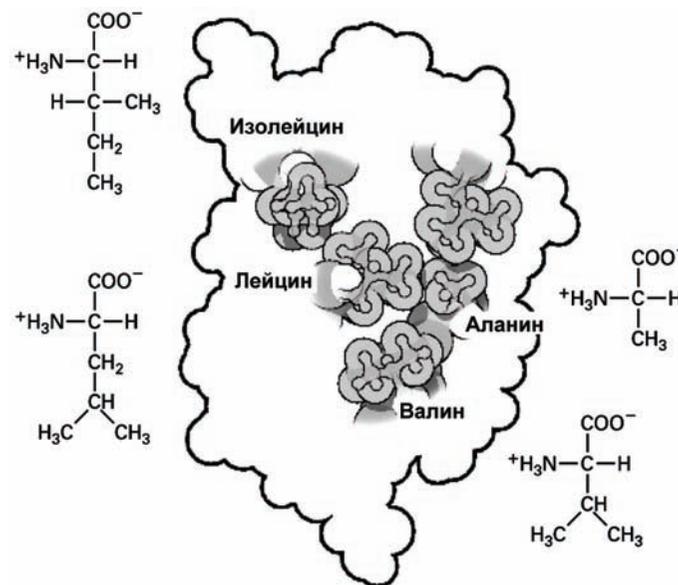


Рисунок 84 – Структурные особенности изолейцина, лейцина, аланина и валина

**Фенилаланин, тирозин и триптофан.** Аминокислотные остатки фенилаланина (Phe), тирозина (Tyr) и триптофана (Trp) содержат ароматические группы (рисунки 85 – 87).

Так же, как и в случае алифатических аминокислот, эти аминокислоты являются гидрофобными и также обеспечивают фолдинг белковых цепей.

Ароматические кольца этих аминокислот часто располагаются стопкой друг над другом или над основаниями ДНК (также имеющими циклическую структуру) и используются для обеспечения специфичности участков связывания данного белка с другими белковыми молекулами или нуклеиновыми кислотами.

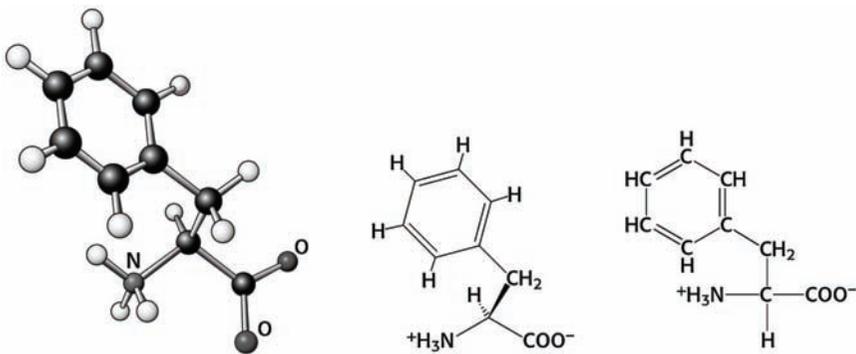


Рисунок 85 – Схема аминокислоты фенилаланин (Phe)

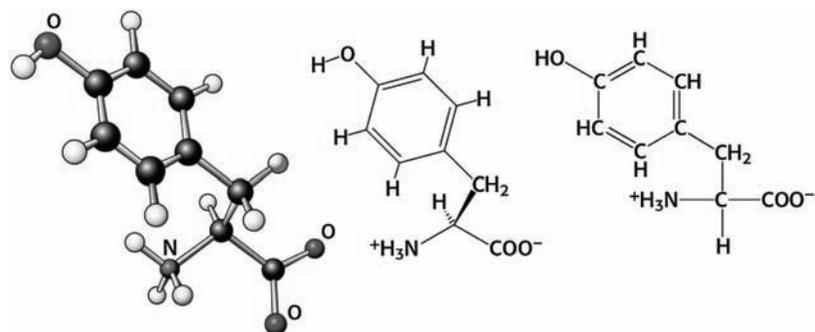


Рисунок 86 – Схема аминокислоты тирозин (Tyr)

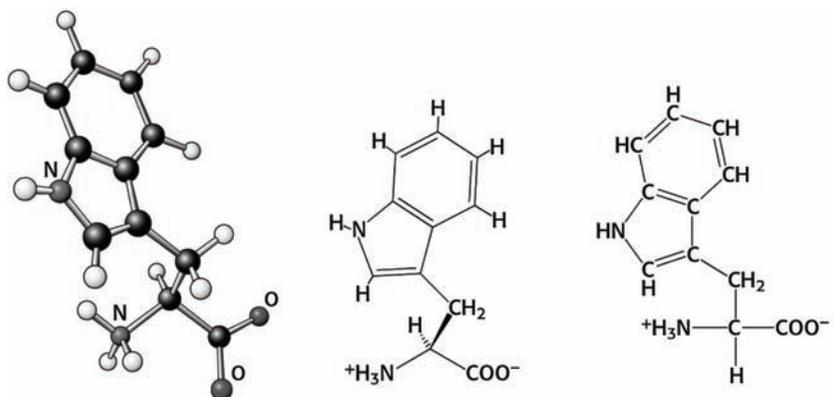


Рисунок 87 – Схема аминокислоты триптофан (Trp)

Тирозин, кроме ароматического кольца, имеет ещё и гидроксильную группу. Этим обеспечиваются его особые свойства, которые используются для обеспечения взаимодействия с малыми органическими молекулами. Активные центры, в которых присутствует тирозин, одновременно могут и связываться с гидрофобными участками лигандов, и образовывать водородные связи с лигандами.

На рисунке 88 представлена схема молекулы бактериального порина, погруженного в липидную мембрану. Мембрана изображена на рисунке схематически в виде серого прямоугольника.

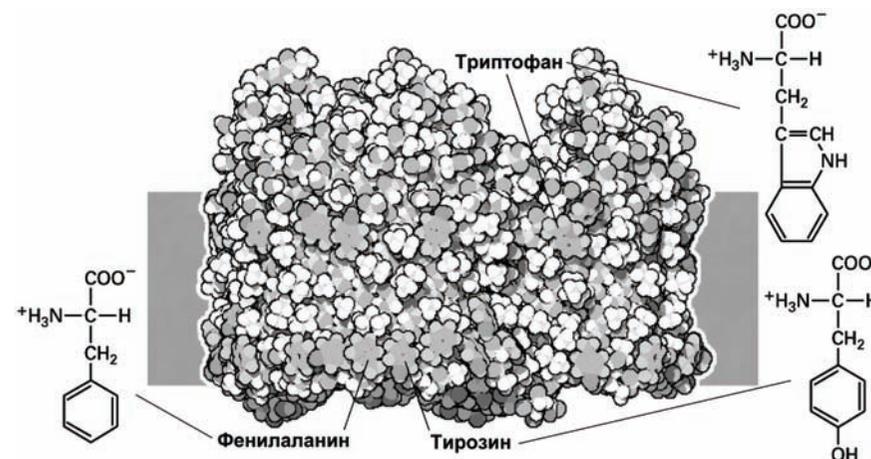


Рисунок 88 – Структурные особенности фенилаланина, тирозина и триптофана

Ароматические аминокислоты расположены по периметру порина, образуя целые зоны на поверхности белка, которые взаимодействуют с гидрофобной внутренней областью биомембраны.

**5.4.4. Полярные незаряженные аминокислоты.** К полярным незаряженным аминокислотам относятся *серин* (Ser), *треонин* (Thr), *аспарагин* (Asn), *глутамин* (Gln) и *гистидин* (His) (рисунки 89 – 93).

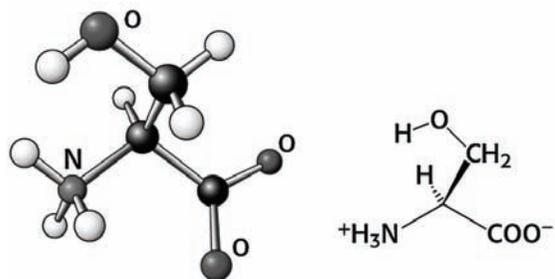


Рисунок 89 – Схема аминокислоты серин (Ser)

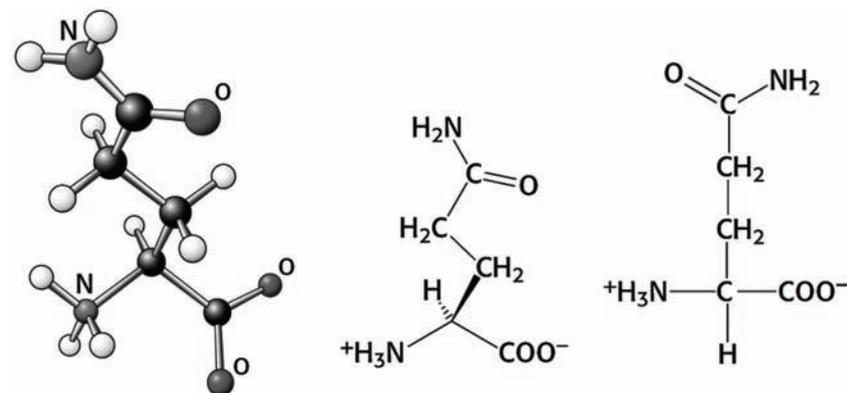


Рисунок 92 – Схема аминокислоты глутамин (Glu)

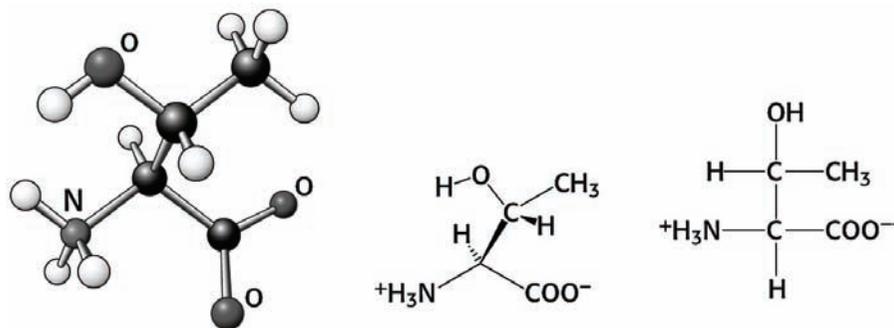


Рисунок 90 – Схема аминокислоты треонин (Thr)

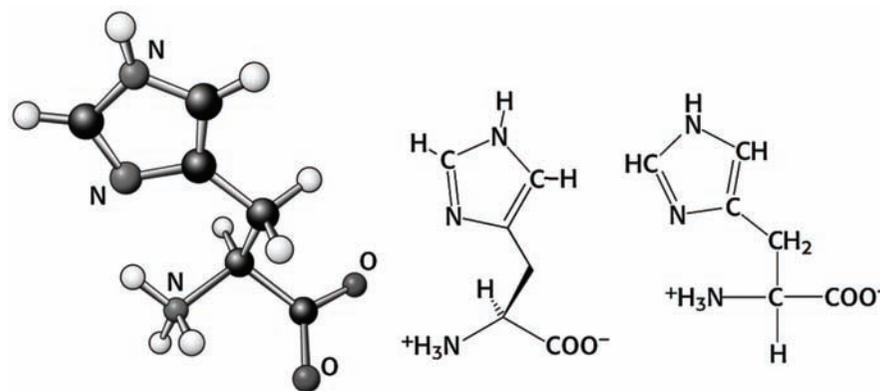


Рисунок 93 – Схема аминокислоты гистидин (His)

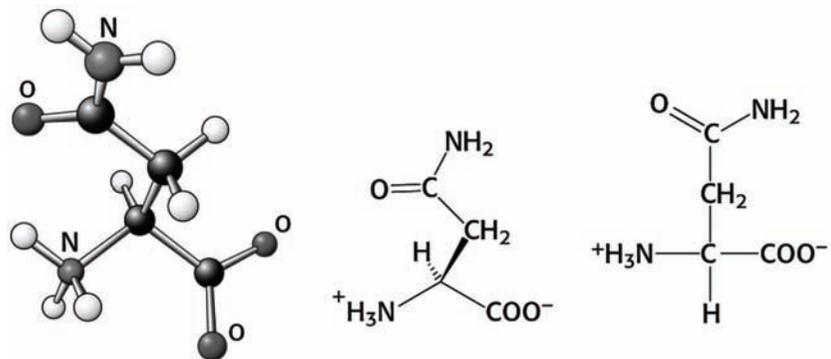


Рисунок 91 – Схема аминокислоты аспарагин (Asn)

Аминокислотные остатки серина, треонина, гистидина, аспарагина и глутамина *участвуют* в образовании *водородных связей*. Эти аминокислоты, как правило, располагаются на поверхности белковой глобулы, где они взаимодействуют с окружающей водой (рисунок 94).

Полярные незаряженные аминокислоты часто используются для соединения белковых структур между собой и для формирования специфических взаимодействий с другими молекулами.

Гистидин выполняет особые функции. Он содержит *имидазольную* группу (рисунок 78(в)), которая может принимать заряженную или нейтральную формы в слегка отличающихся условиях. В нейтральной форме в гистидине сочетаются одновременно и *электрофильный* протонированный *вторичный азот*, который может быть *донором* водородной связи, и *сильно нуклеофильный третичный азот*, который может быть *акцептором* водородной связи. Поскольку третичный азот зачастую протонируется в цитозоле, то гистидин иногда относят к положительно заряженным аминокислотам.

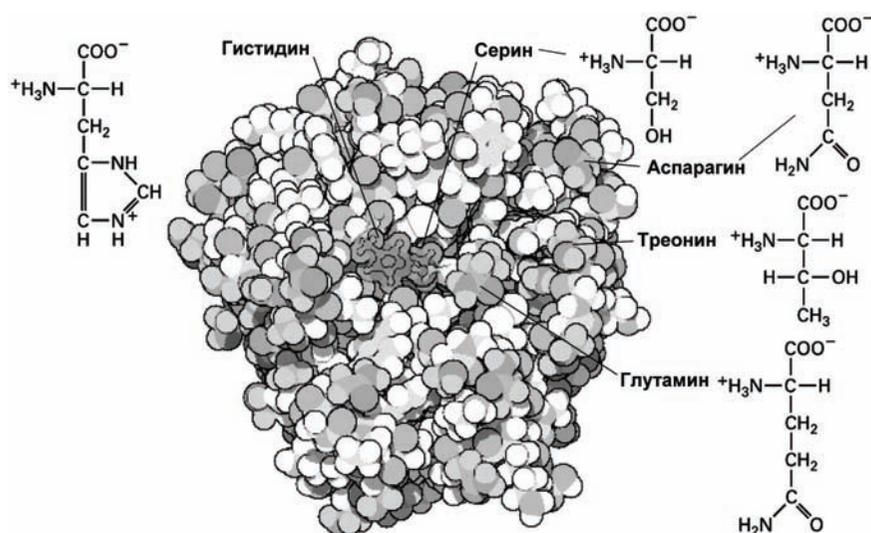


Рисунок 94 – Структурные особенности гистидина, серина, аспарагина, треонина и глутамина

Гистидин не часто используется в белках. Главным образом, он участвует в формировании специализированных каталитических активных центров ферментов.

Например, на рисунке 94 показано, как гистидин использован в протеолитическом ферменте *трипсине* для активации аминокислоты *серин*. Обычно гидроксильная группа серина неактивна, но в активирован-

ной форме серин участвует в каталитических реакциях, в которых нужно либо добавить, либо отвести атом водорода.

Гистидин также эффективно взаимодействует с ионами металлов и используется для формирования специфических металл-связывающих центров.

**5.4.5. Заряженные аминокислоты.** К заряженным аминокислотам относят *аспарагиновую (Asp)* и *глутаминовую (Glu)* кислоты – отрицательно заряженные аминокислоты, и *лизин (Lys)* и *аргинин (Arg)* – положительно заряженные аминокислоты.

Аспарагиновая и глутаминовая кислоты содержат карбоксильные кислотные группы (рисунки 95–97).

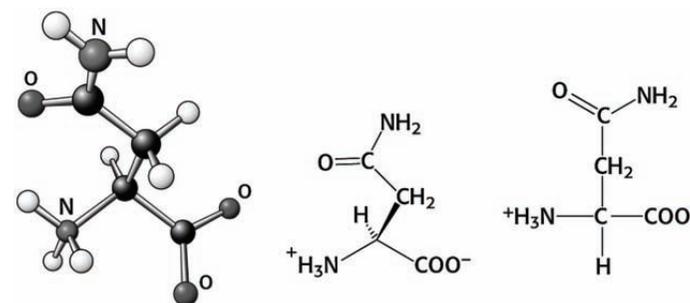


Рисунок 95 – Схема аспарагиновой кислоты (Asp)

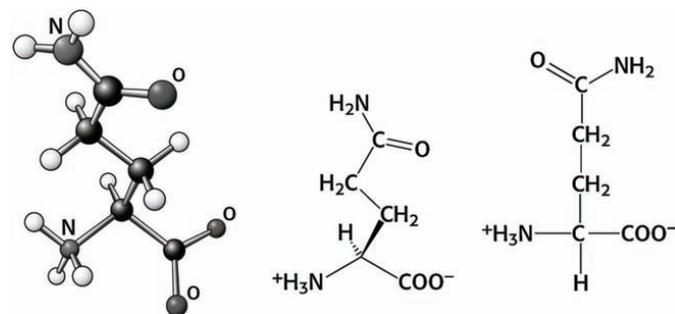


Рисунок 96 – Схема глутаминовой кислоты (Glu)

В нормальных физиологических условиях при нейтральном рН эти аминокислотные остатки *ионизованы и отрицательно заряжены*. Они характерны для поверхности белков (рисунок 97) и часто используются в биохимическом катализе и для прочного связывания металлических катионов.

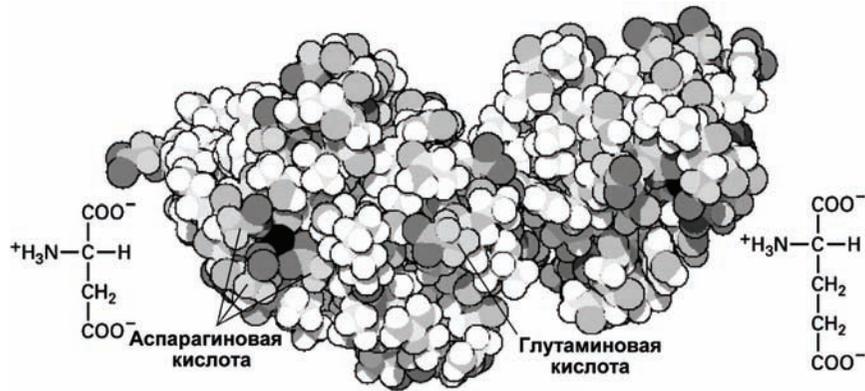


Рисунок 97 – Структурные особенности аспарагиновой и глутаминовой кислот

**Лизин и аргинин.** Положительно заряженные аминокислоты *лизин* и *аргинин* имеют *основные группы* на конце длинной углеводородной цепи (рисунки 98–100).

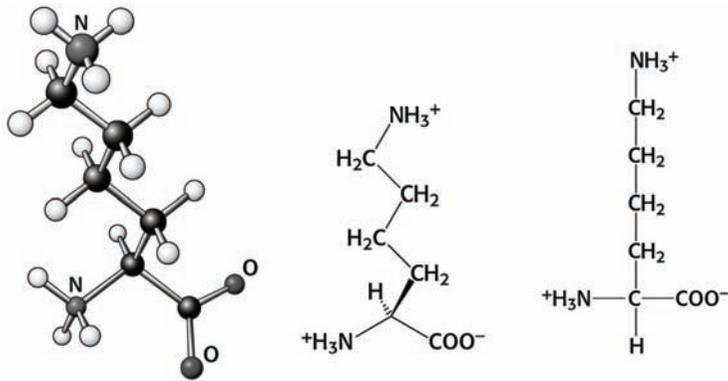


Рисунок 98 – Схема аминокислоты лизин (Lys)

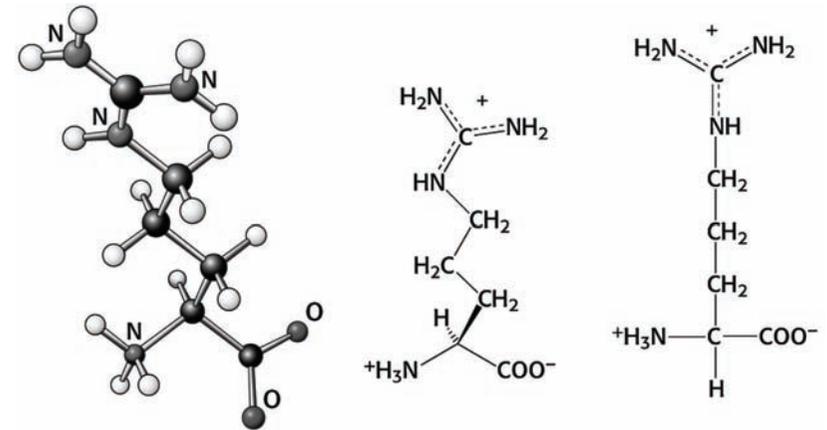


Рисунок 99 – Схема аминокислоты аргинин (Arg)

*Аминогруппа* на конце лизина и *гуанидиновая* (рисунок 78(б)) *группа* на конце аргинина ионизованы при физиологических условиях и нормальном рН и несут *положительный заряд*. Лизин и аргинин располагаются *на поверхности* белковых глобул и используются для распознавания отрицательно заряженных молекул.

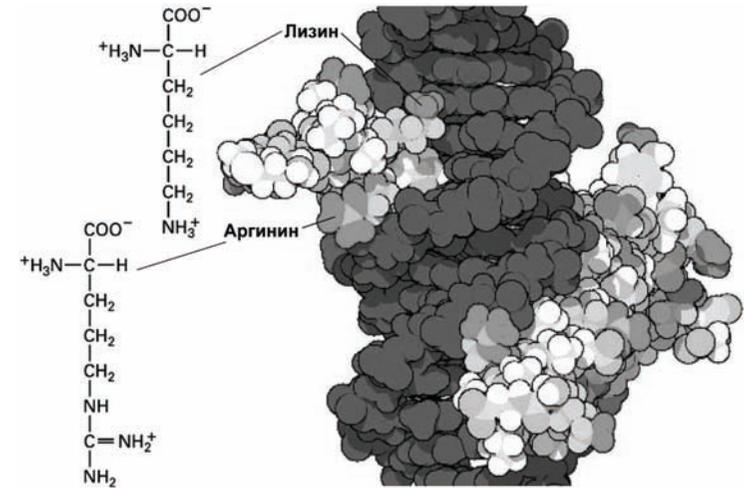


Рисунок 100 – Структурные особенности лизина и аргинина (темно-серым цветом изображена молекула ДНК)

В частности, аргинин используется для связывания белков с нуклеиновыми кислотами – на рисунке 100 показан репрессорный белок, связанный с двойной спиралью ДНК.

Длинная гибкая углеводородная цепь аргинина также участвует в гидрофобных взаимодействиях с другими гидрофобными молекулами.

## 5.5. Иерархия белковых структур

**5.5.1. Первичная структура белка.** Первичной структурой белка (рисунок 101(a)) называется последовательность расположения аминокислотных остатков в полипептидной цепи.

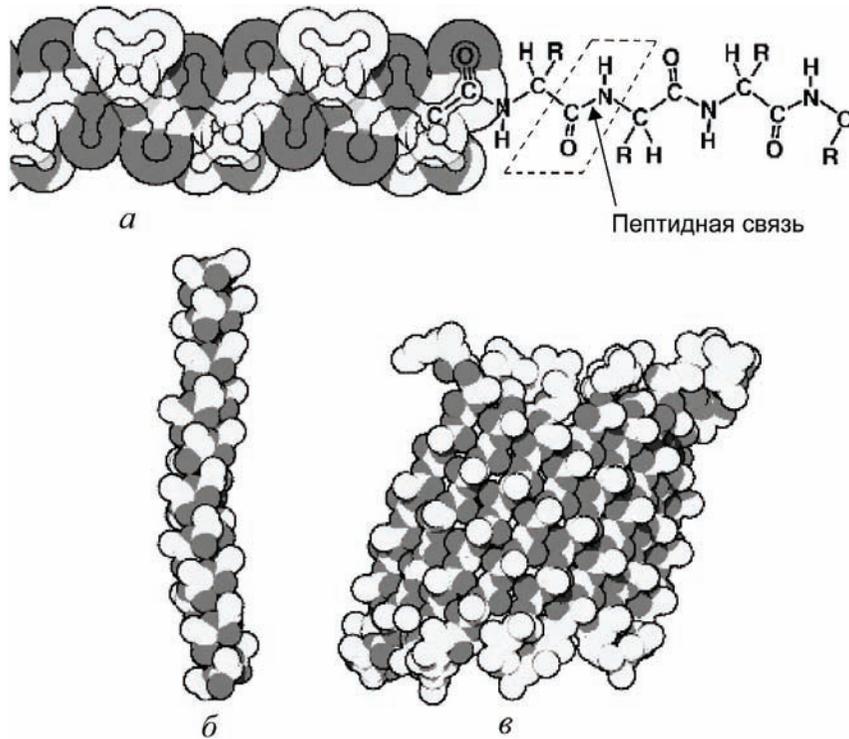


Рисунок 101 – Строение белковых структур: *a* – первичная структура белковой цепи; *b* –  $\alpha$ -спираль; *c* –  $\beta$ -структура

Макромолекулы белков состоят из одной или нескольких *полипептидных цепей*, построенных из аминокислотных остатков. На одном, *N-конце* цепи находится  $\text{NH}_2$ -группа, на другом, *C-конце* – группа  $\text{COOH}$ . Аминокислоты соединяются в полипептид с помощью ковалентных *пептидных связей*.

Пептидная связь является *жесткой*, причем четыре атома, её образующие ( $\text{H-N-C=O}$ ), лежат в одной плоскости (рисунок 102).

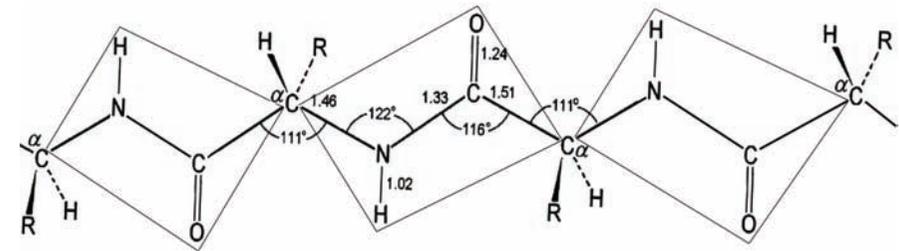


Рисунок 102 – Пептидная связь. Межатомные расстояния даны в ангстремах

Электронная структура пептидной связи имеет характер *резонанса*, охватывающего все четыре атома пептидной группы и обеспечивающего её жесткость, как если бы все связи имели свойства двойных.

В результате пептидная цепь может относительно свободно вращаться только относительно связей  $\alpha$ -углеродов, обозначенных "A" и "B" на рисунке 103.

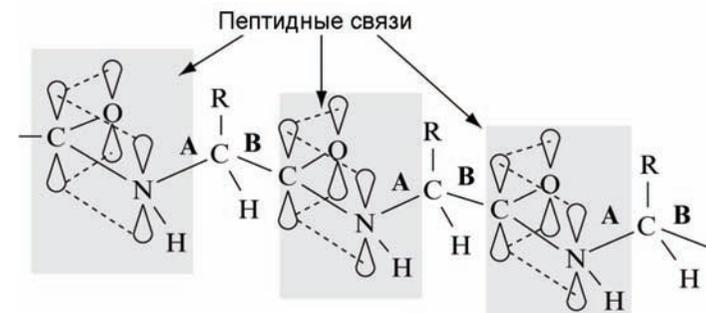


Рисунок 103 – Резонансы в пептидной связи

Вследствие образования пептидной связи группа Н–N становится потенциальным донором водородной связи, а группа О=C – её акцептором. Наглядно этот процесс можно представить как "перенос" электрона с азота на кислород.

**5.5.2. Вторичная структура белка.** *Вторичной структурой* называется упорядоченное строение полипептидных цепей, обусловленное водородными связями между группами С=О и N–H разных аминокислот.

Жесткость пептидных связей между аминокислотами и топологические отличия в структуре аминокислотных остатков накладывают определенные стерические ограничения на вторичную структуру пептидной цепи.

*Торсионные углы вращения* вокруг связей N–C<sup>α</sup> и C<sup>α</sup>–C главной цепи, показанные на рисунке 104(а), называют соответственно углами φ и ψ.

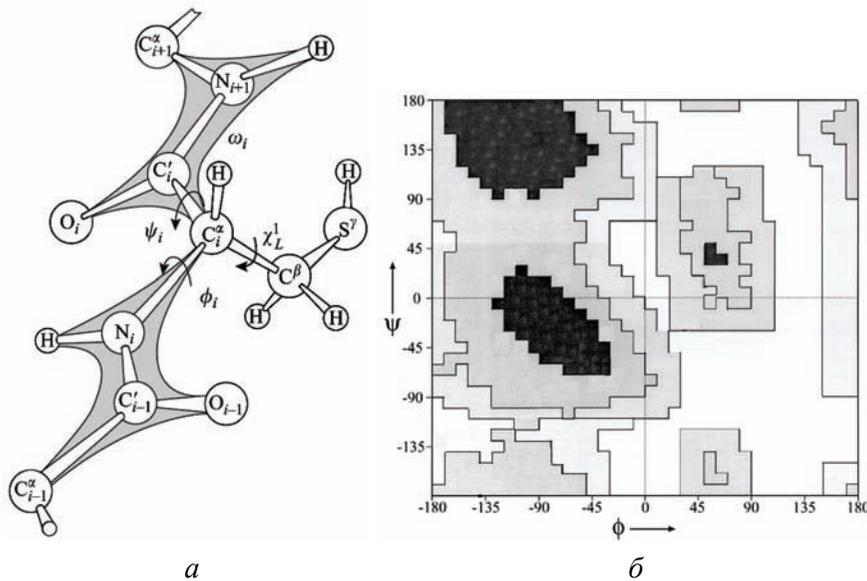


Рисунок 104 – Конформации полипептидной цепи: *a* – главная цепь полипептида и боковая группа цистеина на ней; *б* – карта Рамачандрана. Интенсивность окраски пропорциональна "разрешённости" соответствующей комбинации торсионных углов поворота φ и ψ в главной цепи (глубине энергетической "долины")

Стрелки на рисунке указывают направление вращения, ведущее к росту угла поворота ближней к нам части цепи относительно более отдаленной её части.

Для описания стереометрии аминокислотных остатков в белках используют так называемые *карты Рамачандрана* – геодезическое изображение "разрешённых" и "запрещённых" комбинаций углов φ и ψ для конкретных белковых конформаций (рисунки 104 и 105).

Пример такого "картографического" изображения показан на рисунке 104(б). Если бы не накладывалось никаких ограничений на стереометрию полипептидной цепи, то торсионные углы φ и ψ могли бы принимать любые значения. В этом случае точка, соответствующая конформации того или иного аминокислотного остатка могла бы оказаться в любом месте карты Рамачандрана.

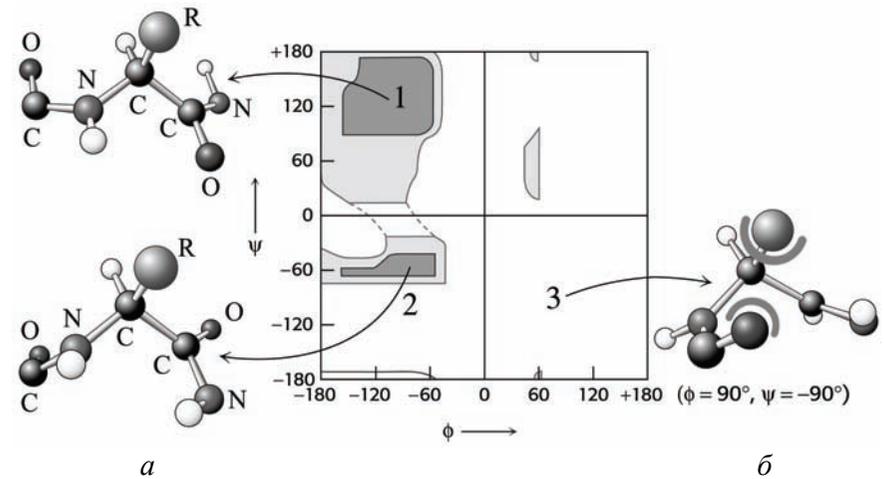


Рисунок 105 – Стерические ограничения в пептидной цепи: *a* – "разрешённые" конформации; *б* – "запрещённая" конформация. 1 – φ = -90°, ψ = 120°; 2 – φ = -90°, ψ = -60°; 3 – φ = +90°, ψ = -90°

В действительности допустимы вовсе не любые комбинации углов φ и ψ. Это связано с тем, что при изменении обоих углов изменяется и

положение атомов в соседних аминокислотных остатках друг относительно друга.

Сближение в пространстве атомов, особенно объемистых (кислорода, углерода, азота) приводит к их взаимному отталкиванию. Преодоление этого отталкивания требует значительных энергетических затрат, что делает такую конфигурацию полипептидной цепи неустойчивой, а соответствующую конформацию "запрещённой".

Стерические ограничения – тот факт, что два атома не могут быть в одно и то же время в одном и том же месте – существенно уменьшает число возможных комбинаций торсионных углов  $\phi$  и  $\psi$ .

На рисунке 105(а) показаны примеры "разрешённых" конформаций, соответствующих глубоким "долинам" на карте Рамачандрана, а на рисунке 105(б) энергетически невыгодная "запрещённая" конформация, соответствующая "плато" на карте Рамачандрана.

Периодичность чередования пептидных связей существенным образом *определяет геометрию* образуемых белковых структур. Именно свойства периодичности пептидных связей в аминокислотной цепи и то, каким образом располагаются наружу белковой цепочки атомы водорода и кислорода, определяют существование только ограниченного количества стабильных конформаций белковой цепи.

В частности, *две конформации*, представленные на рисунке 101, являются стабильными. В них сочетается минимальность длины цепи с максимальной численностью водородных связей между атомами разных пептидных групп.

*Первая конформация* – это  $\alpha$ -спираль (рисунки 101(б), 106 и 108(а)). Цепь свернута в спираль таким образом, что каждый кислород пептидной группы образует водородную связь с атомом водорода пептидной группы, расположенной через три аминокислоты от данной (рисунки 106 и 108(а)).

Карта Рамачандрана для  $\alpha$ -спиралей представлена на рисунке 107(а).

*Вторая конформация* – это  $\beta$ -структура, образованная несколькими, расположенными параллельно, цепями (рисунок 101(в)). Каждая из цепей вытянута ровно, а стабильность всей  $\beta$ -структуре обеспечивают

водородные связи между цепями, которые могут формировать как параллельные, так и антипараллельные структуры (рисунок 108(б,в)).

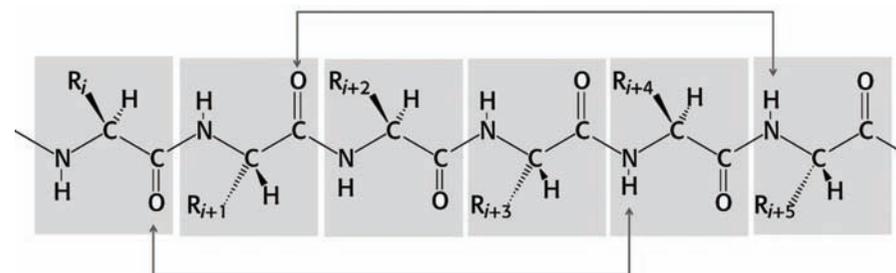


Рисунок 106 – Водородные связи в  $\alpha$ -структуре

$\beta$ -Структуры могут *взаимодействовать между собой*, образуя целые белковые *листы*. Карта Рамачандрана для  $\beta$ -структур представлена на рисунке 49(б). Карты Рамачандрана допускают существование *двух* типов  $\alpha$ -спиралей – как правозакрученных (абсолютно доминируют в белках), так и левозакрученных (практически не встречающихся).

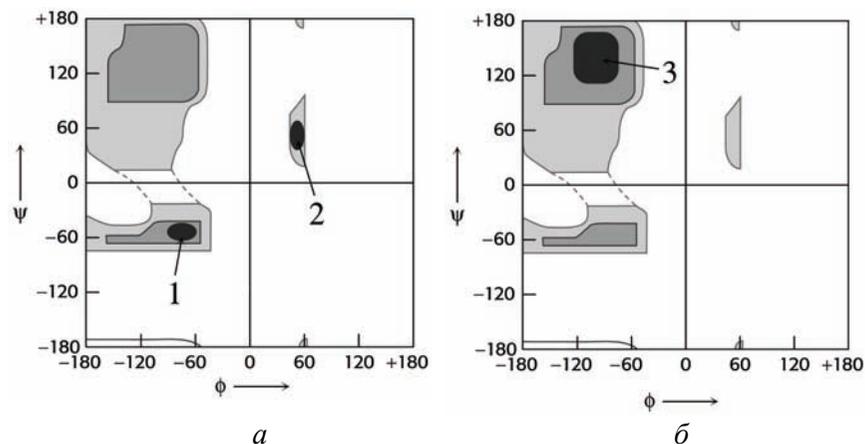


Рисунок 107 – Карты Рамачандрана: *a* – для  $\alpha$ -спиралей; *б* – для  $\beta$ -структур. Цифрами указаны минимумы: 1 – правая  $\alpha$ -спираль (основная); 2 – левая  $\alpha$ -спираль (редкая); 3 –  $\beta$ -структура

Левые спирали энергетически менее предпочтительны вследствие дополнительных стерических проблем, возникающих из-за наличия боковых L-радикалов аминокислот.

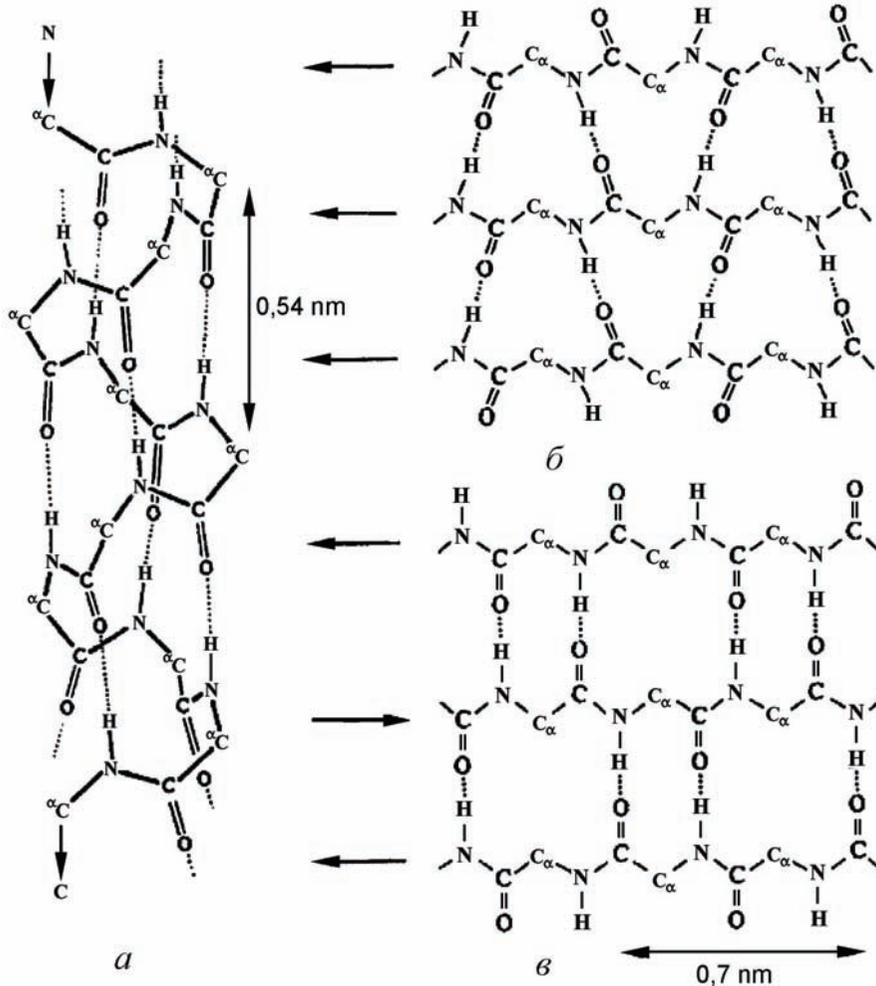


Рисунок 108 – Вторичная структура белков: а –  $\alpha$ -спираль; б – параллельная  $\beta$ -структура; в – антипараллельная  $\beta$ -структура

$\alpha$ -Спирали образуют достаточно жесткие цилиндрические структуры. На рисунках  $\alpha$ -спирали изображаются или как спиральные ленты или как цилиндры, а  $\beta$ -структуры изображаются как плоские полосы (рисунок 109).

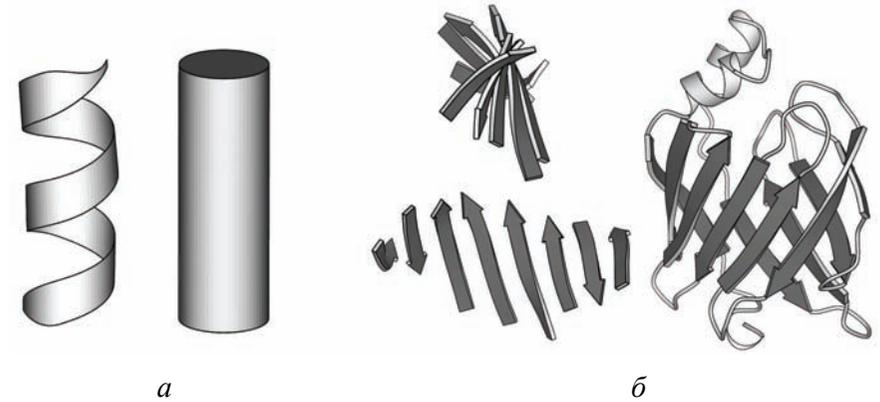


Рисунок 109 – Схематическое изображение вторичных структур: а –  $\alpha$ -спирали; б –  $\beta$ -структуры

Выделяют надвторичные (супервторичные) структуры (элементарные комплексы) – термодинамически или кинетически стабильные комплексы  $\alpha$ -спиралей и  $\beta$ -структур. В глобулярных белках обнаружены, например, ( $\beta \times \beta$ )-элементы (два параллельных  $\beta$ -слоя, соединенных сегментом "x"), складка Россмана ( $\beta\alpha\beta$ -элемент, который образуют два сегмента  $\alpha$ -спирали, вставленные между тремя параллельными  $\beta$ -цепями) и  $\beta$ -меандр (слой из трех и более антипараллельных  $\beta$ -цепей; "Меандр" – это название очень извилистой реки в Греции).

**5.5.3. Третичная структура белка.** Основой функциональности белка, которая требует точной пространственной организации больших ансамблей аминокислот является третичная структура.

Третичной структурой называют распределение в пространстве всех атомов белковой молекулы.

Стабильность третичной структуры обусловлена *четырьмя типами* взаимодействиями между радикалами.

1. *Ковалентные связи* между остатками двух цистеинов (дисульфидные мостики) (рисунок 110).
2. *Электростатические (ионные) взаимодействия* между противоположно заряженными аминокислотными остатками (три радикала со знаком "+" и два со знаком "-"). Например, положительно заряженная аминогруппа лизина ( $\text{NH}_3^+$ ) притягивается отрицательно заряженной карбоксильной группой ( $\text{COO}^-$ ) глутаминовой или аспарагиновой кислоты.
3. *Водородные связи*, в которых участвуют все аминокислоты, имеющие гидроксильные, амидные или карбоксильные группы.
4. *Гидрофобные взаимодействия* между неполярными радикалами и водным окружением.

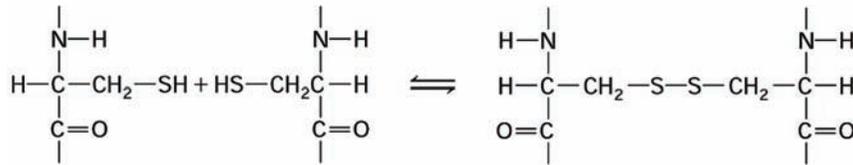


Рисунок 110 – Образование дисульфидного мостика

Некоторые комбинации  $\alpha$ - и  $\beta$ -структур, обеспечивающие функциональную специфичность белков, приведены на рисунке 111.

*Третичная структура полностью задается первичной.*

*Определяющими* при образовании третичной структуры являются гидрофобные взаимодействия в силу неизбирательности (неспецифичности) и многочисленности.

Гидрофобное ядро существует у большинства белков. Решающую роль в стабилизации третичной структуры играет увеличение энтропии воды (растворителя) при сворачивании глобулы.

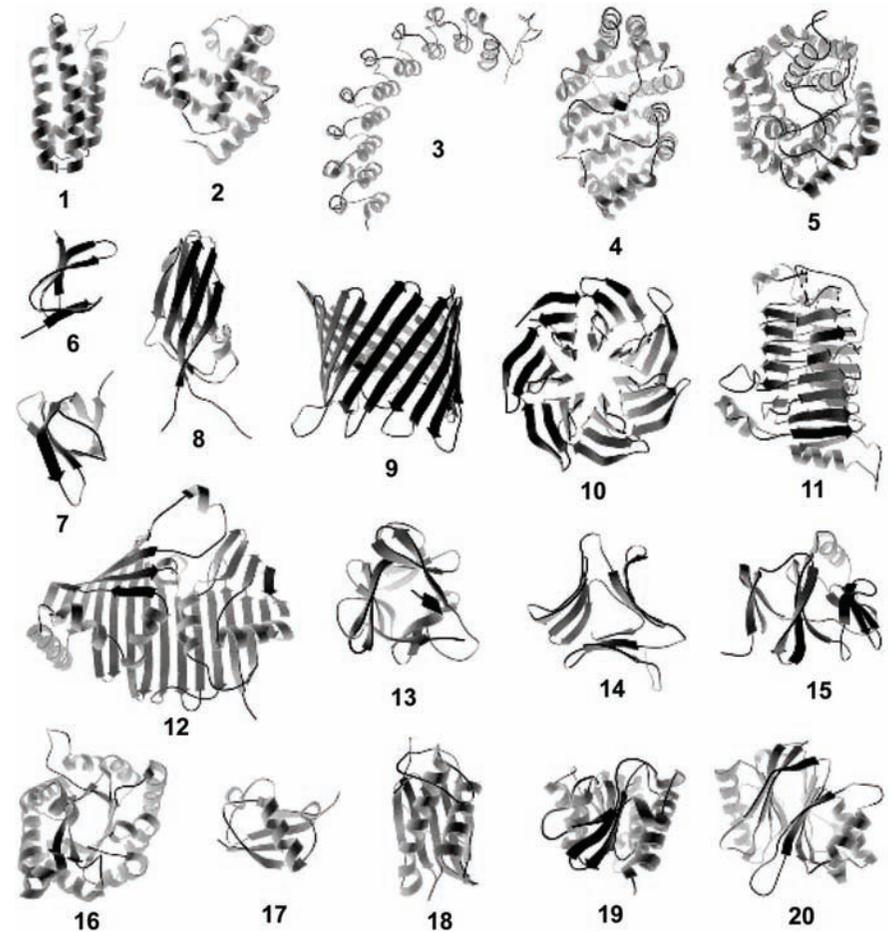


Рисунок 111 – Комбинации  $\alpha$ -спиралей,  $\beta$ -структур и соединяющих белковых нитей определяют топологию белков: (1–5) – комбинации  $\alpha$ -спиралей; (6–15) – комбинации  $\beta$ -структур; (16–20) –  $\alpha/\beta$  комбинированные третичные структуры белков

Свойственный белкам способ организации пространственной структуры – формирование гидрофобного ядра и мозаичной поверхности, содержащей как гидрофильные, так и гидрофобные элементы, – *ограничивает* размеры глобулы, поскольку с увеличением её объема труднее сформировать строго гидрофобное ядро. Начиная примерно с

молекулярной массы 14–16 кДа, полипептидная цепь формирует два (или более) домена.

Доменами называют области в третичной структуре белка с определенной *структурной* автономией. Часто *структурная* автономия доменов дополняется *функциональной*. Так в ферментах зачастую каталитические домены структурно отделены от регуляторных доменов.

Наличие доменов создает структурные предпосылки для большей внутренней гибкости, динамики, белковых молекул, достигаемой смещением доменов относительно друг друга.

**5.5.4. Четвертичная структура белка.** *Четвертичной структурой* белка называется агрегация двух или большего числа полипептидных цепей, имеющих третичную структуру, в олигомерную функционально значимую композицию.

Связи, образующие и поддерживающие четвертичную структуру, те же самые, что и при образовании третичной структуры, *кроме гидрофобных*.

*Четвертичную структуру* имеют около половины белков, в том числе гемоглобин, иммуноглобулин, инсулин. Почти все ДНК- и РНК-полимеразы имеют четвертичную структуру. Множество ферментов имеют четвертичную структуру. Примеры белков, имеющих четвертичную структуру, – глобулярный актин (G-актин, рисунок 22) и тубулин (рисунок 26).

Основные функции четвертичной структуры белка.

1. *Объединение нескольких взаимосвязанных функций в единой структуре.* Например, фермент *протеинкиназа А* (см. п.б.6.4) состоит из двух субъединиц, одна из которых катализирует перенос фосфата АТФ на белок, а другая является регуляторной.

2. *Архитектурная функция.* В той же *протеинкиназе А* зона связывания субстрата образована двумя доменами, которые при взаимодействии с фосфатной группой субстрата сближаются, закрывая его от окружающего растворителя, так что реакция протекает при полном его отсутствии.

3. *Обеспечение множественных взаимодействий белка с протяженными структурами.* За счет существования четвертичной структуры иммуноглобулины объединяют в одной молекуле два идентичных центра связывания антигена. Кооперативность взаимодействия таких центров с макромолекулярными антигенами, например бактериальными стенками, делает комплексы антиген-иммуноглобулин гораздо более прочными, чем это наблюдалось бы для мономерного белка.

4. *Регуляторная функция.* Главная функциональная особенность четвертичной структуры, по-видимому, смысл её существования, состоит в том, что относительно слабые взаимодействия между субъединицами, характер которых существенно зависит от третичной структуры каждой из них, особенно *удобны для регуляторных воздействий*, управления активностью белков. Изменения в третичной структуре какого-либо домена, вызванные его взаимодействием с субстратом или иным лигандом, вследствие относительной слабости междоменных контактов, передаются на зону его контакта с другим доменом, изменяя характер этой зоны. Такое изменение приводит к *перестройке всей четвертичной структуры* и обеспечивает передачу эффекта от одного домена к другим.

Таким образом, иерархию белковых структур можно изобразить в виде схемы, представленной на рисунке 112.

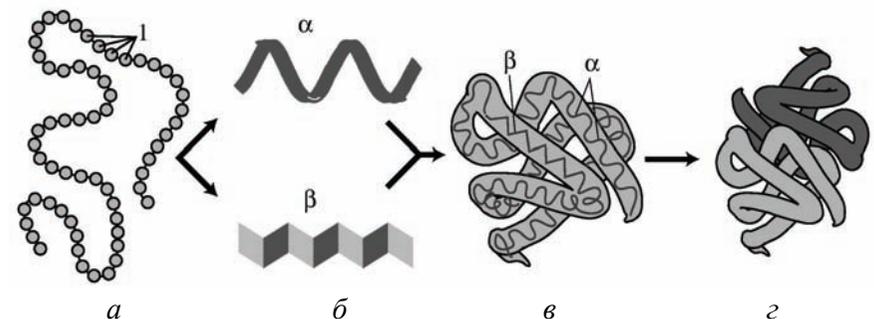


Рисунок 112 – Иерархия белковых структур: *а* – первичная структура; *1* – аминокислоты; *б* – вторичные структуры; *в* – третичная структура; *г* – четвертичная структура

## 5.6. Функции белков

*Белок – это отдельный полипептид или агрегат нескольких полипептидов, выполняющий биологическую функцию.*

Следует подчеркнуть, что *полипептид* – понятие химическое, а *белок* – понятие биологическое.

Например, иммуноглобулин состоит из четырех полипептидных цепей, которые по отдельности не являются белками, белок – только их функциональный агрегат (см. п.б.6.1).

Выделяют *девять* функций белка.

1. *Структурная функция.* Белки входят в состав всех клеточных оргanelл: *мембранных* – плазматическая мембрана, ядерная оболочка, эндоплазматический ретикулум, комплекс Гольджи, лизосомы, пероксисомы, вакуоли, митохондрии, пластиды – и *немембранных* – хромосомы, рибосомы, клеточный центр (центриоли), реснички и жгутики, микрофиламенты.

2. *Каталитическая функция.* Все биокатализаторы (кроме рибозимов) – белки. Эта функция в 1982 году перестала считаться уникальной. Выяснилось, что некоторые РНК тоже обладают каталитической активностью. Их называют РНКзимами или рибозимами.

3. *Защитная функция* (пока уникальна). Антитела – это белки. Иммуноглобулины "склеивают" антигены и образуется преципитат.

4. *Регуляторная функция.* На *клеточном уровне*: белки-репрессоры и белки-активаторы транскрипции. На *уровне организма*: некоторые *гормоны* – белки.

*Например*, гормон поджелудочной железы инсулин регулирует переход глюкозы через плазматическую мембрану. При недостаточной секреции инсулина развивается тяжелое заболевание – сахарный диабет. Гормон роста *соматотропин* образуется в передней доле гипофиза. Там же образуется и *адренокортикотропный гормон* (АКТГ). Он действует на кору надпочечников, регулируя синтез стероидных гормонов.

5. *Трансформация энергии.* Белки сетчатки глаза *родопсин* и *рети-нен* трансформируют световую энергию в электрическую. *Актин-миозиновые комплексы в мышцах* преобразуют энергию химических связей в механическую. *F<sub>0</sub>F<sub>1</sub>-АТФ-синтазы* превращают механическую энергию потока протонов через мембрану в химическую энергию, синтезируя АТФ из АДФ (см. п.б.7.1).

6. *Транспортная функция.* Гемоглобин осуществляет транспорт O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, а трансферрин – транспорт железа. Системы *пермеаз* – это мембранные белки, которые переносят полярные соединения через мембрану как по, так и против градиента концентрации. Мембранные ионные насосы *АТФазы* осуществляют трансмембранный перенос ионов.

7. *Энергетическая функция.* 10 из 20 аминокислот, входящих в состав белков, в организме человека "сгорают" с выделением энергии. Это – заменимые аминокислоты. Они могут быть синтезированы в клетке из продуктов расщепления углеводов и липидов.

8. *Питательная функция.*

а) *Поставка незаменимых аминокислот.* У человека 10 из 20 аминокислот – *аргинин, валин, гистидин, изолейцин, лейцин, лизин, метионин, треонин, триптофан, фенилаланин* – не могут быть синтезированы в организме. Они должны поступать извне.

Понятие "заменяемые и незаменимые аминокислоты" – видоспецифическое и касается только животных и грибов. При этом взрослый организм *не нуждается* в аргинине (поэтому аргинин часто *не относят* к незаменимым аминокислотам), а наличие в рационе *цистеина* и *тирозина* снижает потребность организма в *метионине* на 80% и *фенилаланине* на 70% соответственно.

б) *Запасные белки* для развития зародыша и вскармливания младенца. Например, *казеин* – белок молока, *овальбумин* – яичный белок, *глиадин* – белок зерен пшеницы.

9. *Буферная функция.* Любой белок – амфотерный полиэлектролит. Белки способствуют поддержанию определенных значений pH в разных отсеках клетки, обеспечивая этим компартментацию.

## 5.7. Комбинаторный характер молекулярного разнообразия

Подводя итог краткому рассмотрению химического строения живых организмов, можно сделать вывод, что колоссальное разнообразие живых организмов, наблюдающееся в природе, определяется не атомным, а молекулярным разнообразием, которое носит в основном *комбинаторный характер* (рисунок 113).

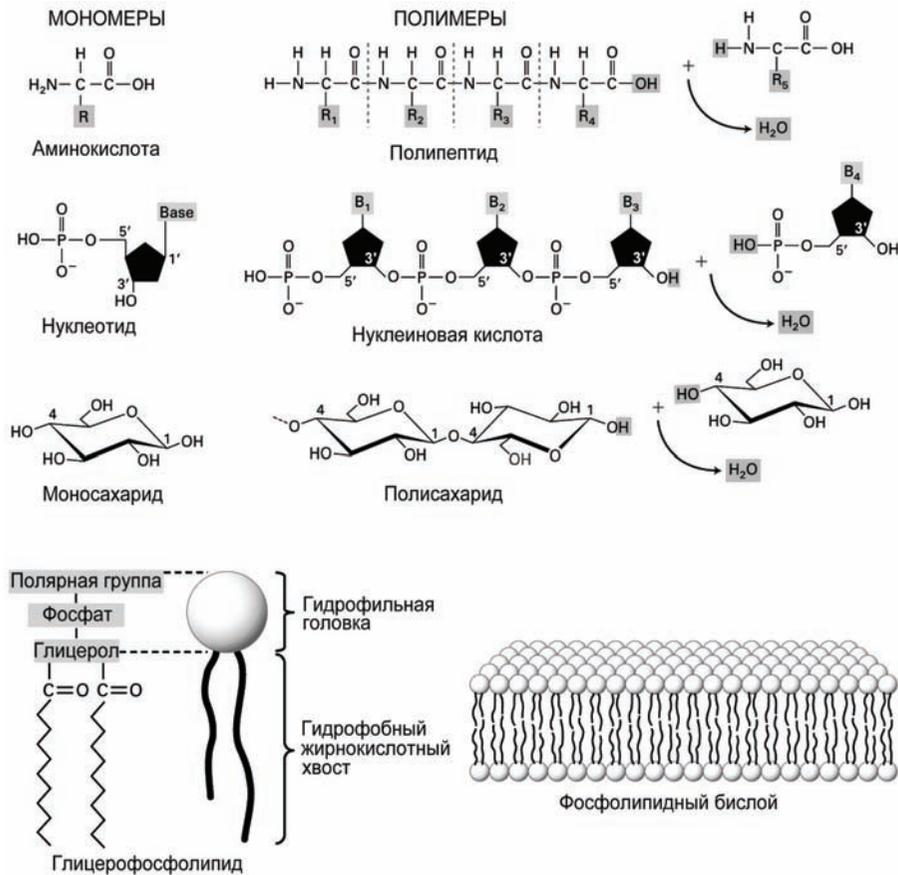


Рисунок 113 – Образование биополимеров и биомембран

Действительно, тысячи разнообразных больших и сложных молекул, входящих в состав живых организмов, построены лишь из 30 *основных простых органических молекул*, играющих роль строительных блоков:

- двадцать L-аминокислот,
- пять азотистых оснований (урацил, тимин, цитозин, аденин и гуанин),
- два сахара (D-глюкоза и D-рибоза),
- один азотсодержащий спирт (холин),
- одна 16-атомная насыщенная жирная кислота (пальмитиновая),
- один 3-атомный спирт (глицерол).

При этом в случае *нерегулярных полимеров* (белки и нуклеиновые кислоты), их разнообразие определяется *разнообразием чередования* нескольких типов мономеров, а в случае *регулярных полимеров* (полисахариды) – *разнообразием химических связей* между однотипными мономерами (рисунок 113).

Огромное разнообразие биологических молекул предопределяет ещё более значительное разнообразие *взаимодействий между ними*. Такое разнообразие имеет тенденцию к неограниченному росту из-за образования всё новых объектов в результате взаимодействия уже существующих, и, следовательно, *комбинаторный принцип* строения основных биологических веществ представляется совершенно необходимым для эволюции живых организмов, поскольку, вероятно, только таким образом может эффективно возникать новый материал для естественного отбора.

### ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

1. Мономерами каких полимеров являются нуклеотиды?
2. Как называются момеры, формирующие нуклеиновые кислоты?
3. В чем сходство и различие нуклеотидов и нуклеозидов?
4. Перечислите пиримидиновые нуклеиновые основания.
5. Перечислите пуриновые нуклеиновые основания.

6. Перечислите уотсон-криковские пары нуклеиновых оснований.
7. Перечислите принципы строения ДНК.
8. Какие формы строения спиралей ДНК вы знаете? Какая из них является основной? Чем отличаются В- и Z-формы спиралей ДНК?
9. Перечислите функции ДНК.
10. Чем отличаются ДНК и РНК?
11. Перечислите виды РНК.
12. Перечислите уровни упаковки ДНК в хромосому.
13. Как называются мономеры, из которых построены белки?
14. Перечислите основные компоненты молекулы аминокислоты?
15. Как называется единственная аминокислота, используемая в биосинтезе белков?
16. На какие группы подразделяются аминокислоты по полярности радикала?
17. Перечислите неполярные аминокислоты.
18. Перечислите алифатические аминокислоты.
19. Перечислите ароматические неполярные аминокислоты.
20. Перечислите полярные незаряженные аминокислоты.
21. Что такое цвиттерион? Запишите цвиттерион аминокислоты.
22. Перечислите оксиаминокислоты.
23. Перечислите заряженные аминокислоты.
24. Перечислите отрицательно заряженные аминокислоты.
25. Перечислите положительно заряженные аминокислоты.
26. Какие белки называют полипептидами?
27. Запишите пептидную связь.
28. Какие аминокислоты называются заменимыми?
29. Перечислите заменимые аминокислоты.
30. Какие аминокислоты называются незаменимыми?
31. Перечислите незаменимые аминокислоты.
32. Какая аминокислота является частично заменимой и почему?
33. Что называется первичной структурой белка?
34. Какие связи обеспечивают стабильность первичной структуры белка?

35. Что называется вторичной структурой белка?
36. Какие взаимодействия обеспечивают стабильность вторичной структуры белка?
37. Что называется третичной структурой белка?
38. Какие взаимодействия обеспечивают стабильность третичной структуры белка?
39. Как образуются дисульфидные мостики?
40. Что называется четвертичной структурой белка?
41. Какие взаимодействия обеспечивают стабильность четвертичной структуры белка?
42. В чем сходство и различие понятий белок и полипептид?
43. Перечислите основные функции белка.

## 6. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ БЕЛКОВ

Представление об объемной структуре белков требует адекватного её отображения. При этом разные способы изображения конформации белков несут в себе различную информацию.

*Простейший способ* изобразить трехмерную структуру белка получается, если соединить пептидные связи сплошной линией – "трассировать" атомы N–C–C<sub>α</sub>-полипептидной цепи (рисунок 114(а)).

На рисунке 114 представлены *четыре варианта* представления структуры ГТФазного мономерного белка Ras.

Самая сложная модель – *шаростержневая (ball and stick)* на которой представлен каждый атом белка (рисунок 114(б)).

Трассировка пептидной цепи представляет *общую организацию* белка, не показывая положение аминокислотных остатков. А шаростержневая модель демонстрирует *все атомы, все* аминокислотные остатки с учетом *всех* взаимодействий.

Хотя *обе* модели и полезны, но они *неудобны* для отображения специфических участков вторичной структуры, которые и задают функциональные особенности белков.

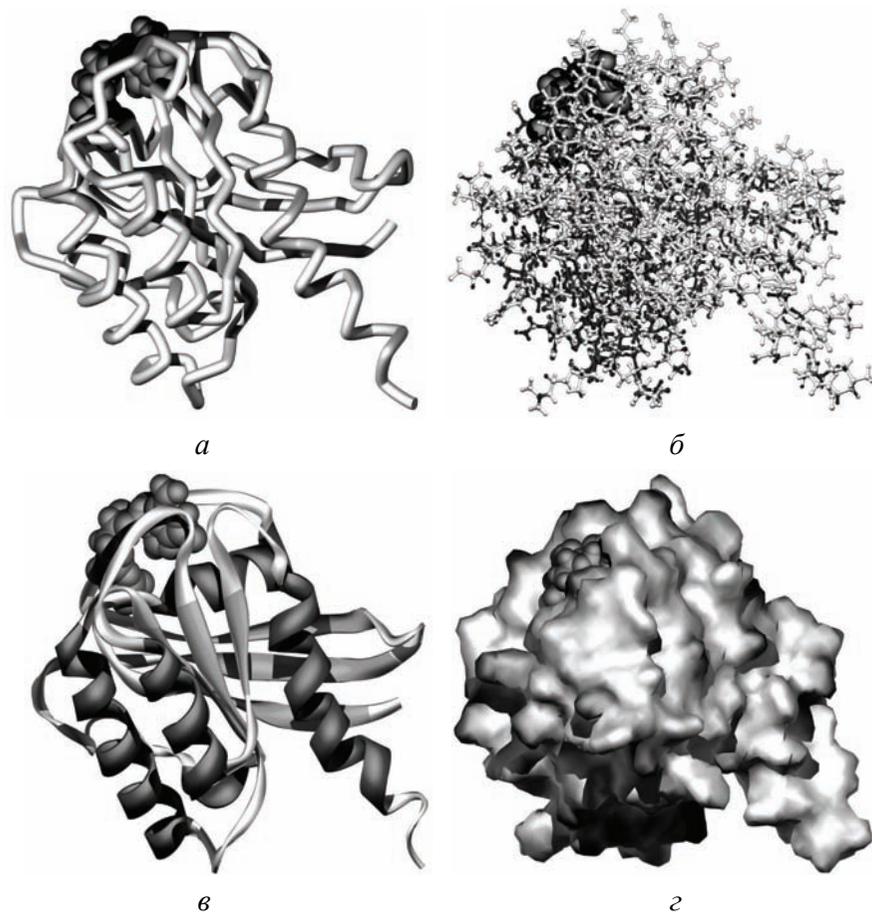


Рисунок 114 – Способы графического представления структуры белка: *a* – трассировка пептидной цепи; *б* – шаростержневая модель; *в* – резиновая лента; *г* – поверхность контакта с растворителем. Структура, изображенная в левом верхнем углу молекул большими шарами – молекула ГДФ

Другой способ представления пространственной организации белковой молекулы использует общепринятые обозначения элементов вторичной структуры – свернутые в *спираль* резиновые *ленты* (или просто жесткие *цилиндры*) для  $\alpha$ -спиралей, *плоские* резиновые ленты или *плоские*

*стрелки* для  $\beta$ -структур, гибкие тонкие *стержни* для изображения изгибов и петель (рисунок 114(в)).

Последний, четвертый, способ изображает *поверхность* белковой молекулы, которая представляет особый интерес, поскольку именно на этой поверхности молекулы цитозоля связываются с данным белком (рисунок 114(г)). Эту поверхность строят, соединяя атомы белковой молекулы, с которыми способны взаимодействовать молекулы воды, поэтому такой способ представления формы белковой молекулы называют *поверхность контакта с растворителем (solvent-accessible surface)*.

На цветных рисунках разным цветом отмечают области поверхности, имеющей различный знак поверхностного заряда, и области с различной полярностью (гидрофобные и гидрофильные). Такое изображение показывает белковую молекулу такой, какой её "видят" другие молекулы.

### 6.1. Повторы вторичной структуры

Рассмотрим более подробно организацию пространственной структуры белков.

Специфические, часто встречающиеся, комбинации вторичных структур называются *мотивами* или *повторами*. Из них строится функциональная третичная структура белков.

Например, *спираль–петля–спираль* является  $\text{Ca}^{2+}$ -связывающим *повтором*, которому характерно наличие *определенных* гидрофильных остатков в *определенных* позициях в петле (рисунок 115(а)), и который присущ многим кальций-связывающим и ДНК-связывающим белкам.

В кальций-связывающих белках, таких, как *кальмодулин*, кислородные атомы пяти аминокислотных остатков и одна молекула воды формируют ионную связь с ионом  $\text{Ca}^{2+}$ . Такой *мотив* найден более чем в ста кальций-связывающих белках. В литературе он также встречается под названием *EF hand*.

Другой широко распространенный повтор – *цинковый палец* (рисунок 115(б)). Его образуют *три* вторичные белковые структуры –  $\alpha$ -спираль и две  $\beta$ -структуры с антипараллельной ориентацией, формирующие пальцеобразную структуру, связанную ионом цинка.

Ион  $Zn^{2+}$  связывается с двумя остатками цистеина и двумя остатками гистидина. Как правило, цистеиновые остатки занимают позиции 3 и 6, а гистидиновые – 20 и 24 этого мотива, состоящего из 25 аминокислот. Такой повтор чаще всего встречается в белках, которые связываются с РНК или ДНК.

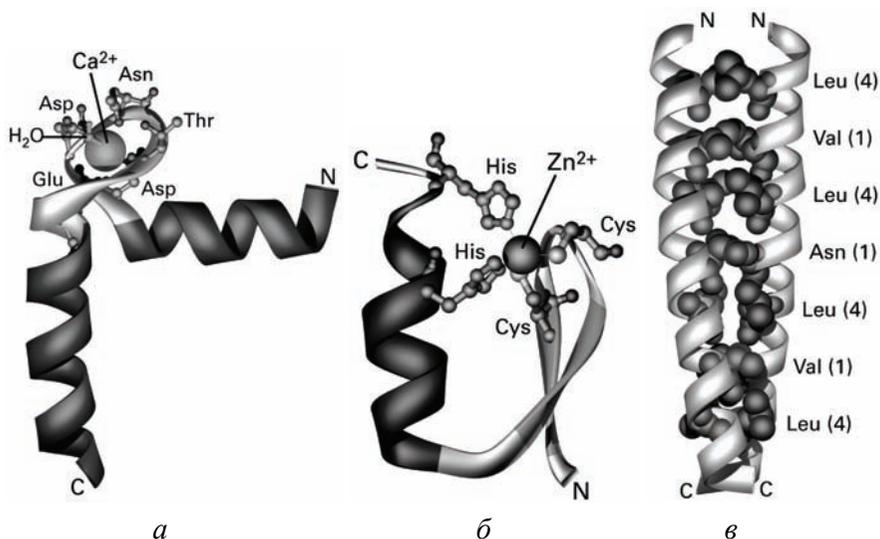


Рисунок 115 – Повторы вторичной структуры белков: *a* – спираль-петля-спираль, *б* – цинковый палец, *в* – скрученная спираль

Многие белки, особенно фибриллярные, самоассоциируются в олигомеры используя *третий* тип повтора – *скрученную спираль (coiled coil)*. В таких белках каждая полипептидная цепь содержит сегменты  $\alpha$ -спиралей, в которых гидрофобные остатки образуют периодические последовательности с одной стороны спирали.

Такая  $\alpha$ -спираль обладает *повышенной гидрофобностью* с одной стороны и *повышенной гидрофильностью* с другой. В водном растворе энергетически выгодно ассоциироваться двум (или более) таким спиральям за счет гидрофобных взаимодействий между гидрофобными частями. В результате образуется скрученная спираль (рисунок 115(в)).

Наличие одинаковых мотивов в разных белках, имеющих подобные функции, явно указывает на эволюционный характер отбора, который закрепил эти полезные структуры. В настоящее время *сотни* повторов каталогизированы, и белки зачастую классифицируют в соответствии с мотивами, которые присутствуют в их структуре.

## 6.2. Белковые домены

Третичная структура белков с молекулярной массой (ММ) более 15 000 ММ обычно подразделяется на *домены*.

(Молекулярная масса, ММ (*molecular weight*, MW) измеряется в дальтонах, Да; 1 Да = 1 а.е.м. =  $1,66 \cdot 10^{-27}$  кг; 15 000 ММ = 15 кДа).

Структурно, домен – это компактно упакованный (*folded*) участок полипептида. Домены больших белков могут быть определены с помощью рентгеновской кристаллографии или электронной микроскопии.

Хотя домены достаточно хорошо физически *отделены* друг от друга, они, тем не менее, *соединены* взаимопроникающими сегментами полипептидной цепи. Например, каждая из субъединиц белка *гемагглютинаина* содержит глобулярный и фибриллярный домены (рисунок 116(а)).

*Структурный домен* состоит из 100–150 остатков. Часто домену характерна какая-либо специфическая структурная особенность:

- необычно большое количество какой-либо аминокислоты (например, домены богатые пролином или домены с кислотными свойствами),
- последовательности аминокислот, повторяющиеся во многих белках,
- специфические мотивы (повторы) вторичной структуры (например, цинковый палец).

Иногда домены определяют не по их структурной обособленности, а *по их функциям* на основе выделения того участка белковой цепи, которая обеспечивает функциональную специфичность белка.

К примеру, определенный участок (или участки) обеспечивает каталитическую активность (например, киназный домен) или способность к

специфическому связыванию (например, ДНК-связывающий домен или мембраносвязывающий домен).

*Функциональные домены* часто идентифицируют экспериментально, укорачивая белок с помощью *протеаз* (ферментов, которые разрезают пептидный остов) до его наименьшего активного фрагмента. Или же индуцируют мутации ДНК, кодирующей данный белок, с тем, чтобы удалить или изменить участки белковой цепи. Затем *анализируют активность* такого "усеченного" или измененного белка, синтезированного с мутантного гена, и таким образом определяют, какой из участков белка *определяет его функциональность*.

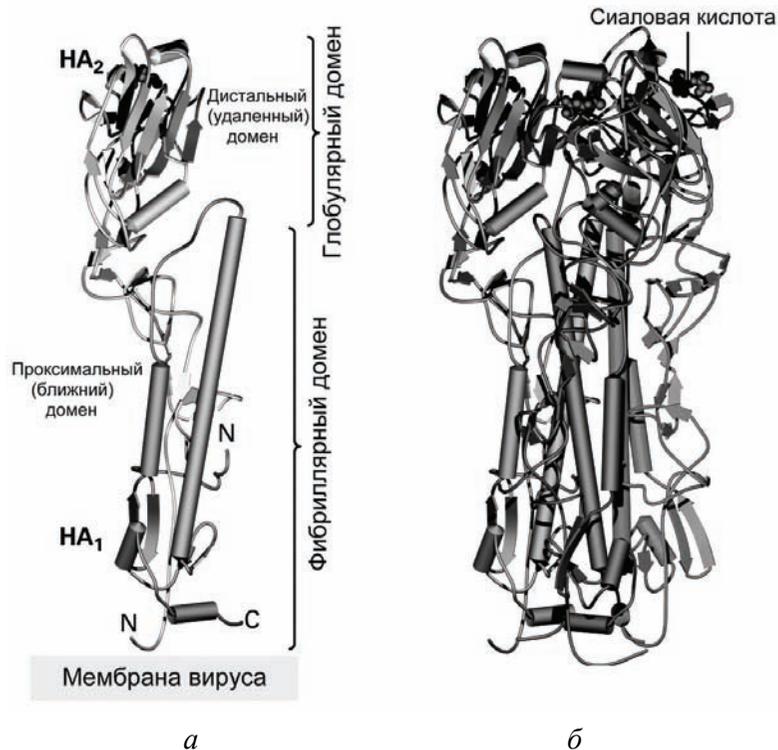


Рисунок 116 – Домены: *a* – третичная двухдоменная структура субъединицы гемагглютинаина; *б* – четвертичная структура гемагглютинаина, состоящая из трех субъединиц

*Доменная организация* больших белковых молекул иллюстрирует принцип, по которому сложные молекулы формируются из более простых компонентов. Так же как одинаковые мотивы (повторы) вторичной структуры присутствуют в разных белках, так и домены третичной структуры могут быть частью сложных молекул разных белков.

*Модульный принцип* строения белковой архитектуры достаточно легко определить в больших белках, которые фактически представляет собой мозаику, собранную из различных доменов, и, поэтому, обеспечивают одновременное выполнение нескольких функций.

Пример такого модуля, который присутствует в нескольких белках – *домен эпидермального фактора роста (epidermal growth factor, EGF)* (рисунок 117).

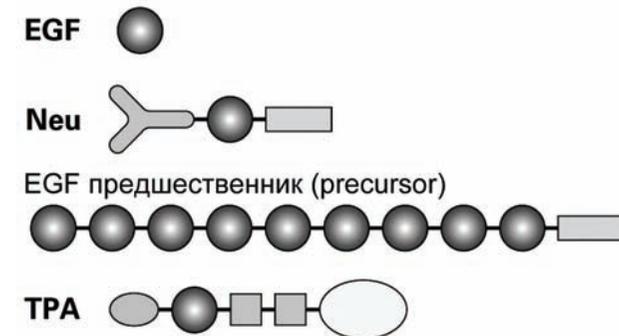


Рисунок 117 – Схема модульной структуры различных белков

EGF – это небольшой *растворимый белковый гормон*, который связывается с клетками в эмбриональной фазе развития, или с клетками кожи и соединительных тканей взрослого организма, вызывая их деление.

EGF образуется вследствие многократного протеолитического разрезания *белка предшественника EGF*, который фиксируется в клеточной мембране трансмембранным доменом. EGF-модули также присутствуют в других белках, например, в (1) *плазмогенном активаторе ткани (tissue plasminogen activator, TPA)* – протеаза, которая используется для растворения тромбов крови у пациентов с инфарктом миокарда, (2) *в белке Neu*,

который участвует в клеточной дифференцировке эмбриона, (3) в *Notch-белке* (белок-маркер), который является частью мембранной сигнальной системы клетки.

Кроме EGF-доменов эти белки содержат домены, характерные и для других белков. Например, ТРА содержит трипсиновый домен, характерный для всех ферментов, обеспечивающих деградацию белков.

### 6.3. Белковые ассоциаты

*Мультимерные ассоциаты белков* состоят из двух или более полипептидов или субъединиц. Четвертый уровень структурной организации белков – *четвертичная структура* – характеризует число (стехиометрию) и относительное пространственное расположение субъединиц в мультимерном белке. Например, *гемагглютинин* – это тример, состоящий из трех идентичных субъединиц, связанных между собой нековалентными связями (рисунок 116(б)). Другие мультимерные белки также состоят из нескольких идентичных или различных субъединиц.

Мультимерная природа многих белков является определяющей для управления их функциями.

Ферменты одного метаболического пути зачастую могут быть ассоциированы как субъединицы одного большого белка, тем самым увеличивая эффективность функционирования этого метаболического пути.

*Высший* уровень белковых структур – это объединение белков в *макромолекулярные ассоциаты*. Обычно это очень большие структуры с массой порядка 1 мегадальтона (1 МДа), с размером 30–300 нм и содержащие десятки (или даже сотни) полипептидных цепей, а также, в ряде случаев, и нуклеиновые кислоты.

К таким макромолекулярным ассоциатам относятся и *вирусный капсид* (оболочка вируса), и *жгуты филаментов* цитоскелета, которые поддерживают и придают специфическую форму плазматической мембране. Другие макромолекулярные ассоциаты работают как молекулярные машины, обеспечивая большинство сложных клеточных процессов, интегрируя индивидуальные функции белков в один скоординированный процесс.

Так, *транскрипционная машина*, которая инициирует синтез матричной РНК (мРНК) состоит из *РНК-полимеразы* (которая сама является мультимерным белком) и около 50 дополнительных компонентов, включая *факторы транскрипции, промотор-связывающие белки, геликазы* и другие белковые комплексы (рисунок 118).

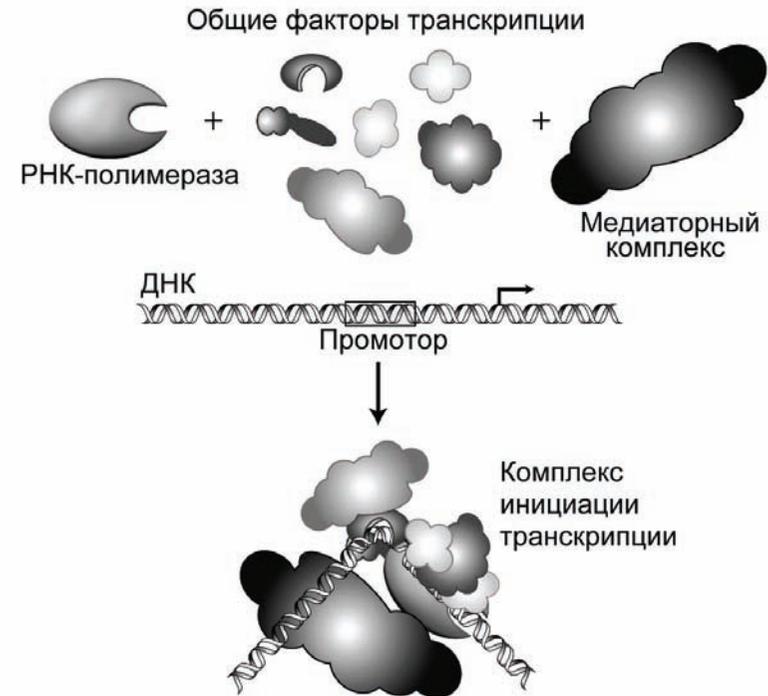


Рисунок 118 – Молекулярный комплекс инициации трансляции мРНК

*Факторы транскрипции и промотор-связывающие белки* правильно позиционируют *РНК-полимеразу* на промоторе – участке ДНК, который определяет начало транскрипции специфического гена. После того, как *геликаза* расплетает двойную спираль ДНК, *РНК-полимераза* начинает одновременно и перемещаться вдоль ДНК (*транслокация*), и синтезировать мРНК (*транскрипция*). Подробно транскрипцию ДНК мы рассмотрим во второй части книги.

#### 6.4. Белковые семейства

Исследование миоглобина и гемоглобина – белков, переносящих кислород в мышцах и крови, соответственно, – показали, что *функции* белков определяются их *трехмерной* структурой, которая, в свою очередь, определяется *последовательностью* аминокислот – первичной структурой.

Рентгеновская кристаллография показала, что трехмерная структура миоглобина и  $\alpha$  и  $\beta$  субъединиц гемоглобина поразительно *подобны* (рисунок 119). Последующее секвенирование миоглобина и субъединиц гемоглобина выявило, что много *идентичных* или *химически подобных* оснований располагаются в *идентичных позициях* первичной структуры обоих белков.

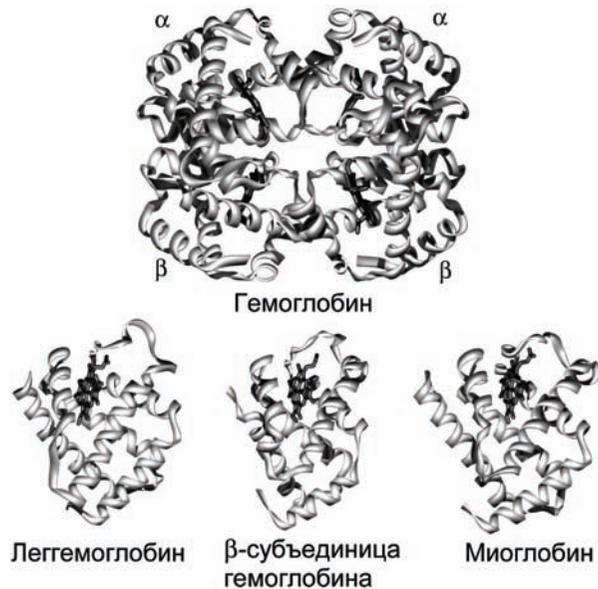


Рисунок 119 – Трехмерная структура гомологичных глобинов

Проведенное аналогичное сравнение других белков окончательно подтвердило тот факт, что *аминокислотная последовательность, трех-*

*мерная структура и функции белков являются взаимосвязанными и взаимозависимыми.*

В настоящее время этот принцип широко используется в протеомике для *предсказания структуры и функций* вновь обнаруженных белков на основе сравнения аминокислотных последовательностей с белками, чья структура и функции уже определены.

Использование такого "поиска в базах данных" расширяется по мере того, как завершается полная расшифровка геномов всё большего числа организмов.

На основе сравнения молекулярной структуры белков была создана *новая схема* биологической классификации, основанная на подобии или различиях в аминокислотных последовательностях белков.

Белки, которые имеют *общего предка* (прародителя) называют *гомологичными*. Главный признак гомологичности белков, а, значит, и наличие общего предка, – это подобие их аминокислотных последовательностей и структур.

Говорят, что гомологичные белки принадлежат к одному *семейству*. Сравнение их структуры позволяет восстановить их родословную. Трехмерная структура гомологичных белков подобна, даже если наблюдается значительное отличие в первичной структуре.

Родство между гомологичными белками проще всего изобразить в виде *генеалогического древа*. Например, аминокислотные последовательности глобинов бактерий, растений и животных показывают, что они произошли от общего предка – мономерного кислород-связывающего белка (рисунок 120).

С течением времени гены, кодирующие белок-предок глобинов, медленно изменялись, разошлись ветви растений и животных. Дальнейшие изменения привели к появлению *миоглобина*, мономерного кислород-связывающего белка мускулатуры, и  $\alpha$  и  $\beta$  субъединиц тетрамерной молекулы *гемоглобина* ( $\alpha_2\beta_2$ ) системы кровообращения. Во всех этих глобинах нековалентно связанная с белком молекула гема является центром связывания кислорода.

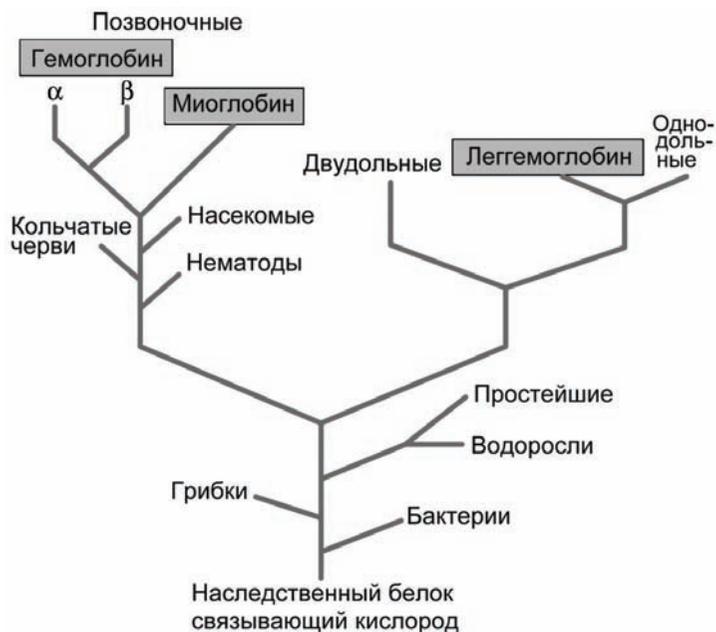


Рисунок 120 – Генеалогическое древо глобинов

### 6.5. Фолдинг, модификация и деградация белков

Механизм биосинтеза белков будет рассмотрен во второй части пособия. Сейчас мы остановимся на работе клеточных систем, обеспечивающих правильное *сворачивание (фолдинг)* и "дозревание" белковых цепей.

Клетка имеет системы контроля, которые детектируют ошибки синтеза и фолдинга белков. Неверно свернутая белковая нить не обладает специфической для данного белка активностью и может быть причиной заболеваний. Ошибки процесса сворачивания белковой цепи в глобулярный нативный белок – *мисфолдинг (misfolding)* – не допускаются с помощью *двух* различных механизмов.

*Во-первых*, клетка имеет системы, которые предохраняют белковую цепь от неправильного сворачивания.

*Во-вторых*, все неверно свернутые белковые глобулы и все цитозольные белки, которые более не нужны клетке, деградируют (расщепляются на аминокислоты) в клетке.

**6.5.1. Фолдинг белков.** Белковая цепь *самопроизвольно* сворачивается в функциональную нативную конформацию, которая является энергетически наиболее выгодной, и все параметры которой задаются исключительно первичной структурой белка.

Эксперименты по денатурации и ренатурации белковой цепи под действием обратимых изменений температуры, кислотности среды или наличия особых химикалий, ослабляющих, например, дисульфидные связи, показали, что сворачивание происходит *самопроизвольно* и никакие дополнительные белковые и небелковые факторы не нужны для фолдинга.

Однако *самопроизвольный фолдинг* является очень медленным процессом, и нерационально синтезировать белковые цепи, которые долгое время не будут принимать активную форму. Кроме того, фолдингу могут *препятствовать* процессы *агрегации* белковых цепей, чего не наблюдается *in vivo*.

Универсальным механизмом, обеспечивающим быстрый и безошибочный фолдинг, является участие в сворачивании белковых цепей *шаперонов* – специализированных белков, обнаруженных во всех органеллах всех организмов от бактерий до приматов (рисунок 121).

Вообще говоря, шапероны бывают двух типов.

1. *Молекулярные шапероны*, которые связываются с белковой нитью, предотвращая её агрегацию или деградацию.
2. *Шаперонины*, которые обеспечивают фолдинг белков.

*Молекулярные шапероны* состоят из белков Hsp70 и их *гомологов*:

- Hsp70 в цитозоле и матриксе митохондрий,
- BiP в эндоплазматическом ретикулуме,
- DnaK в бактериях.

Белки Hsp70 называют *белками теплового шока* (*heat shock proteins*), поскольку они активно синтезируются клеткой при нагревании. (Hsc70 это конститутивно (постоянно) синтезируемый гомолог Hsp70).

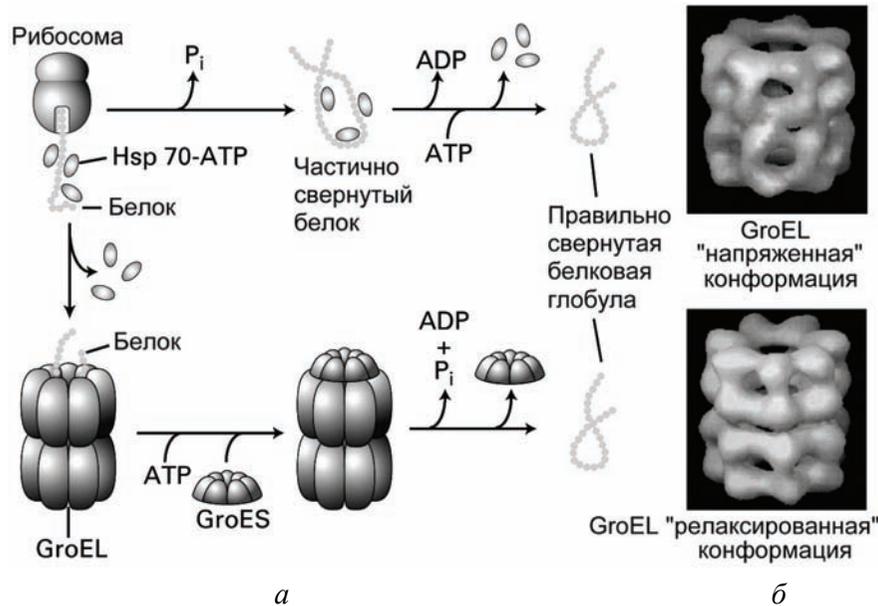


Рисунок 121 – Фолдинг белков с участием шаперонов и шаперонинов: *а* – схема фолдинга; *б* – конформации шаперонина

Связанный с АТФ Hsp70 присоединяется к гидрофильному участку белковой цепи. Гидролиз АТФ→АДФ разрешает фолдинг белковой цепи. Замена АДФ на АТФ приводит к диссоциации Hsp70 со свернутой белковой цепи (рисунок 121 сверху).

*Шаперонины* – большие цилиндрические макромолекулярные комплексы, состоящие из двух олигомерных колец (по восемь мономеров в шаперонине эукариот Tric и по семь мономеров в шаперонинах бактерий, митохондрий и хлоропластов GroEL) – обеспечивают изоляцию белковой нити на время фолдинга (рисунок 121 внизу). Связывание GroEL с АТФ высвобождает свернутый белок. Функционирование GroEL осуществля-

ется с участием *ко-шаперонина* GroES, который закрывает (кэпирует) полость шаперона на время фолдинга.

**6.5.2. Химическая модификация белков.** Почти все белки претерпевают *химическую модификацию* после синтеза на рибосоме.

Такая модификация, которая изменяет активность, время жизни или расположение в клетке белка, главным образом заключается в присоединении *либо* к свободным  $-NH_2$  или  $-COOH$  *концам* белковой цепи, *либо* к *боковым* цепям "внутренних" аминокислотных остатков специфических реакционных групп.

Хотя при биосинтезе клетка использует только 20 аминокислот, анализ белковых молекул обнаруживает до 100 аминокислот в них. "Избыточные" аминокислоты образуются в белковой молекуле именно вследствие химической модификации.

**Примеры химической модификации.** *Ацетилирование* – добавление ацетил-группы ( $CH_3CO$ ) к аминогруппе на N-конце – претерпевают до 80% всех белков (рисунок 122(а)).

Ацетилирование предохраняет белки от быстрой деградации. Ацетильные и другие химические группы могут присоединяться к специфическим аминокислотным остаткам в белках (рисунок 122).

*Фосфорилирование* и дефосфорилирование серина, треонина, тирозина и гистидина – важная обратимая химическая модификация, управляющая активностью многих белков (рисунок 122(д)).

*Гликозилирование* – это присоединение линейных или разветвленных полисахаридных цепей – к аспарагину, серину и треонину.

*Гидроксилирование* пролина и лизина в коллагене (рисунок 8.8(д)).

*Метилирование* гистидина мембранных рецепторов (рисунок 122(б)).

$\gamma$ -*Карбоксилирование* глутамата в протромбине – важном факторе свертывания крови (рисунок 122(е)).

**Протеолиз.** Другой тип необратимой посттрансляционной модификации белковых молекул не связан с изменением структуры аминокислот. Его часто называют – *процессинг*. Обычно происходит ферментативное

"отрезание" части полипептидной цепи на С- или N-конце ферментами протеазами.

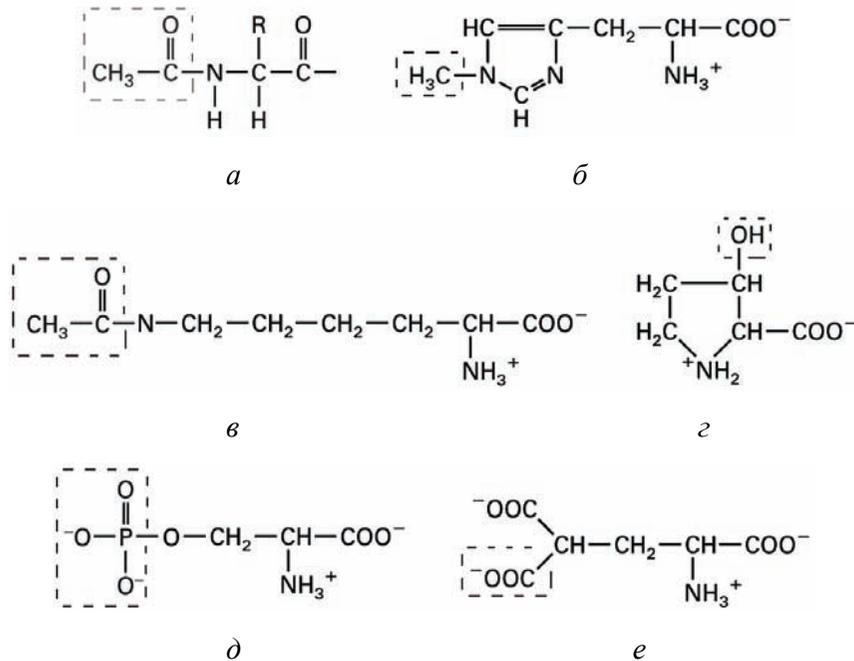


Рисунок 122 – Типичные химические модификации белков: *a* – ацетилирование N-конца; *б* – 3-метилгистидин; *в* – ацетил лизин; *г* – 3-гидроксипролин; *д* – фосфосерин; *е* – γ-карбоксихлутаминовая кислота

*Протеолитическое разрезание (протеолиз)* является обычным механизмом *активирования* ферментов, которые задействованы в процессах сворачивания крови, пищеварения, и программируемой клеточной смерти.

Посредством протеолиза также формируются активные белковые гормоны, такие, как EGF и инсулин, из больших полипептидов-предшественников.

*Самосплайсинг белков* – это относительно редкий вид процессинга белков, при котором, в отличие от протеолиза (без участия особых фер-

ментов), происходит самопроизвольное (*автокаталитическое*) вырезание внутреннего участка белковой цепи и соединение оставшихся частей в новую нить.

Вариантом самосплайсинга является самообрезание конца белковой цепи ("отбрасывание хвоста").

**6.5.3. Деграция белков.** Активность ферментов зависит от их концентрации, а значит, определяется *балансом* процессов синтеза и деграции белков в клетке.

Диапазон времени жизни белков – от нескольких минут (например, белки обеспечивающие митоз, митотические циклины) до времени жизни всего организма (например, белки в хрусталике глазного яблока).

*Эукариотические* клетки имеют *несколько* внутриклеточных протеолитических *механизмов деграции* (утилизации) в основном следующих трех типов белков

- 1) неверно свернутые (*misfolded*) или денатурированные (развернутые) белки,
- 2) "нормальные" белки, чья концентрация должна быть снижена,
- 3) внеклеточные белке, захваченные клеткой в результате, например, эндоцитоза или фагоцитоза.

Главный внутриклеточный механизм деграции – это *ферментативный протеолиз в лизосомах*, чья "кислая" среда заполнена гидролитическими ферментами (рисунок 123).

Деграция в лизосомах предназначена главным образом для протеолиза чужих белков, попадающих в клетку в результате

- 1) *эндоцитоза*,
- 2) *фагоцитоза*,
- 3) протеолиза нефункциональных органелл клетки, которые отторгаются и "перевариваются" клеткой (*аутофагия*).

**Юбиквитирование.** *Другой*, отличный от лизосомального, *цитозольный механизм* деграции белков реализуется путем модификации

лизина в белке добавлением *юбиквитина* (или убикитина, *ubiquitin*), полипептида из 76 аминокислотных остатков. Убикитированные белки деградируют затем в протеосомах (рисунок 124).

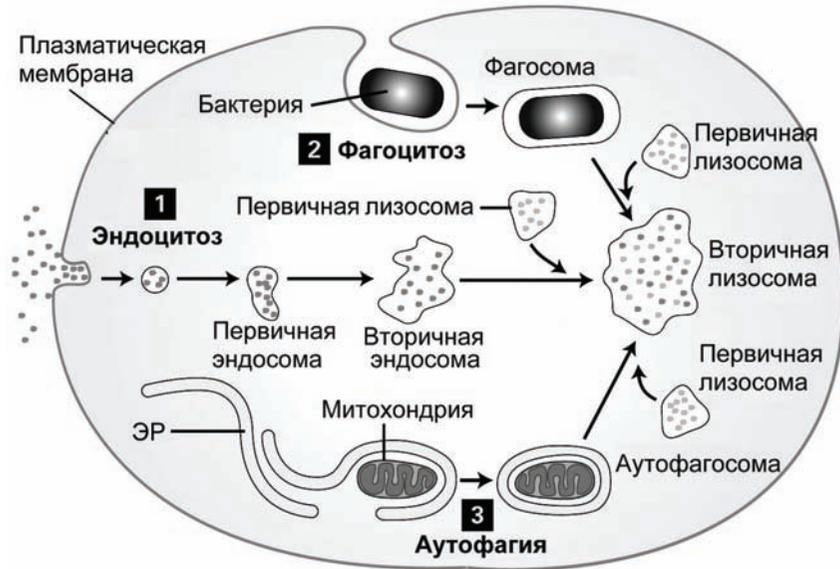


Рисунок 123 – Протеолиз в лизосомах

*Юбиквитирование* (или *убикитирование*, *ubiquitination*) осуществляется в три этапа *тремя* ферментами.

1. АТФ-зависимая активация *юбиквитин-активирующего фермента* E1 (*ubiquitin-activating enzyme*) посредством присоединения к нему молекулы юбиквитина.
2. Перенос молекулы юбиквитина на цистеин *юбиквитин-сопряженного фермента* E2 (*ubiquitin-conjugating enzyme*).
3. Формирование пептидной связи между молекулой юбиквитина, находящейся на ферменте E2, и лизином на белке, который должен деградировать, реакция катализируется ферментом *юбиквитин лигаза* E3 (*ubiquitin ligase*).

Эти три этапа *повторяются много раз*, новые молекулы юбиквитина присоединяются к уже присоединенным, в результате чего *полиубиквитиновая* цепь распознается *протеосомой*.

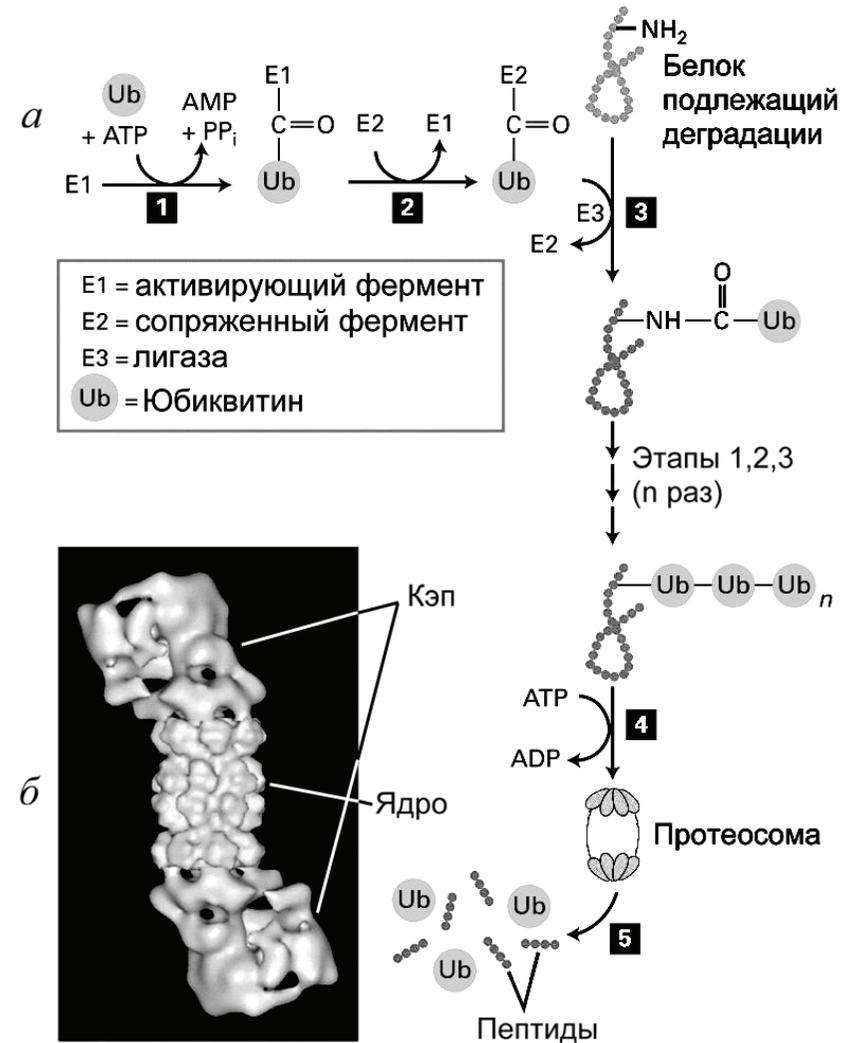


Рисунок 124 – Юбиквитиновый протеолиз: *а* – этапы протеолиза; *б* – схема протеосомы

*Протеосома* имеет полое цилиндрическое ядро, закрытое с двух сторон кэпирующими белками. Внутри протеосомы юбиквитированные белки разрезаются на короткие (7-8 остатков) пептиды множественными *протеазами*, расположенными на стенках протеосомы, а молекулы юбиквитина отделяются от белков (этап 5 на рисунке 124).

*Юбиквитиновая деградация* белков используется в двух случаях.

1. *Удаление цитозольных белков*, чья концентрация должна быть снижена.

Например, циклин должен присутствовать в клетке только во вполне определенном этапе клеточного цикла. Фосфорилирование циклина изменяет его конформацию, и внутренняя, исходно погруженная внутрь белковой глобулы, последовательность Arg-X-X-Leu-Gly-X-Ile-Gly-Asp/Asn (где X – любая аминокислота) становится доступной ферментам юбиквитинизации.

2. *Протеолиз белковых молекул неправильно свернутых (misfolding)* в эндоплазматическом ретикулуме.

*Мисфолдинг*, так же как и в предыдущем случае, делает доступными те гидрофильные части белковой нити, которые спрятаны внутрь глобулы при правильном фолдинге. Эти белки переносятся в цитозоль, где распознаются ферментами юбиквитинизации.

В обоих случаях белки содержат последовательности аминокислот, *распознаваемые* ферментами юбиквитинизации.

## 6.6. Молекулярное узнавание

Еще до того, как была определена атомная структура первых биомолекул, физик Г.Р. Крейн (H.R. Crane) сформулировал *два принципа*, в соответствии с которыми должно происходить макромолекулярное узнавание в самоассемблирующихся системах.

*Во-первых*, для обеспечения высокой специфичности между интерфейсными поверхностями обеих взаимодействующих частей должно образовываться *много слабых взаимодействий*.

Этот принцип совсем не очевиден. Может показаться, что, наоборот, лучше использовать одну, но сильную связь. Использование одной

или нескольких прочных связей, действительно, обеспечит высокую *стабильность*. Но не обеспечит *специфичность*. Поскольку одинаковое пространственное расположение всего двух (или нескольких) атомов может быть (случайно) достигнуто для, вообще говоря, произвольной комбинации взаимодействующих частиц, то это увеличивает риск образования случайных неверных комплексов. А вот использование целого *массива слабых* парных взаимодействий гарантирует специфичность, ибо каждая пара взаимодействующих атомов вносит свой вклад в суммарное взаимодействие, обеспечивая тем самым необходимую силу связи между двумя биомолекулярными объектами.

*Во-вторых*, взаимодействующие поверхности двух биомолекул должны быть геометрически (топологически) *подобны*, точнее, должны быть *комплементарны* друг другу.

Именно такая комплементарность обеспечит правильное взаимное расположение атомов так, чтобы сформировалась система множественных взаимодействий. В биологических молекулах эта комплементарность включает в себя как *геометрическую комплементарность*, когда выступы на поверхности одной молекулы точно совпадают с впадинами на поверхности другой молекулы, так и "*химическую комплементарность*", при которой в нужных позициях оказываются именно те атомы и функциональные группы, которые и формируют водородные связи или электростатическое притяжение. Такая *комплексная геометрически-химическая комплементарность* является важной для реализации *специфичности* взаимодействий.

Так выступ на одной из поверхностей не только должен точно подходить к впадине на другой, комплементарной, поверхности, но и *не даст* сформировать связь с поверхностью, у которой нет соответствующей впадины. Добавление одной метильной группы в роли такого выступа на одной из взаимодействующих поверхностей может быть достаточно для того, чтобы *исключить* связывание макромолекул. Например, метилирование рестрикционных сайтов защищает ДНК бактерий от действия рестрикционных ферментов.

С другой стороны, если по какой либо причине одна из множества водородных связей не будет сформирована, это не дестабилизирует

фатально процесс межмолекулярного связывания. Как правило, белки имеют *уникальные интерфейсные поверхности*, обеспечивающие связь *только* с необходимым партнером и *исключающие* связи с любыми другими конкурирующими молекулами.

Биомолекулы взаимодействуют через развитые интерфейсные поверхности, формируя множественную систему слабых взаимодействий, расположенных вдоль идеально комплементарных поверхностей. В *молекулярном* узнавании в большинстве случаев используются *нековалентные* взаимодействия, а ковалентное связывание происходит достаточно редко. Ковалентное связывание используется *только* при необходимости образования прочных (неразъемных) структур. *Вместо* ковалентного связывания обычно используется *комбинация водородных связей, электростатических* взаимодействий между заряженными атомами и *гидрофобные* взаимодействия.

Два принципа Крейна работают в сотнях исследованных природных системах. Особенно важно учитывать эти принципы при изучении строения и функционирования активных центров ферментов и интерфейсных областей комплементарности таких белков, как иммуноглобулины.

Функционирование практически всех белков обусловлено их *способностью связываться*, причем с высокой степенью специфичности, с другими молекулами (от простых ионов до макромолекул – белков и нуклеиновых кислот), которые называют *лигандами*.

Ферменты связываются *только* со своими *субстратами* (например, гормональные мембранные рецепторы – со специфическими гормонами).

Связывание белковых факторов со специфическими нуклеотидными последовательностями в молекуле ДНК является основным механизмом регуляции экспрессии генов.

Связывание с лигандами часто вызывает изменение конформации белка, и такой конформационный переход является неотъемлемой составной частью сложного механизма белковой активности.

*Специфичностью (specificity)* называется свойство белка связываться преимущественно с данной молекулой.

*Сродством (affinity)* называется величина, которая характеризует силу связывания белка с лигандом.

Чем точнее "подогнаны" друг к другу лиганд и место связывания лиганда в белковой молекуле как геометрически, так и химически, тем выше специфичность и сродство взаимодействия белка с лигандом.

**6.6.1. Антитела.** Способность белков различать различные молекулы по-видимому наиболее ярко выражена в *антителах* (иммуноглобулинах) – белках крови, которые животные вырабатывают в ответ на появление *антигенов*, таких как инфицирующие агенты (например, бактерии и вирусы) или определенные чуждые вещества (например, белки или полисахариды в пыльце растений) (рисунок 125).

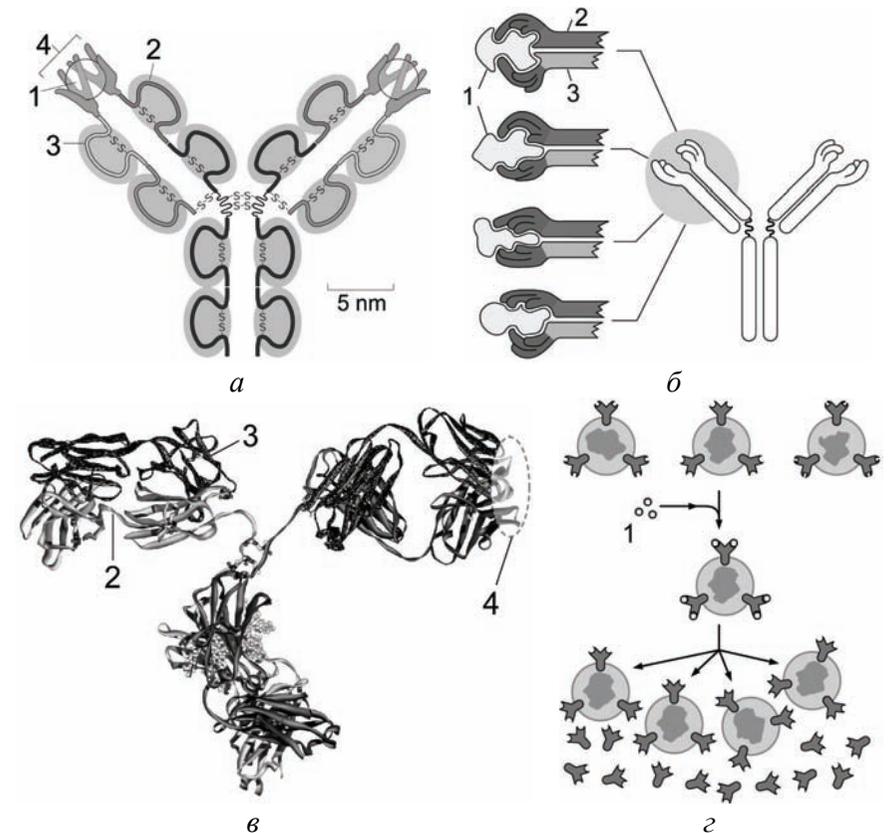


Рисунок 125 – Антитела: *a* – схема молекулы; *б* – специфичность антител; *в* – структура антитела; *z* – В-клетки; 1 – антиген; 2 – H-цепь; 3 – L-цепь; 4 – CDR

В ответ на появление антигенов организм вырабатывает большое количество антител, каждое из которых может присоединяться к различным определенным выступающим участкам – *антигенным детерминантам* или *эпитопам* – антигенов.

Антитела работают как специфические сенсоры для антигенов, образуя комплексы антитело–антиген, которые стимулируют каскад защитных реакций в клетках иммунной системы.

Все антитела имеют *Y-образную форму* и образованы из двух идентичных "*тяжелых*" Н-цепей (*heavy*) и двух идентичных "*легких*" L-цепей (*light*) (рисунок 125). Каждая "рука" (*arm*) молекулы антитела образована одной Н-цепью и одной L-цепью, связанных между собой дисульфидными мостиками. На конце каждой руки расположены *шесть* полипептидных петель, образующих *область связывания антигена* – *участок комплементарности*, CDR (*complementary-determining region*), к эпитопу антигена.

Структура и последовательность этих шести петель у разных антител чрезвычайно разнообразна, что обеспечивает *высокую специфичность связывания* антитела именно с комплементарным антигеном. Взаимодействие CDR антитела с эпитопом антигена является *комплементарным* во всех отношениях – форма поверхности эпитопа точно совпадает с формой поверхности CDR (рисунок 125(б)), и такой совершенный контакт между поверхностями, стабилизированный системой нековалентных связей, обеспечивает превосходную специфичность связывания антигенов антителами.

Специфичность антител настолько высока, что они могут различать отдельные клетки и, в некоторых случаях, белки, которые отличаются единственной аминокислотой.

Антитела синтезируются белыми кровяными тельцами, называемыми В-лимфоцитами или В-клетками (рисунок 125(г)). Антитела расположены на поверхности этих клеток и являются рецепторами, распознающими специфический антиген.

Связывание этих присоединенных антител данной В-клетки с соответствующим антигеном *стимулирует* В-клетку к началу размножения и активного синтеза антител, которые выводятся в плазму крови и обладают

той же специфичностью, что и "сигнальные" антитела на поверхности В-клетки. Антитела связываются с инфицирующими агентами, затем такие агрегаты либо поглощаются фагоцитами для протеолитической деградации ("клеточного переваривания"), либо деградируют в кровотоке с помощью специфических ферментов.

В процессе размножения В-клеток у антител может происходить модификация центров связывания. Те дочерние клетки, у антител которых центры связывания более эффективны, чаще и прочнее связываются с антигенами и, тем самым, имеют преимущество в дальнейшем росте и размножении. Те же дочерние клетки, центры связывания которых связываются с антигенами слабее, размножаются хуже. Так осуществляется отбор и "*подгонка*" иммунной системы под ксенобиотики.

Согласно клонально-селекционной теории чрезвычайное разнообразие антител объясняется тем, что в зародышевых клетках представлены не целые гены легких и тяжелых цепей антител, а части, фрагменты этих генов. Там эти части собраны в "кассеты" – отдельно много сортов для каждого из трех фрагментов переменного домена тяжелой цепи, отдельно – для легкой цепи; отдельно – константные домены каждой цепи; отдельно – гибкие линкеры, связывающие домены антитела. При образовании соматических иммунных клеток эти фрагменты генов всячески перетасовываются, а кроме того ещё каким-то неизвестным образом мутируют в своих гипервариабельных участках, после чего соединяются в целые гены легких и тяжелых цепей антител.

**6.6.2. Моноклональные антитела.** В-клетки животного, инфицированного данным *антигеном*, синтезируют множество различных антител, связывающихся с различными участками (*антигенными детерминантами* или *эпитопами*) этого антигена. В большинстве случаев использование такой однородной смеси разных антител не целесообразно, необходимо выделить лишь одно характеристическое антитело. Для этого надо выделить ту единственную В-клетку, которая синтезирует это антитело, и, затем, культивировать её. Однако число актов деления В-клеток ограничено, поэтому не удастся синтезировать необходимое количество антител.

В конце 70-х годов XX века эта проблема была решена. В-клетки были соединены с "бессмертными" раковыми клетками. Такие комбинированные клетки можно культивировать, синтезируя нужное количество антител. Такие антитела называются *моноклональными антителами*, поскольку они произведены клонированием идентичных комбинированных клеток. Сегодня моноклональные антитела могут быть синтезированы для практически любого мыслимого антигена.

**6.6.3. Ферменты.** В отличие от антител, которые связывают лиганды и просто передают их другим компонентам иммунной системы, *ферменты* химически изменяют свои лиганды, которые в случае ферментативных реакций называют *субстратами*.

Ферментом называется белок, который участвует в биохимической реакции и изменяет её скорость, но не входит в состав как исходных веществ, так и продуктов реакции и остается неизменным после завершения химической реакции.

Практически все химические реакции в клетке катализируются ферментами. Также как и неорганические катализаторы, ферменты, поскольку они не входят в состав реагентов, не могут повлиять на движущую силу химической реакции – изменение свободной энергии  $\Delta G$  в ходе реакции. Они не могут вызвать протекание реакций, для которых в данных условиях  $\Delta G > 0$ , а могут лишь ускорять реакции в том случае, если  $\Delta G < 0$ .

*Механизм действия* ферментов связан с тем, что они образуют промежуточные соединения с субстратами и тем самым *изменяют путь реакции*, причем новый путь характеризуется меньшей высотой энергетического барьера, т.е. меньшей энергией активации  $E'_A$  по сравнению с  $E_A$  в исходной (некатализируемой) реакции (рисунок 126).

Традиционные катализаторы работают в экстремальных условиях – при высоких температурах и давлениях, при экстремальной кислотности среды или в органических растворителях. Ферменты же функционируют в водном растворе при физиологических условиях – температура  $37^\circ\text{C}$ , давление 1 атмосфера,  $\text{pH} = 6,5\text{--}7,5$ .

Ферменты характеризуются высокой активностью и высокой специфичностью.

*Каталитическая активность* фермента характеризует изменение скорости данной реакции при введении в реакцию систему фермента. Колоссальная активность ферментов позволяет им ускорять реакции в  $10^6\text{--}10^{12}$  раз, по сравнению со скоростью некаталитических реакций в тех же условиях.



Рисунок 126 – Влияние фермента на величину энергетического барьера

На сегодняшний день известно более 10000 ферментов. Их *классификация* приведена в Каталоге ферментов (Enzyme Catalog, EC) Номенклатурного комитета Международного общества биохимии и молекулярной биологии (International Union of Biochemistry and Molecular Biology): <http://www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme/>.

Ферменты обеспечивают не только синтез и деградацию макромолекул, но и клеточную сигнализацию, и трансмембранный транспорт веществ. Большинство ферментов работает в клетке, но есть и ферменты, секретируемые клеткой во внеклеточное пространство для работы в кровотоке, пищеварительном тракте и даже за пределами организма.

Правильность сворачивания (*фолдинг*) белковой цепи определяется тем, насколько точно радикалы необходимых аминокислот расположатся в пространстве, обеспечивая как однозначную *фиксацию* молекулы субстрата на ферменте, так и *активацию* необходимого химического превращения.

В нативной (функциональной) конформации фермента эти радикалы аминокислот формируют *активный центр фермента* – область ферментативной молекулы, в которой происходит связывание и превращение субстрата (рисунок 127).

Каталитические участки и участки связывания субстрата могут быть как объединены в единую область, так и разнесены пространственно.

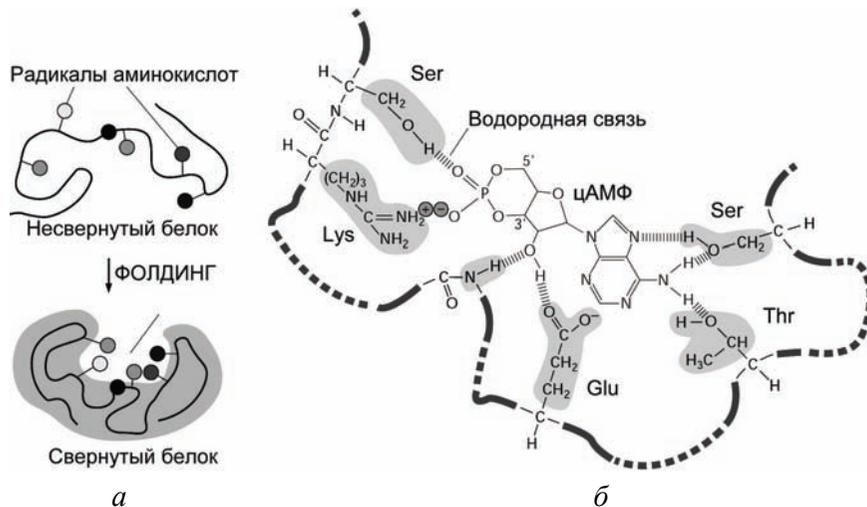


Рисунок 127 – Образование активного центра фермента: *а* – сворачивание белковой цепи; *б* – система водородных и ионных связей между ферментом и субстратом (цАМФ)

**6.6.4. Протеин-киназа А.** В качестве примера рассмотрим работу *протеин-киназы А*, РКА (*protein kinase А*) – цАМФ-зависимой протеин-киназы.

цАМФ – *циклический аденозин монофосфат*, который образуется из АТФ в процессе реакции, катализируемой ферментом *аденилатциклазой*, и выполняет роль медиатора внеклеточных сигналов в клетке животных (рисунок 128). В нашем случае цАМФ активирует протеин-киназу А.

Протеин-киназа А, как и остальные протеин-киназы, *переносит* фосфатную группу (фосфорилирует) с АТФ на *серин, треонин* или *тирозин*, тем самым изменяя активность необходимых белков, в том числе и в ответ на внешнее воздействие. Все протеин-киназы принадлежат к одному белковому семейству, поэтому структура активного центра и механизм фосфорилирования у них подобны.

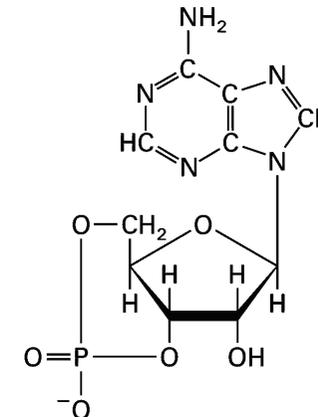


Рисунок 128 – Циклический аденозин монофосфат (цАМФ)

Активный центр протеин-киназы А расположен на каталитической субъединице, построенной из 240 аминокислот, которая называется *киназное ядро (kinase core)*. Киназное ядро, состоящее из *двух* доменов – большого и малого, разделенных *глубокой щелью* ("карманом") – связывает АТФ и белок-субстрат и активирует перенос фосфатной группы с АТФ на белок-субстрат. Активный центр формируют аминокислотные остатки *обоих доменов* киназного ядра.

Аденоиновое кольцо АТФ *точно* укладывается в основание щели между двумя доменами и фиксируется там "глициновой крышкой", которая образована последовательностью Gly–X–Gly–X–X–Gly–X–Val (X – любая аминокислота) (рисунок 129).

АТФ является общим субстратом для всех протеин-киназ, однако каждая протеин-киназа распознает специфический белок-субстрат *по*

специфической для него последовательности аминокислот. Для протеин-киназы А такая последовательность: Arg-Arg-X-Ser-Y, где X – любая аминокислота, Y – гидрофобная аминокислота.

Каталитическое ядро протеин-киназы А может принимать одну из двух конформаций – "открытый карман" или "закрытый карман". В "открытой" конформации субстраты могут "погрузиться" в карман и связаться с активным центром.

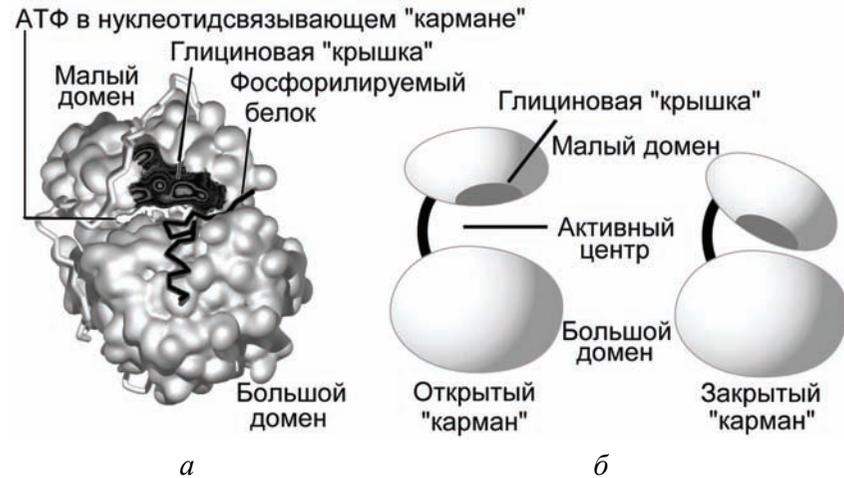


Рисунок 129 – Протеин-киназа А: а – схема киназного ядра; б – конформации киназного ядра

Связывание субстратов стимулирует конформационный переход молекулы фермента, карман закрывается глициновой крышкой и активируется перенос фосфатной группы с АТФ на белок-субстрат.

Это пример механизма "индуцированного соответствия" (*induced fit*) фермента и субстрата, когда топология активного центра фермента "подгоняется" под топологию субстрата.

Молекулы АДФ и фосфорилированного белка-субстрата теряют сродство к ферменту после фосфорилирования, фермент претерпевает конформационный переход в "открытую" форму, "поднимается" глициновая крышка, карман открывается, и модифицированные субстраты

выходят из него. Кинетические исследования показали, что "движение" глициновой крышки представляет собой процесс в 20 раз более медленный, чем перенос фосфатной группы с АТФ на белок.

Ферменты, участвующие в общем метаболическом пути, часто объединяются друг с другом в молекулярные конвейеры, либо связываясь в белковые ассоциаты, либо располагаясь на общем "кронштейне"-носителе, либо объединяясь на генетическом уровне в единый ген, что превращает их в субъединицы одного олигомерного фермента (рисунок 130).

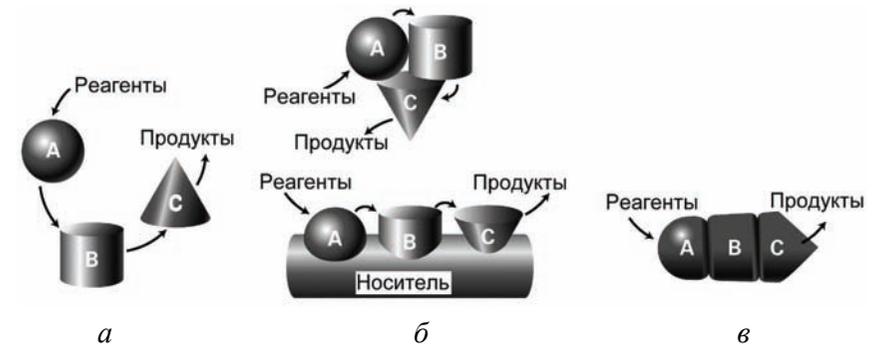


Рисунок 130 – Молекулярные конвейеры ферментов: а – диффузионный механизм работы конвейера; б – образование ассоциатов ферментов или фиксация ферментов на общем кронштейне; в – слияние генов в один общий приводит к синтезу единого олигомерного многофункционального белка

## 6.7. Молекулярные моторы

Механическое перемещение клеток обеспечивается специализированными ферментами, которые называют молекулярными моторами.

Молекулярные моторы создают либо линейное, либо вращательное движение (таблицы 6 и 7). Эти механохимические ферменты превращают энергию гидролиза АТФ или градиента ионов в механическую силу.

Некоторые "моторные" белки являются компонентами макромолекулярных ассоциатов, таких, как рибосома, другие, которые перемещаются вдоль нитей цитоскелета, – нет. Последние объединяют в группу,

включающую *миозины*, *кинезины* и *динеины* – линейные моторные белки, которые перемещают присоединенные к ним "грузы" вдоль *микротрубочек* или *микротрубочек* (рисунок 131).

Таблица 6 – Молекулярные моторы: источник энергии, структура и компоненты

Мотор	Источник энергии	Структура, компоненты
Линейные (поступательные) моторы		
ДНК-полимераза	АТФ	Олигомерная полимераза в реплисоме
РНК-полимераза	АТФ	Олигомерная полимераза в комплексе элонгации транскрипции
Рибосома	ГТФ	Фактор элонгации 2 (EF2) связанный с рибосомой
Миозины	АТФ	Тяжелая и легкая цепи, головной домен с АТФазной активностью и центром связывания с микрофиламентом
Кинезины	АТФ	Тяжелая и легкая цепи, головной домен с АТФазной активностью и центром связывания с микротрубочкой
Динеины	АТФ	Множественные тяжелые и легкие цепи, головной домен с АТФазной активностью и центром связывания с микротрубочкой
Вращающие моторы		
Бактериальный мотор жгутика	градиент $H^+/Na^+$	Статорные и роторные белки, жгутик
АТФ-синтаза $F_0F_1$	градиент $H^+$	Множественные субъединицы, образующие $F_0$ и $F_1$ частицы
Мотор вирусного капсида	АТФ	Коннектор, про-головка, РНК, АТФаза

В мышцах или в жгутиках эукариот глобулярная головка *линейного* (поступательного) моторного белка за счет энергии гидролиза АТФ перемещает актиновую нить относительно микротрубочки (рисунок 131(а)).

ДНК и РНК полимеразы также представляют собой *линейные* (поступательные) моторы, поскольку они перемещаются вдоль ДНК в ходе репликации и транскрипции.

*Вращающие моторы* создают вращательное движение, обеспечивающее вращение жгутиков, упаковку ДНК в капсид вируса и синтез АТФ.

Таблица 7 – Молекулярные моторы: расположение в клетке и создаваемое движение

Мотор	Расположение в клетке	Создаваемое движение
Линейные (поступательные) моторы		
ДНК-полимераза	Ядро	Транслокация вдоль ДНК в ходе репликации
РНК-полимераза	Ядро	Транслокация вдоль ДНК в ходе транскрипции
Рибосома	Цитоплазма, эндоплазматический ретикулум	Транслокация вдоль мРНК в ходе трансляции
Миозины	Цитоплазма	Перемещение везикул, сокращение
Кинезины	Цитоплазма	Перемещение везикул и хромосом в ходе митоза
Динеины	Цитоплазма	Перемещение везикул, биение ресничек и жгутиков эукариот
Вращающие моторы		
Бактериальный мотор жгутика	Плазматическая мембрана	Вращение присоединенного к мотору жгутика
АТФ-синтаза $F_0F_1$	Внутренняя мембрана митохондрии, мембрана тилакоида, плазматическая мембрана бактерии	Вращение $\gamma$ -субъединицы, приводящее к синтезу АТФ
Мотор вирусного капсида	Капсид	Вращение коннектора, приводящее к упаковке ДНК

Движущая сила *перемещения бактерий* создается вращательным движением белкового комплекса, расположенного в бактериальной мембране. *Ионы* перемещаются в направлении электрохимического градиента сквозь *неподвижное кольцо* белков, которое называется *статор* и которое расположено в мембране. Вращающий момент, создаваемый статором, приводит в движение *внутреннее кольцо* белков и присоединенный к нему *жгутик* (рисунок 131(б)).

Аналогично устроены митохондриальная, тилакоидная и бактериальная АТФ-синтазы ( $F_0F_1$ -комплекс).

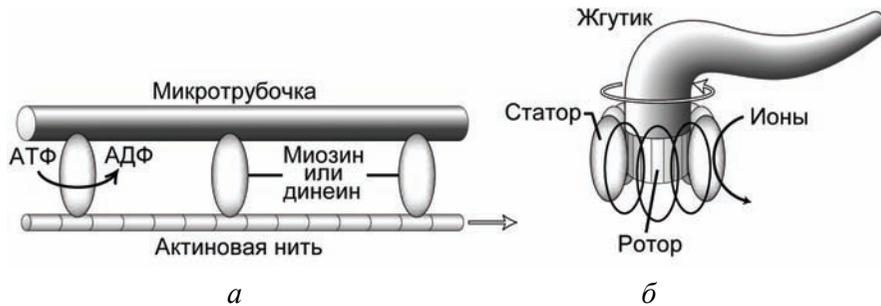


Рисунок 131 – Принцип работы молекулярных моторов: а – линейный мотор; б – вращающий мотор

**6.7.1. АТФ-синтаза.** АТФ-синтаза является комбинацией двух моторов, называемых  $F_0$  и  $F_1$ , которые используют различные источники энергии для генерации механического вращения (рисунок 132).

Мембранный мотор  $F_0$  использует электрохимический градиент, а цитозольный мотор  $F_1$  работает за счет энергии гидролиза АТФ.

В АТФ-синтазе эти два мотора объединены так, что один из них выполняет функцию мотора, а другой – генератора.

Вращение мотора  $F_0$  вследствие потока протонов через мембрану может быть использовано для синтеза АТФ в субъединице  $F_1$ . И наоборот, вращение мотора  $F_1$  за счет гидролиза АТФ может быть использовано для перекачивания протонов через мембрану, тем самым для создания протонного градиента.

Мотор  $F_0$  состоит из цилиндрического ротора и статора, состоящего из 10–14 (в зависимости от вида организма) идентичных субъединиц, зафиксированных в мембране. Мембрана обеспечивает тот барьер, относительно которого и существует градиент протонов

Цилиндрический ротор заканчивается в верхней части эксцентриком, который проходит между каталитическими доменами мотора  $F_1$ .

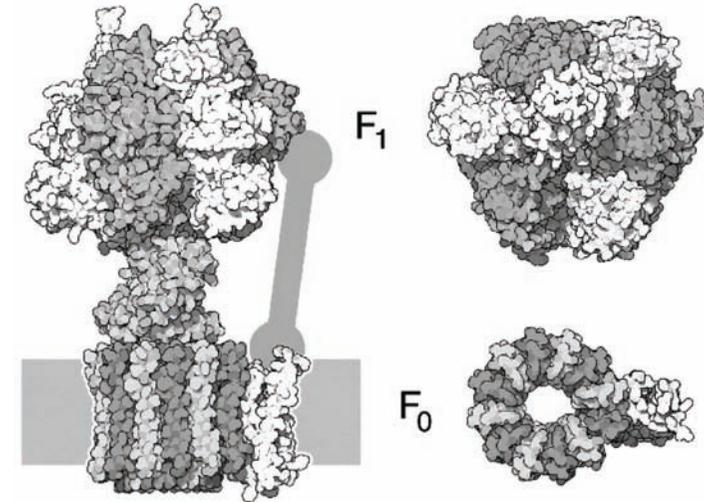


Рисунок 132 – Схема АТФ-синтазы. Справа показан вид сверху каталитической цитозольной части мотора  $F_1$  и мембранных доменов мотора  $F_0$

При вращении ротора эксцентрик поочередно механически деформирует (стимулирует) каталитические субъединицы АТФ-мотора  $F_1$ , активизируя их для катализа присоединения фосфатной группы к АДФ.

Подробнее работа АТФ-синтазы будет рассмотрена ниже (см. п.8.4.2).

Все белковые моторы обладают тремя общими свойствами:

- 1) способность превращать энергию источника – либо АТФ, либо градиента ионов – в поступательное или вращательное движение,
- 2) способность к связыванию и перемещению вдоль филаментов цитоскелета, цепи нуклеиновой кислоты или белкового ассоциата,
- 3) согласованное движение в нужном направлении.

**6.7.2. Линейные моторы.** Моторные белки, которые перемещаются вдоль филаментов цитоскелета, могут транспортировать "грузы", которыми в случае клеток мышц и жгутиков эукариот представляют собой мик-

ротрубочки или В-трубочки, соответственно. Эти же белки-моторы могут *транспортировать* хромосомы и везикулы вдоль филаментов цитоскелета (рисунок 133).

Два наиболее изученных моторных белка, это *миозин*, который перемещается вдоль актиновых нитей, и *кинезин*, который перемещается вдоль микротрубочек.

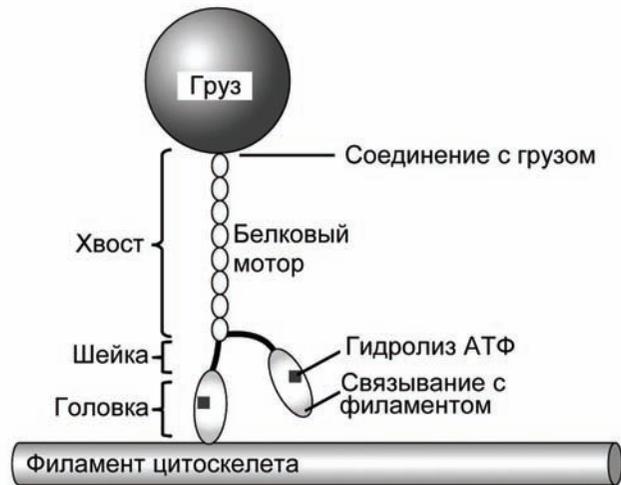


Рисунок 133 – Транспорт груза кинезином

Глобулярные головки миозина и кинезина связываются с филаментами цитоскелета, а фибриллярный "хвост" присоединяется "грузу", в нашем случае – к везикуле. Гидролиз АТФ в глобулярных головках стимулирует "ходьбу" глобулярных головок вдоль филамента, посредством повторяющихся циклов конформационных изменений.

Эти два моторные белка имеют *различные* принципы реализации механического движения.

Каждая *миозиновая* молекула осуществляет *один* "рабочий ход" ("power stroke") за раз – она связывается с актином, тянет его (точнее, держит), а затем отсоединяется от актима.

*Кинезин*, напротив, после присоединения к микротрубочке совершает множество "актов" перемещения, и только в конце "работы" кинезин отсоединяется от микротрубочки.

Эти *функциональные различия* используются для *различных* биологических операций.

Молекулы *миозина* входят в состав толстых (массивных) миозиновых филаментов (комплексов), которые и перемещаются вдоль актиновых нитей – каждый миозин совершает свой "рабочий ход" и уходит в сторону, уступая пространство для работы соседних миозинов.

*Кинезин* работает более автономно. Он используется в качестве "грузовика" для перевозки груза вдоль микротрубочки. Он должен соединиться с трубкой и двигаться вдоль нее.

Несмотря на эти функциональные различия, миозин и кинезин демонстрируют *подобие* в молекулярной организации, которая используется для создания "действующей силы".

Все миозины имеют *сходную* организацию. Рассмотрим структуру *миозина II*, который обеспечивает мышечное сокращение (рисунок 134).

**6.7.3. Миозин.** Миозин состоит из одной или двух тяжелых цепей и нескольких легких цепей.

*Тяжелые цепи* состоят из *трех* типов доменов: *головка*, *шейка* и *хвост*. Два глобулярных домена *головки* представляют собой специализированные АТФазы, которые преобразуют гидролиз АТФ в движение. Причем АТФазная активность головок *максимальна* тогда, когда они связаны с актином.

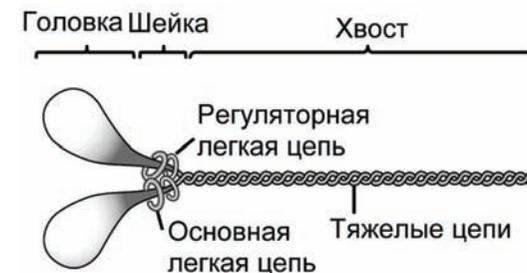


Рисунок 134 – Схема миозина II

Головка заканчивается  $\alpha$ -спиральной *шейкой*, с которой нековалентно связаны *легкие цепи* (надеты на шейку). Эти легкие цепи *предназначены* для (1) превращения небольших конформационных изменений в головке в большие пространственные смещения молекулы и для (2) регулирования активности головки. Они придают *жесткость* шейке и могут выполнять функцию ручки рычага для головки.

Нитеобразные *хвостовые домены* содержат связывающие центры, которые определяют специфическую активность конкретного миозина.

Моторный глобулярный домен миозина (головка) удлиннен, а центр связывания АТФ находится вблизи его центра (рисунок 135).

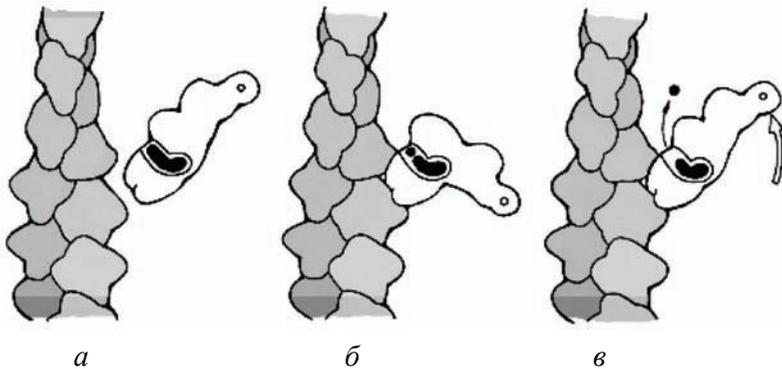


Рисунок 135 – Три стадии рабочего цикла миозина

В релаксированном состоянии миозин *изогнут*, а конформационный переход, индуцированный связыванием с АТФ, переводит миозин в *распрямленное* состояние.

Головка миозина состоит из *нескольких функциональных частей*.

Большой *каталитический* домен связывается с АТФ и с актином.

Индукцированное связыванием с АТФ изменение конформации каталитического домена стимулирует изменение *конвертерного* (передающего) домена, которое усиливается *доменом-рычагом* и совершает смещение конца рычага на 10 нм. В разных формах миозина концы этого *рычага* присоединены к соответствующим опорам для выполнения специфической работы.

Рабочий цикл миозина содержит *три* этапа (рисунок 135).

На *первом* этапе (в *исходном* состоянии) миозин связан с АТФ и не связан с актином (рисунок 135(а)).

На *втором* этапе АТФ гидролизуется на АДФ и фосфат, что вызывает такую конформацию актин-связывающего интерфейса, которая позволяет связывание с актином, а миозин принимает изогнутую форму (рисунок 135(б)).

На *третьем* этапе фосфат диссоциирует, вызывая выпрямление миозина, что и позволяет совершить "рабочий ход" (рисунок 135(в)).

Замена АДФ на АТФ приводит к диссоциации миозина от актино-вой нити и переводит миозин в *исходное* состояние

**6.7.4. Кинезин.** Кинезин использует принципиально другой подход для движения (рисунок 136). В кинезине реализуется необычное *чередование* переходов порядок-беспорядок (или упорядочение-разупорядочение) в коротком участке белковой цепи, который называется *шейка* (или *шейка-линкер*, *neck linker*), связывающий глобулярный моторный домен с фибриллярным хвостом.

Вследствие гидролиза АТФ шейка изменяет конформацию из *неупорядоченного* состояния в *упорядоченную* форму, совершая при этом "рабочий ход".

Моторный домен кинезина имеет особый *паз-желоб*, в который входит (укладывается) и из которого выходит шейка-линкер, в зависимости от химической "команды", временно *обратно* связываясь с моторным доменом.

"Рабочий ход" совершается тогда, когда шейка упорядочивается и укладывается в паз, объединяясь с моторным доменом. Весь тот "груз", который присоединен к шейке-линкеру, за один "рабочий ход" перемещается на 8 нм.

Рабочий цикл кинезина начинается с *исходного* состояния, в котором одна (обозначена белым цветом) субъединица пуста, а с другой (серой) связана АДФ (рисунок 136, вверху).

АТФ *связывается* с пустой субъединицей, что вызывает *конформационный переход* в "белой" субъединице, шейка упорядочивается,

"укладывается" в желоб и прочно связывается с глобулярной головкой. При этом белая субъединица *отрывает* "серую" субъединицу от микротрубочки, *перемещает* её *вперед* по ходу движения" (средняя часть рисунка 136), где "серая" субъединица *снова связывается* с микротрубочкой. В результате связывания "серой" субъединицы с микротрубочкой АДФ диссоциирует.

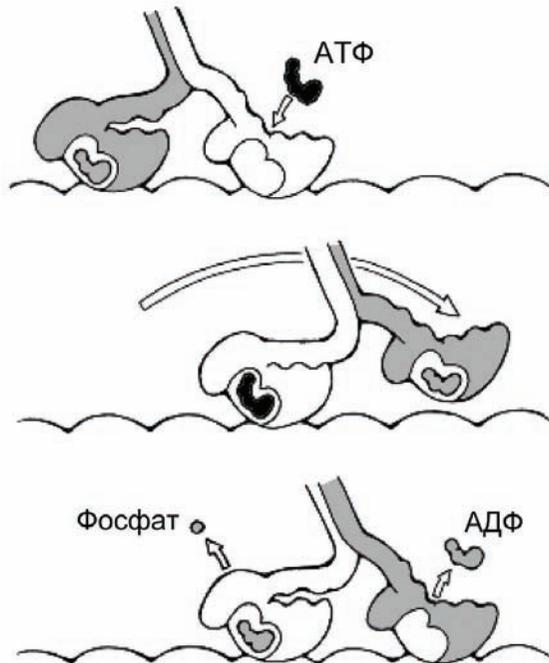


Рисунок 136 – Этапы рабочего цикла кинезина

Диссоциация АДФ от "серой" субъединицы и высвобождение фосфата из "белой" субъединицы приводят к *обратному переходу* шейки "белой" субъединицы *из упорядоченной в разупорядоченную* форму и *отсоединению* её от желоба глобулярной головки, что *возвращает* всю систему в исходное состояние.

Последовательные *циклы-шаги* позволяют кинезину *двигаться* вдоль микротрубочки

И миозин, и кинезин реагируют на наличие третьей фосфатной группы в молекуле АТФ и *используют* гидролиз АТФ для генерации силового импульса в результате конформационного перехода.

**6.7.5. Саркомеры.** Хвостовые домены сотен молекул миозина, сплетаясь вместе, образуют *толстые миозиновые филаменты*. Сократительные элементы (*саркомеры*) мышечных волокон позвоночных состоят из чередующихся толстых миозиновых филаментов и тонких актиновых нитей (рисунок 137). Актиновые нити крепятся к *Z-дискам*. *Саркомером* называется продольная единица, ограниченная двумя Z-дисками.

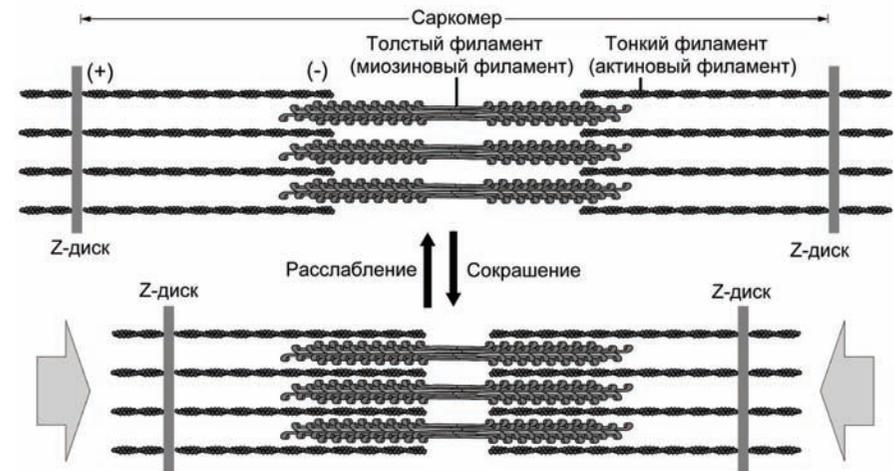


Рисунок 137 – Мышечное сокращение

Сокращение мышечных волокон обусловлено *продольным скольжением* толстых миозиновых и тонких актиновых филаментов друг относительно друга. Согласованные конформационные изменения сотен головок "протягивают" миозиновые и актиновые филаменты друг относительно друга. Миозиновые головки шаг за шагом *"идут"* вдоль актиновых волокон.

Как показано на рисунке 135, миозин претерпевает серию конформаций в ходе каждого шага. За цикл миозин должен поочередно принять

как минимум три конформационных состояния: (1) АТФ состояние, не связанное с актином, (2) АДФ-Р состояние, связанное с актином, (3) состояние после завершения "протягивания" актиновой нити.

## 6.8. Механизмы регуляции функций белков

Большинство клеточных процессов *взаимозависимы*, и их скорость *зависит* от текущей потребности клетки в них.

**6.8.1. Аллостерия.** Главным механизмом регулирования функции белков является *аллостерическое регулирование* – изменение третичной или четвертичной структуры белка *в ответ* на связывание с любым *лигандом* (ингибитором, активатором, субстратом или всеми тремя).

**Кооперативность.** Зачастую связывание с белком одного лиганда изменяет величину сродства белка по отношению к связыванию последующих лигандов.

Такой тип аллостерии называется *кооперативностью*.

Кооперативность позволяет мультидоменным белкам *гораздо сильнее* реагировать на изменения в концентрации лиганда, чем это следовало бы из простого химического равновесия при данной концентрации.

В случае *положительной кооперативности* последующее связывание облегчается.

В случае *отрицательной кооперативности* последующее связывание ингибируется.

Например, связывание кислорода одним из четырех доменов *гемоглобина* индуцирует такие конформационные изменения, которые облегчают связывание кислорода с тремя оставшимися доменами – положительная кооперативность.

**Аллостерический переход.** Связывание с лигандом может индуцировать аллостерическое освобождение каталитической субъединицы или переход в состояние с иной активностью.

Например, инактивированная *протеин-киназа А* может существовать в виде тетрамерного белка, состоящего из двух каталитических (рисунок 129) и двух регуляторных доменов. Каждый регуляторный

домен имеет *псевдосубстратную последовательность* аминокислот, с которой связываются каталитические домены, иными словами регуляторные домены блокируют работу каталитических доменов, ингибируют их активность.

Активация ("включение") протеин киназы осуществляется сигнальной молекулой *циклического аденозинмонофосфата, цАМФ* (рисунок 128). Связывание цАМФ с регуляторным доменом индуцирует конформационное изменение в *псевдосубстратной* последовательности, *сродство* каталитических доменов к регуляторным резко *снижается* и каталитические домены *освобождаются*.

Таким образом, при росте концентрации цАМФ (в ответ на внешнее событие) *киназный тетрамер диссоциирует* на две мономерные каталитические субъединицы и одну димерную регуляторную субъединицу (рисунок 138).

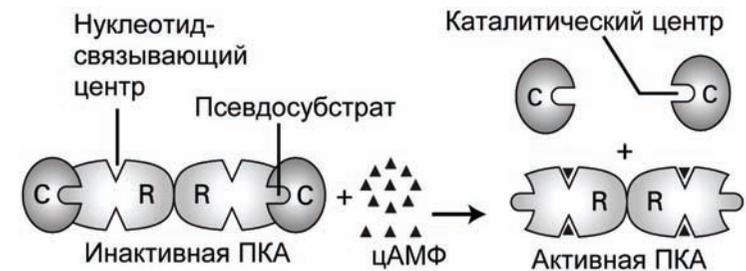


Рисунок 138 – Активация протеин-киназы А (ПКА), индуцированная лигандом

Когда внешний сигнал исчезает и уровень цАМФ снижается, активность протеин-киназы А "выключается", поскольку восстанавливаются инактивные тетрамеры.

Многие мультидоменные ферменты претерпевают аллостерические превращения, которые изменяют *структуру и свойства* субъединиц, но *не вызывают отделение* субъединиц друг от друга. При этом активность белка в состоянии *с присоединенным лигандом отличается* от активности состояния *без лиганда*.

Например, шаперонин GroES (рисунок 121), состоящий из двух мультисубъединичных колец, может существовать в двух состояниях:

- 1) "напряженное" пептид-связывающее состояние,
- 2) "релаксированное" пептид-высвобождающее состояние.

Связывание АТФ с одним из колец шаперонина вызывает расширение полости обеих колец и переключение в релаксированное состояние.

**6.8.2. Кальций-связывающие белки-переключатели.** Для изменения активности ферментов часто используются кальций и ГТФ.

Ионные насосы в клеточной мембране поддерживают *низкую* концентрацию ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоле ( $<10^{-7}$  М), *выкачивая* ионы из клетки или *закачивая* их в эндоплазматический ретикулум. Соотношение концентраций кальция в цитозоле и вне его достигает 10–100 раз.

*Сенсорам* увеличения концентрации кальция в цитозоле являются  $\text{Ca}^{2+}$ -связывающие белки, в частности принадлежащие к *EF-hand*-семейству, все члены которого имеют мотив "спираль-петля-спираль", обсуждавшийся ранее (рисунок 115(a)).

Основатель (прародитель) этого семейства белок *кальмодулин* присутствует во всех эукариотических клетках, как в виде субъединицы сложных белков, так и индивидуально в виде мономера. Гантелеобразная молекула кальмодулина содержит четыре  $\text{Ca}^{2+}$ -связывающих центра, имеющих константу равновесия  $K \approx 10^{-6}$  М (рисунок 139).

Связывание  $\text{Ca}^{2+}$  с кальмодулином индуцирует изменение его конформации, в результате чего кальмодулин *обвивается* вокруг  $\alpha$ -спиралей различных белков, тем самым резко изменяя их активность.

Таким образом, кальмодулин и родственные ему *EF-hand*-белки выполняют функцию *переключающих белков* (белков-переключателей), изменяющих активность других белков согласованно с изменением концентрации кальция в цитозоле.

**6.8.3. ГТФазные переключатели.** Другую группу внутриклеточных белков-переключателей составляет *суперсемейство ГТФаз*.

К таким ГТФамам относятся, например, белок Ras (рисунок 114) и  $\text{G}_\alpha$ -субъединица тримерного G-белка.

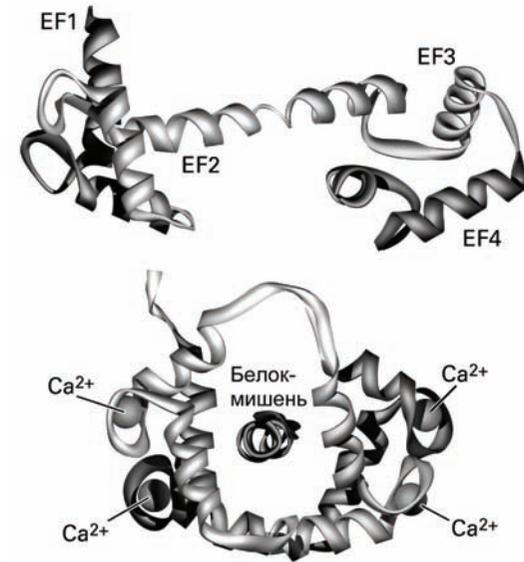


Рисунок 139 – Превращение, стимулируемое связыванием  $\text{Ca}^{2+}$  с кальмодулином

И Ras, и  $\text{G}_\alpha$  связываются с плазматической мембраной и играют ключевую роль в процессах клеточной сигнализации, размножения и дифференциации. Другие члены этого суперсемейства ГТФаз принимают участие в процессе *синтеза белка*, в *транспорте* белков между ядром и цитоплазмой, *формировании* окаймленных пузырьков и их *слиянии* с определенной мембраной, в процессах *реорганизации* актинового цитоскелета.

Все ГТФазные переключающие белки *существуют в двух формах* (рисунок 140):

- 1) *активная* ("вкл") форма с присоединенной молекулой ГТФ (гуанозин трифосфат), которая управляет активностью специфических белков,
- 2) *неактивная* ("выкл") форма со связанной молекулой ГДФ (гуанозин дифосфат).

ГТФазная активность этих белков-переключателей приводит к медленному гидролизу ГТФ в ГДФ, "выключая" белок. Последующая замена ГДФ на ГТФ, восстанавливающая активную форму, происходит ещё более медленно.

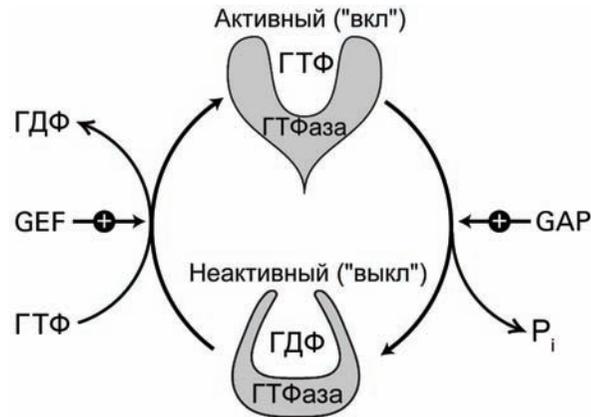


Рисунок 140 – Циклирование ГТФазы между активной и неактивной формами

Такая активация белка носит временный характер и управляется другими белками, осуществляющими аллостерическое регулирование ГТФазного белка-переключателя.

Таковыми белками, например, являются белки GAP (*GTPase-accelerating proteins*) и RGS (*regulators of G-protein signaling*), ускоряющие гидролиз ГТФ. Белки GDI (*guanine nucleotide dissociation inhibitor*), напротив, замедляют гидролиз. Реактивация ГТФазного белка-переключателя ускоряется белками GEF (*guanine nucleotide-exchange factors*).

**6.8.4. Циклическое фосфорилирование-дефосфорилирование.** Циклическое фосфорилирование-дефосфорилирование белков регулирует многие клеточные процессы.

Одним из наиболее распространенных механизмов регуляции активности белков является фосфорилирование – присоединение или отсоединение фосфатной группы к оксиаминокислотам: тирозину, серину и треонину.

Фосфорилирование катализируют протеин-киназы, а дефосфорилирование – протеин-фосфатазы (рисунок 141).

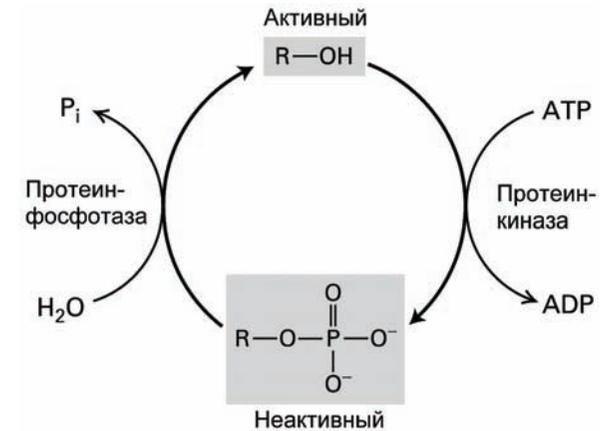


Рисунок 141 – Регуляция активности белка киназно-фосфатазным переключателем

Хотя обе реакции являются необратимыми, согласованная "работа" киназ и фосфатаз образует своеобразный киназно-фосфатазный "переключатель", управляющий функциями многих клеточных белков.

Фосфорилирование изменяет заряд белка, что, вообще говоря, приводит к изменению конформации белковой молекулы. Этот эффект может значительно изменить силу связи лиганда с белком, что приводит к резкому усилению или ослаблению активности белка.

Тот факт, что киназы и фосфатазы составляют около 3% всех белков клетки дрожжей, подтверждает важность реакций фосфорилирования и дефосфорилирования даже в простейших клетках.

Все классы белков, включая структурные белки, ферменты, мембранные каналы, сигнальные белки – регулируются киназно-фосфатазными переключателями.

Различные протеин-киназы и фосфатазы субстратно специфичны к различным белкам, что обеспечивает возможность регулировки различных метаболических реакций. Причем некоторые из этих ферментов



**6.8.5. Протеолиз.** Принципиально отличным от механизмов "включить-выключить" является механизм регуляции белковой активности путем *протеолитического разрезания* полипептидной цепи белка. Протеолиз необратимо активизирует или деактивирует некоторые белки. Этот механизм наиболее часто используется для управления активностью *гормонов* (например, инсулина) и пищеварительных *ферментов*.

Примером таких протеаз являются *трипсин* и *химотрипсин*, которые синтезируются в клетках печени и секретируются в тонкий кишечник в виде неактивных *зимогенов* – *трипсиногена* и *химотрипсиногена*, соответственно. *Энтерокиназа* (аминопептидаза, секретируемая клетками поверхности тонкого кишечника) превращает трипсиноген в трипсин, который в свою очередь "обрезает" химотрипсиноген до химотрипсина. То, что эти протеазы активируются таким сложным образом, защищает ткани печени от "самопереваривания" ферментами, которые они же сами и синтезируют.

Протеолитическое разрезание также используется для регуляции *свертывания крови*, когда компоненты, формирующие сгусток (тромб) присутствуют в крови в большой концентрации, но активируются только в месте повреждения кровеносного сосуда. Это позволяет ассемблировать тромб размером порядка миллиметра за время порядка секунды.

Разрезание также используется *иммунной* системой, когда молекулы активизируются только в необходимом месте организма. Во всех этих случаях белок синтезируется в форме *профермента*, с лишними сегментами, которые блокируют активный центр или удерживают фермент в неактивной форме.

Протеолитическое разрезание напоминает выдергивание чеки из гранаты – активизация фермента происходит вследствие удаления блокирующего белкового сегмента.

#### ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

1. Перечислите способы графического представления структуры белка?

2. Что называется повтором в структуре белка? Какие вы знаете повторы?
3. Что называется белковым доменом?
4. В чем сходство и отличие структурных и функциональных белковых доменов?
5. В чем сходство и различие мультимерных белков и макромолекулярных ассоциатов?
6. Какие белки составляют белковое семейство?
7. Какие белки называют гомологичными?
8. Что такое фолдинг и мисфолдинг?
9. В чем сходство и различие самопроизвольного фолдинга белковой нити и фолдинга с участием шаперонов?
10. Какие белки называются молекулярными шаперонами?
11. В чем сходство и различие функций шаперонов и шаперонинов?
12. Приведите примеры посттрансляционной химической модификации белков?
13. В чем заключается ацетилирование (химическая модификация) белка?
14. В чем заключается фосфорилирование (химическая модификация) белка?
15. В чем заключается гликозилирование (химическая модификация) белка?
16. В чем заключается гидроксилирование (химическая модификация) белка?
17. В чем заключается метилирование (химическая модификация) белка?
18. В чем заключается  $\gamma$ -карбоксилирование (химическая модификация) белка?
19. В чем заключается протеолиз (химическая модификация) белка?
20. В чем заключается самосплайсинг (химическая модификация) белка?
21. Какие белки подвергаются деградации в клетке?
22. Перечислите механизмы деградации белков в клетке.
23. В каких случаях используется юбиквитиновая деградация белков?

24. Перечислите этапы юбиквирования белков.
25. Что называется специфичностью белка?
26. Что характеризует сродство белка к лиганду?
27. Что объединяет и в чем различие между антителами и антигенами?
28. Что такое эпитоп антигена?
29. Опишите строение молекулы антитела.
30. В чем сходство и различие антител и ферментов?
31. Что такое каталитическая активность фермента?
32. Что называется активным центром фермента?
33. Перечислите способы объединения ферментов в молекулярные конвейеры.
34. Какие виды движения создают молекулярные моторы?
35. Перечислите моторные белки.
36. За счет какого потока работает АТФ-синтаза?
37. Перечислите конформации каталитических субъединиц, которые поочередно принимаются в ходе каталитического цикла АТФ-синтазы.
38. Перечислите три общих свойства всех белковых моторов.
39. Перечислите основные структурные части молекулы миозина.
40. Что называется саркомером? Опишите его устройство.
41. Перечислите этапы цикла протягивания актиновой нити миозином.
42. Что называется аллостерическим регулированием активности белка?
43. Какой тип аллостерии называется кооперативностью?
44. В чем сходство и отличие положительной и отрицательной кооперативности?
45. Приведите примеры белковых переключателей. Какие механизмы обеспечивают их работу?
46. Как модифицирует оксиаминокислоты киназно-фосфотазный белковый переключатель?
47. Как протеолитическое разрезание регулирует белковую активность зимогенов?

## 7. ОКИСЛЕНИЕ ГЛЮКОЗЫ И ЖИРНЫХ КИСЛОТ

Наиболее распространенным способом запасания энергии и её доставки к месту использования является *синтез молекул АТФ*.

В клетках энергетически невыгодные (*эндергонические*) процессы *сопрягаются с экзергоническим* процессом гидролиза фосфоангидридной связи между фосфатными группами в АТФ. Так происходит, например, при синтезе белков из аминокислот, синтезе нуклеиновых кислот из нуклеотидов, при активном транспорте веществ через мембрану, при сокращении саркомеров мышц и т. д.

Молекула АТФ является универсальной клеточной "топливной" молекулой, она используется во всех типах организмов и процессы синтеза и использования АТФ относятся к числу универсальных фундаментальных биологических процессов, наряду с процессами хранения и использования генетической информации и деления клетки.

Реакция синтеза АТФ является эндергонической и может быть записана в самом общем виде как



где  $P_i^{2-}$  представляет собой неорганический фосфат ( $НРО_4^{2-}$ ), который обычно обозначают  $P_i$ . Энергия, необходимая для протекания этой реакции (7,3 ккал/моль), в клетке получается главным образом в ходе двух процессов:

- *аэробное окисление*, которое происходит практически во всех типах клеток,
- *фотосинтез*, который происходит только в клетках листьев растений и в некоторых одноклеточных организмах.

При *аэробном окислении* жирные кислоты и сахара, главным образом глюкоза, окисляются до  $CO_2$  и  $H_2O$ , а выделяющаяся при этом энергия преобразуется в энергию фосфоангидридных связей молекул АТФ. Именно в результате аэробного окисления синтезируется АТФ в клетках животных и в большинстве других нефотосинтетических клеток.

Первая стадия окисления глюкозы, называемая *гликолиз*, происходит в *цитозоле* как эукариот, так и прокариот и не требует молекулярного кислорода  $O_2$ . АТФ образуется на последнем этапе, который проходит уже с участием молекулярного кислорода.

В эукариотах этот последний этап аэробного окисления происходит в *митохондриях*.

В прокариотах, имеющих только одну, плазматическую, мембрану, последние этапы аэробного окисления происходят именно на этой мембране.

Финальные стадии окисления *жирных кислот* и синтеза АТФ *иногда* происходят в *митохондриях*, однако в большинстве эукариотических клеток жирные кислоты окисляются до  $CO_2$  и  $H_2O$  в *пероксисомах* и при этом АТФ не синтезируется.

В процессе *фотосинтеза* энергия света преобразуется в химическую энергию фосфоангидридных связей молекул АТФ и запасается в химических связях *углеводородов* (главным образом, в *сахарозе* и *крахмале*). В процессе фотосинтеза также образуется *кислород*.

В *растениях* и *одноклеточных водорослях* (эукариоты) фотосинтез происходит в *хлоропластах*. Некоторые прокариоты также осуществляют фотосинтез на своих плазматических мембранах или особых "*впячиваниях*" плазматических мембран по механизму, подобному тому, который реализуется в хлоропластах.

Образование кислорода в ходе фотосинтеза является практически единственным источником кислорода в атмосфере Земли, а те углеводы, которые в этом процессе образуются, являются практически единственным источником энергии для всех нефотосинтезирующих организмов.

Однако, следует помнить, что некоторые простейшие организмы используют другие источники энергии помимо солнечного света, как, например, бактерии, которые живут в океанских глубинах – они получают энергию, необходимую для превращения  $CO_2$  в углеводы и другие клеточные метаболиты, окисляя неорганические примеси, растворенные в океанской воде.

## 7.1. Хемиосмотическое сопряжение

На первый взгляд, фотосинтез и аэробное окисление ничем не похожи. Однако оказалось, что и в митохондриях, и в хлоропластах, и на плазматических мембранах бактерий реализуется *единый базовый механизм* для синтеза АТФ из АДФ и  $P_i$ , который называется *хемиосмос* (или *хемиосмотическое сопряжение*).

*Протондвижущей силой* называется совокупность градиента концентрации протонов (который образуется в процессе хемиосмоса) и разности электрических потенциалов на внутренней и наружной стороне биомембраны (мембранный потенциал) (рисунок 143).

Протондвижущая сила, названная так по аналогии с электродвижущей силой (ЭДС) в электродинамике, служат тем источником энергии, за счет которого происходит синтез АТФ (рисунок 143, внизу). Протондвижущая сила создается *пошаговым* перемещением *высокоэнергетичных электронов* с помощью специализированных *переносчиков электронов*, связанных с мембраной, за счет энергии, которую теряют эти электроны на каждом этапе такого их перемещения по *цепи переноса электронов*.

Хемиосмос может происходить *только в изолированном компартменте* клетки, мембрана которого непроницаема для протонов ( $H^+$ ).

В митохондриях и нефотосинтезирующих бактериальных клетках такие электроны от НАДН (молекула которого образуется в процессах метаболизма сахаров, жирных кислот и других веществ) переносятся на  $O_2$  – конечный акцептор электронов.

В тилакоидных мембранах хлоропластов энергия поглощенных фотонов передается электронам, "изъятым" из молекул воды (с образованием  $O_2$ ), и используется для перемещения этих электронов по цепи переносчиков, в частности, НАДФ<sup>+</sup>. В итоге эти электроны передаются на  $CO_2$  для синтеза углеводов.

Все эти системы содержат аналогичные переносчики, которые *сопрягают* транспорт электронов с перекачиванием протонов через мембрану по направлению *всегда* из цитозоля изолированного компартмента в эктоплазматическое пространство, что и создает протондвижущую силу (рисунок 143, верху). Поэтому *всегда* цитозольный слой мембраны

заряжен отрицательно по отношению к экзоплазме. Такая *векторность* мембран обеспечивает физиологические функции биомембран.

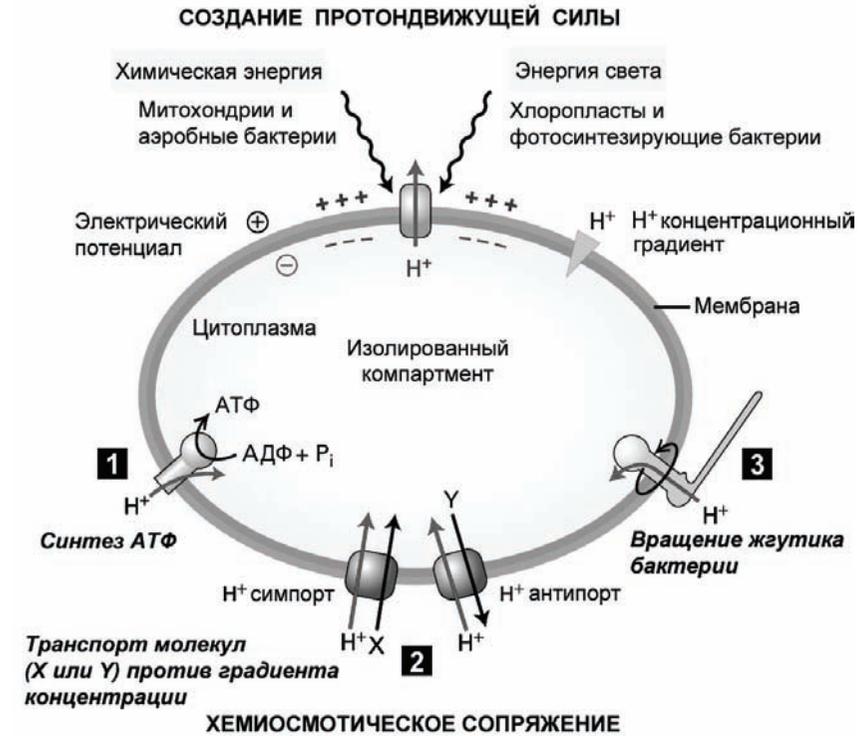


Рисунок 143 – Схема создания и использования протондвижущей силы. С помощью хемиосмотического сопряжения протондвижущая сила снабжает энергией такие процессы, как: 1 – синтез АТФ; 2 – транспорт метаболитов через мембрану; 3 – вращение жгутика бактерии

Более того, и в митохондриях (рисунок 144), и в хлоропластах (рисунок 145), и в бактериях (рисунок 146) для синтеза АТФ используется *один и тот же тип* мембранных белков АТФ-синтаза ( $F_0F_1$ -комплекс).

Во всех случаях АТФ-синтаза расположена так, что каталитический домен  $F_1$  находится со стороны цитозольной поверхности мембраны,

поэтому АТФ *всегда* синтезируется в цитозольной части изолированного компартмента.

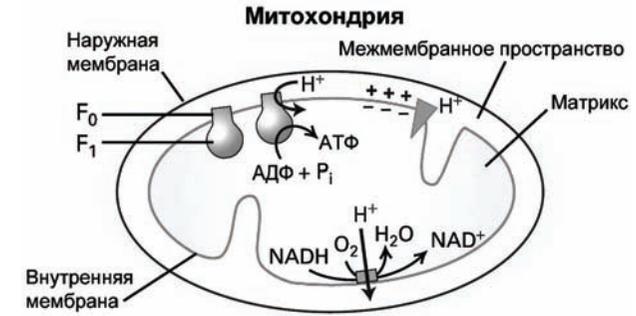


Рисунок 144 – Схема расположения компонентов хемиосмотического сопряжения в митохондрии

Протонный поток через АТФ-синтазу направлен *из экзоплазматического пространства в цитозольную часть компартмента*.

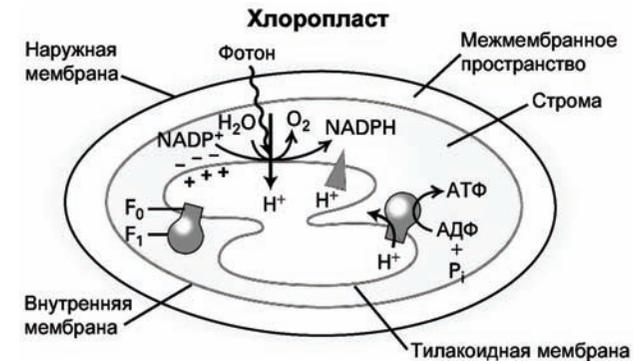


Рисунок 145 – Схема расположения компонентов хемиосмотического сопряжения в хлоропласте

Этот поток создается за счет *совместного действия и концентрационного градиента* протонов ( $[H^+]_{в\ экзоплазме} > [H^+]_{в\ цитоплазме}$ ), и *мембранного*

электрического потенциала (потенциал экзоплазматической поверхности мембраны (+) выше потенциала цитозольной поверхности мембраны (-)).

## 7.2. Эндосимбиотическая гипотеза

Такое *подобие* в организации процессов хемиосмотического сопряжения в митохондриях, хлоропластах и бактериях обусловлено их *эволюционным родством*. В бактериях и процесс фотосинтеза, и процесс окислительного фосфорилирования происходят на плазматической мембране.

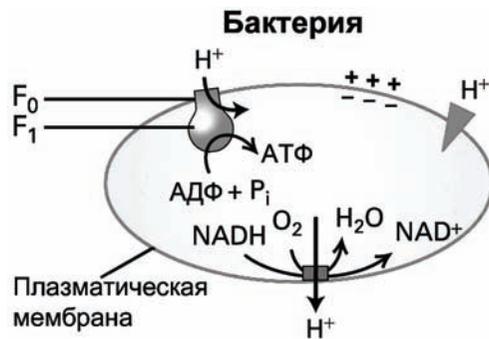


Рисунок 146 – Схема расположения компонентов хемиосмотического сопряжения в бактерии

Сравнение структуры ДНК и процессов транскрипции ДНК в митохондриях и хлоропластах показало их *подобие* бактериальной ДНК.

Результатом такого сравнения было появление *эндосимбиотической гипотезы* о том, что эти органеллы, митохондрии или хлоропласты, на ранних этапах эволюции оказались в составе эукариотических клеток в результате эндоцитоза этими клетками бактерий, способных к фосфорилированию или фотосинтезу, соответственно (рисунок 147).

Согласно этой гипотезе, внутренняя *митохондриальная* мембрана произошла от мембраны бактерии, в результате чего глобулярный каталитический домен  $F_1$  оказался расположенным в матриксе митохондрии.

Аналогично, АТФ-синтазы оказались на мембранах *тилакоидов* ориентированы так, что домен  $F_1$  оказался расположенным в строме хлоропластов.

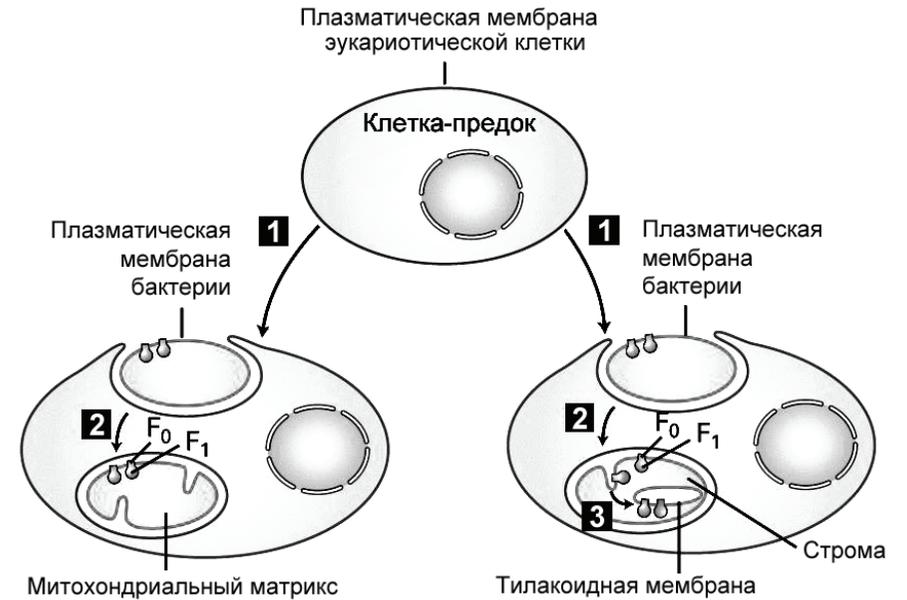


Рисунок 147 – Эволюционное происхождение митохондрий и хлоропластов согласно эндосимбиотической гипотезе: 1 – эндоцитоз бактерии эукариотической клеткой, 2 – плазматическая мембрана становится внутренней мембраной органеллы, 3 – от внутренней мембраны хлоропласта отпочковываются тилакоиды

Протондвижущая сила, кроме обеспечения синтеза АТФ, является источником энергии в процессах *активного транспорта* малых молекул через мембрану навстречу градиенту концентрации, а также приводит во вращение (совершает механическую работу) жгутик бактерии (рисунок 143).

И наоборот, гидролиз АТФ специальными белками "протонными помпами" (насосами) за счет энергии, выделяющейся при гидролизе, "перекачивает" протоны через мембрану *против* градиента концентрации.

Таким образом, хемиосмотическое сопряжение иллюстрирует следующий **ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЙ ПРИНЦИП БИОЭНЕРГЕТИКИ**:

Химическая потенциальная энергия запасается в одной из *трех* эквивалентных и взаимопревращаемых форм:

- мембранный потенциал,
- концентрационный градиент протонов (и других ионов) на биомембране,
- фосфоангидридные связи в АТФ.

В ходе фотосинтеза *образуются* молекулярный кислород и углеводы, а в ходе аэробного окисления они *расходуются*. В обоих случаях поток электронов *создает* электрохимический градиент протонов (протондвижущую силу), который может быть *использован* для синтеза АТФ. Сравнение этих двух процессов на молекулярном уровне обнаруживает их внутреннее сходство.

### 7.3. Транспорт веществ через биомембрану

Подробно механизмы функционирования мембранных транспортных систем рассмотрены в книгах [30, 40, 41]. Здесь мы перечислим только некоторые специфические их особенности, необходимые для дальнейшего изложения материала.

Перенос молекул большинства веществ через мембрану осуществляется *специализированными транспортными мембранными белками*. Водорастворимые метаболиты переносятся через мембрану внутри трансмембранных доменов этих белков, которые изолируют метаболиты от контакта с гидрофобной частью биомембраны.

Формально разделяют:

- *АТФ-насосы* (рисунок 148(а)),
- *ионные каналы* (рисунок 148(б)),
- системы *вторичного активного транспорта* (рисунок 149), которые называют *транспортёрами* или *переносчиками*.

**АТФ-насосы**, или просто *насосы*, являются АТФазами, в которых энергия гидролиза АТФ используется для переноса ионов или малых молекул через мембрану (рисунок 148(а)).

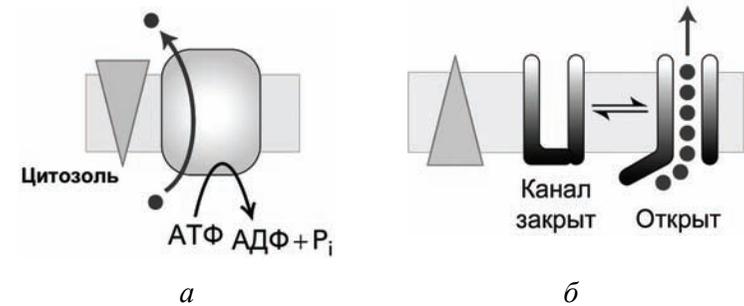


Рисунок 148 – Транспорт веществ через биомембрану: а – АТФ-насос; б – ионный канал. Треугольниками обозначены градиенты концентрации

Направление переноса определяется структурой АТФ-насоса и *не связано* с направлением градиента концентрации метаболита по обе стороны мембраны. Поэтому насосы используются клетками для *создания концентрационного градиента*, перенося ионы из клеточного компартмента с низкой концентрацией в компартмент с высокой концентрацией данного иона. Такой транспорт называется *активным транспортом*, а образующийся градиент концентрации ионов (электрохимический градиент) формирует электрический *мембранный потенциал* биомембраны.

Хорошо изучены такие *ионные насосы*, как  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФаза,  $\text{Na-K}$ -АТФаза и протонная помпа. Характерная величина скорости переноса ионов через мембрану ионным насосом составляет  $10^0$ – $10^3$  ионов в секунду.

**Канальные белки** (рисунок 148(б)) обеспечивают *пассивный транспорт* молекул и ионов через биомембрану за счет трансмембранного градиента концентрации. Иногда такой процесс диффузии вещества через мембрану, обеспечиваемый канальными белками, называют *облегченной диффузией*.

Молекулы и ионы проходят через гидрофильный канал в теле белка со скоростью  $10^7$ – $10^8$  ионов в секунду. Некоторые ионные каналы всегда

открыты, другие имеют так называемые белковые "ворота" – подвижные домены, которые в ответ на внешнее воздействие закрывают канал.

Среди схем *вторичного активного транспорта* (*переносчики* или *транспортёры*) выделяют *унипорт*, *симпорт* и *антипорт* (рисунок 149).

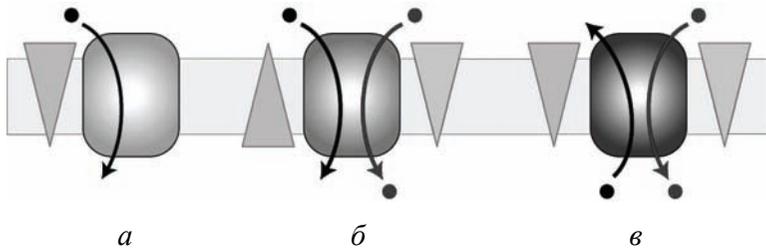


Рисунок 149 – Схемы вторичного активного транспорта: *а* – унипорт, *б* – симпорт, *в* – антипорт. Треугольниками обозначены градиенты концентрации или электрического потенциала на биомембране

*Унипорты* переносят единственный тип молекул по направлению градиента за счет облегченной диффузии. Глюкоза и аминокислоты транспортируются через плазматическую мембрану клетки через такие унипорты.

В отличие от унипортов, в *антипортах* и *симпортах* эндергоническое перемещение молекул или ионов данного типа против их градиента концентрации энергетически сопряжено с экзергоническим перемещением одного или нескольких типов *других* молекул или ионов по их электрохимическому градиенту концентрации. Оба этих типа транспортёров иногда называют общим названием *котранспортёры* (или *копереносчики*), подчеркивая их особенность переносить два вида молекул одновременно.

В отличие от АТФ-насосов, в которых источником энергии для транспорта вещества является гидролиз АТФ, котранспортёры используют энергию, *запасенную в электрохимическом градиенте*. В этом смысле такой вид транспорта тоже носит название *активный*, но, поскольку необходимый электрохимический потенциал, должен быть *предварительно* создан (чаще всего работой именно ионных насосов), то такой вид транс-

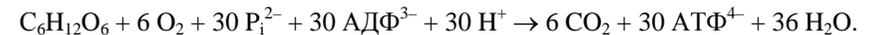
порта носит название *вторичный активный* транспорт. Характерная скорость работы *вторичного активного транспортёра* составляет  $10^2$ – $10^4$  молекул в секунду.

Цикл работы и АТФ-насосов и вторичных транспортёров представляет собой серию конформационных изменений этих транспортных белков, в ходе которой транспортируемые вещества присоединяются к белку с одной стороны мембраны, а после конформационных переходов, оказавшись по другую сторону мембраны, отсоединяются от белка. Поскольку в ходе такого цикла переносится через мембрану от одной до трех молекул, то скорость транспорта *АТФ-насосами* и *транспортёрами* относительно мала (1–10000 молекул в секунду).

*Ионные каналы* также конформационно переключаются между закрытым и открытым состояниями, но когда канал открыт, скорость потока ионов через него гораздо выше, достигая значения  $10^8$  ионов в секунду.

#### 7.4. Гликолиз

Полное аэробное окисление одной молекулы глюкозы приводит к образованию 6 молекул  $\text{CO}_2$  и сопровождается синтезом 30 молекул АТФ



Первая стадия метаболизма глюкозы – *гликолиз* – происходит в цитозоле и *не требует наличия молекулярного кислорода*. В результате гликолиза *одной* молекулы *глюкозы* получается *две* молекулы АТФ и *две* молекулы трёхуглеродного соединения – *пирувата* (пировиноградной кислоты). В аэробных клетках этот пируват переносится в митохондрии, где он окисляется молекулярным кислородом до  $\text{CO}_2$ .

Посредством хемиосмотического сопряжения процесс окисления пирувата стимулирует синтез большинства (из 30) молекул АТФ, которые синтезируются в ходе метаболизма глюкозы.

Сначала мы рассмотрим биохимические процессы при окислении глюкозы и жирных кислот до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ , а затем подробно рассмотрим процессы электронной релаксации.

Гликолиз осуществляют *десять* водорастворимых цитозольных ферментов, в результате чего одна молекула глюкозы конвертируется в две молекулы пирувата (рисунок 150).

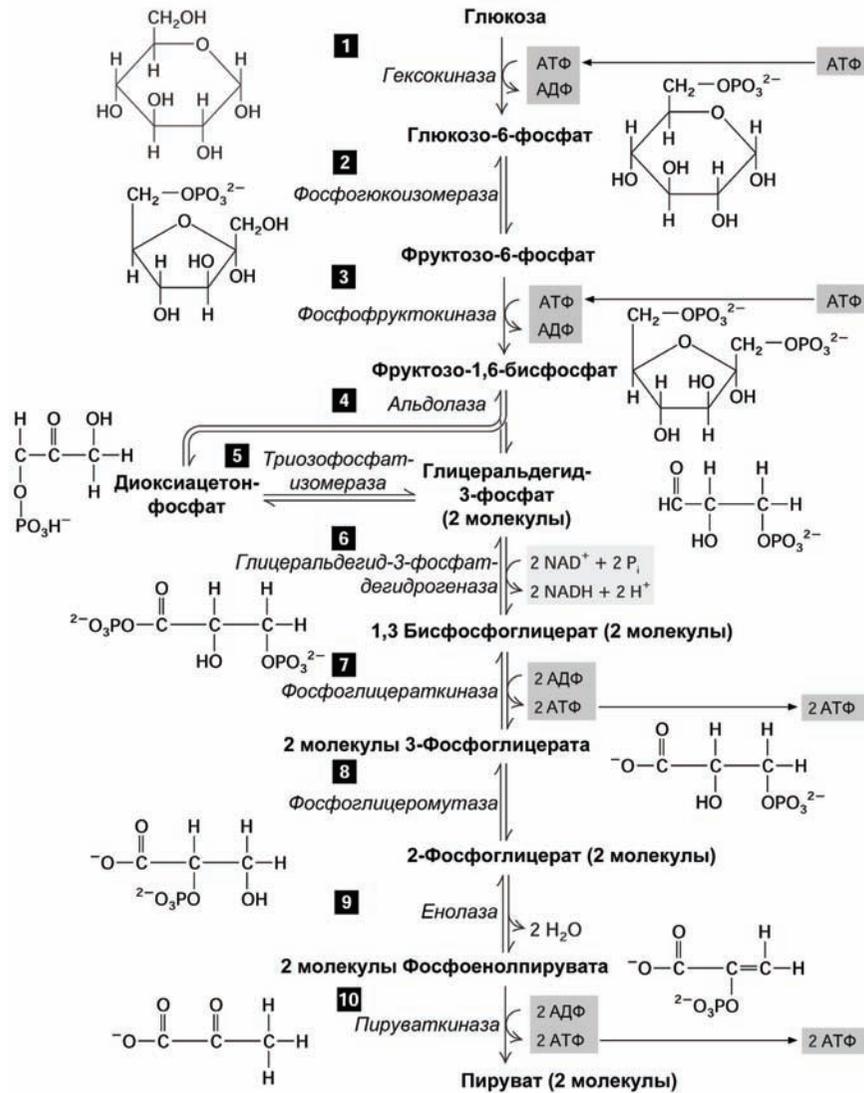


Рисунок 150 – Последовательность реакций гликолиза

Все промежуточные вещества между глюкозой и пируватом являются *фосфорилированными* соединениями. Реакции 1, 3 и 10 (на рисунке 150) являются *необратимыми* при физиологических условиях.

В ходе гликолиза синтезируется *четыре* молекулы АТФ в ходе ферментативных реакций 7 и 10, при этом в реакциях 1 и 3 расходуется две молекулы АТФ. В результате гликолиз одной молекулы глюкозы дает только две молекулы АТФ.

В ходе ферментативных реакций 7 и 10 (рисунок 150), в которых, в отличие от синтеза АТФ в митохондриях и хлоропластах, *не используется* протондвижущая сила, происходит так называемое "*субстратное фосфорилирование*".

*Субстратным фосфорилированием* называется перенос неорганического фосфата P<sub>i</sub> на АДФ (или ГДФ) за счет *высокого химического потенциала* (а не за счет окислительного фосфорилирования с использованием градиента электрохимического потенциала на биомембране). Такие процессы потому и называются субстратным фосфорилированием, поскольку они являются частью метаболического пути ("субстратной цепи").

Чтобы точно уравнять реакцию гликолиза в правой части уравнения следует учесть ещё *четыре* атома водорода (точнее, четыре протона и четыре электрона)



Все четыре электрона и два из четырех протонов переносятся на две молекулы электронного переносчика *никотинамид-аденин-динуклеотида* в его окисленной форме НАД<sup>+</sup>, образуя их восстановленную форму НАДН (рисунок 151)



Реакция 6 на рисунке 150, в которой образуются эти водородные атомы и переносятся на НАД<sup>+</sup>, катализируется ферментом *глицеральдегид-3-фосфат-дегидрогеназа*.

Полное уравнение гликолиза имеет вид

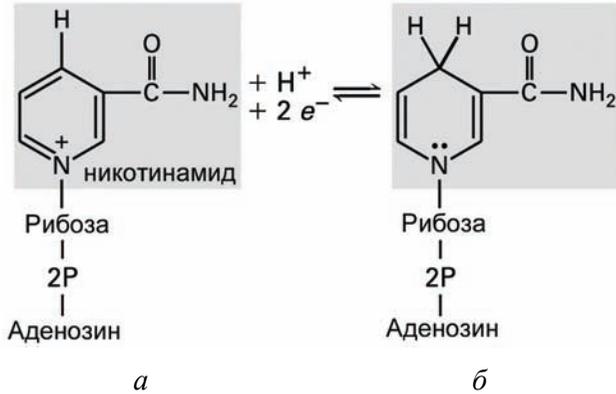
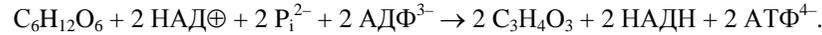


Рисунок 151 – Схема окисления никотинамид адениндинуклеотида: а – окисленная форма НАД<sup>⊕</sup>; б – восстановленная форма НАДН

### 7.5. Анаэробный метаболизм

Многие эукариоты являются *облигатными аэробами* – они растут только в присутствии кислорода и метаболизируют глюкозу (или подобные сахара) полностью до CO<sub>2</sub>, при этом синтезируя большое количество АТФ.

Большинство эукариот, однако, могут синтезировать определенное количество АТФ по механизму анаэробного метаболизма (рисунок 152).

Некоторые эукариоты являются *факультативными анаэробами* – они растут как при наличии, так и при отсутствии кислорода. Например, аннелиды (кольчатые черви), моллюски и некоторые дрожжи могут многие дни жить и размножаться без кислорода.

В *отсутствии кислорода* факультативные анаэробы конвертируют молекулу глюкозы в одну или больше молекул двух- и трёхуглеродных

соединений, которые обычно выводятся из организма в окружающую среду.

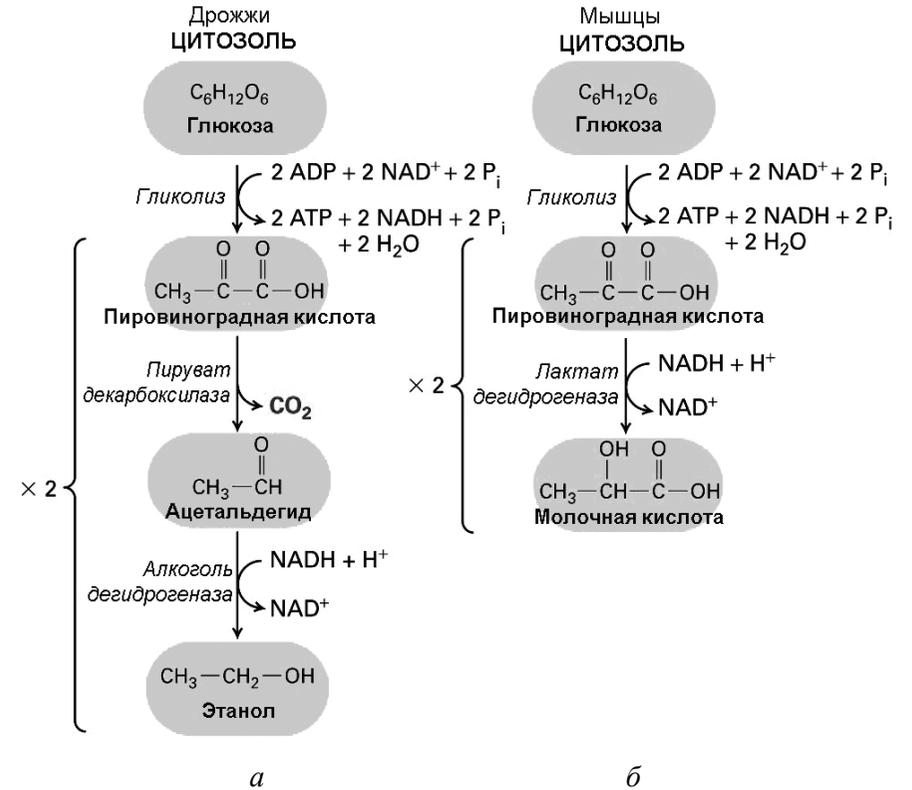


Рисунок 152 – Анаэробный метаболизм глюкозы: а – в дрожжах; б – в мышцах

Например, дрожжи метаболизируют глюкозу в два пирувата, дополнительно синтезируя при этом АТФ. В этом процессе на каждую молекулу глюкозы из НАД<sup>⊕</sup> образуется две молекулы НАДН (рисунок 150).

При отсутствии кислорода дрожжевые клетки превращают каждую молекулу пирувата в этанол и CO<sub>2</sub>. При этом на каждые две молекулы пирувата, превращенного в CO<sub>2</sub> и этанол, две молекулы НАДН окисляются до НАД<sup>⊕</sup>, восстанавливая тем самым концентрацию НАД<sup>⊕</sup> до исходной

(рисунок 152(а)). Это анаэробное разложение глюкозы, называемое *ферментация*, является основой технологий в пивоварении и виноделии.

В ходе продолжительной работы *клеток мускулатуры*, когда запасы кислорода исчерпываются, клетки мышц преобразуют молекулу глюкозы в две молекулы молочной кислоты, опять-таки синтезируя дополнительно по две молекулы АТФ на одну молекулу глюкозы (рисунок 152(б)).

Эта молочная кислота и является *причиной* мышечных болей. Она в основном секретируется в кровь, частично она задерживается клетками печени, где она заново окисляется до пирувата и либо далее *аэробно* метаболизируется до  $\text{CO}_2$ , либо конвертируется обратно в глюкозу.

Большая часть лактата метаболизируется до  $\text{CO}_2$  сердцем, через которое идет постоянный мощный поток крови, и в котором может продолжаться аэробный метаболизм в то время, как работающие мышцы секретируют лактат.

Молочнокислые бактерии (лактобактерии, те организмы, из-за которых скисает молоко) и другие прокариоты используют метаболизм глюкозы в лактат для синтеза АТФ.

*При наличии достаточного количества кислорода* в клетке пируват, который образуется в результате гликолиза переносится в митохондрию, где он окисляется кислородом до  $\text{CO}_2$  в ходе цикла реакций, которые называются *клеточное дыхание* (рисунок 153).

В этих реакциях *дополнительно* синтезируется 28 молекул АТФ из расчета на одну молекулу глюкозы, что значительно превышает выход АТФ в ходе анаэробного метаболизма глюкозы.

### 7.6. Аэробное окисление в митохондриях

Митохондрии являются одними из самых больших клеточных оргanelл с размерами порядка размеров бактерии *E. coli*. В некоторых эукариотических клетках митохондрии могут занимать до 25% цитозоля.

Митохондрия имеет две мембраны: проницаемую для метаболитов внешнюю мембрану и внутреннюю мембрану, на которой расположены системы переноса электронов и синтеза АТФ (рисунок 20).

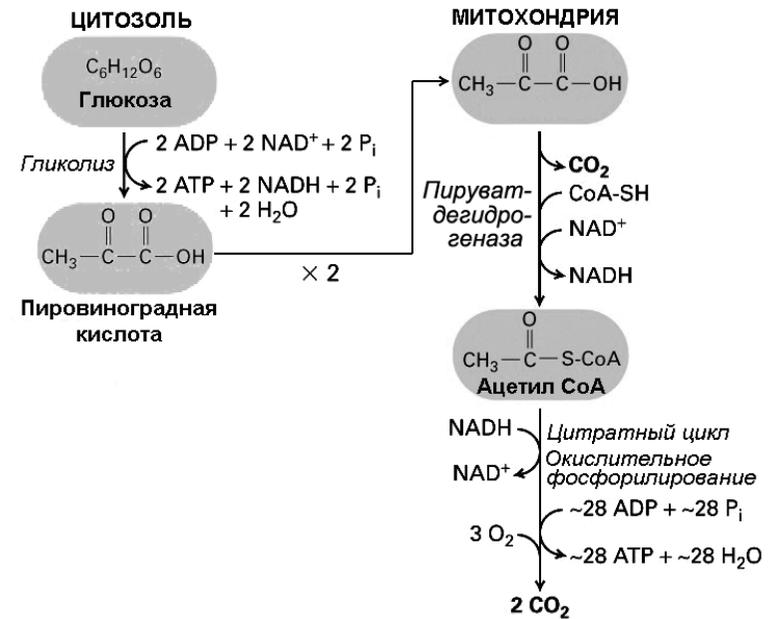


Рисунок 153 – Схема аэробного метаболизма

Большинство реакций окисления пирувата и жирных кислот до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  и сопряженного синтеза АТФ из АДФ и  $\text{P}_i$  проходят на внутренней мембране митохондрии, в её кристах и матриксе (рисунок 154).

Реакции окисления пирувата и жирных кислот до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  и сопряженного синтеза АТФ состоят из множества этапов, но они могут быть разделены на три группы реакций, каждая из которых происходит в определенном месте на внутренней мембране митохондрии:

1. Окисление пирувата и жирных кислот до  $\text{CO}_2$  сопряженное с восстановлением (а) НАД<sup>+</sup> до НАДН (рисунок 151), и (б) ФАД (флавинадениндинуклеотид) до ФАДН<sub>2</sub> (рисунок 155). Эти переносчики электронов часто называют *коферментами*. Большинство реакций этой группы происходят в матриксе, две из них катализируются мембранными белками внутренней мембраны, каталитические центры которых ориентированы внутрь матрикса.

- Электронны переносятся от НАДН и ФАДН<sub>2</sub> к О<sub>2</sub>, регенерируя НАД<sup>+</sup> и ФАД. Эти реакции происходят на внутренней мембране и приводят к созданию протондвижущей силы.
- Протонный градиент используется для синтеза АТФ комплексом F<sub>0</sub>F<sub>1</sub> (АТФ-синтаза) на внутренней мембране.

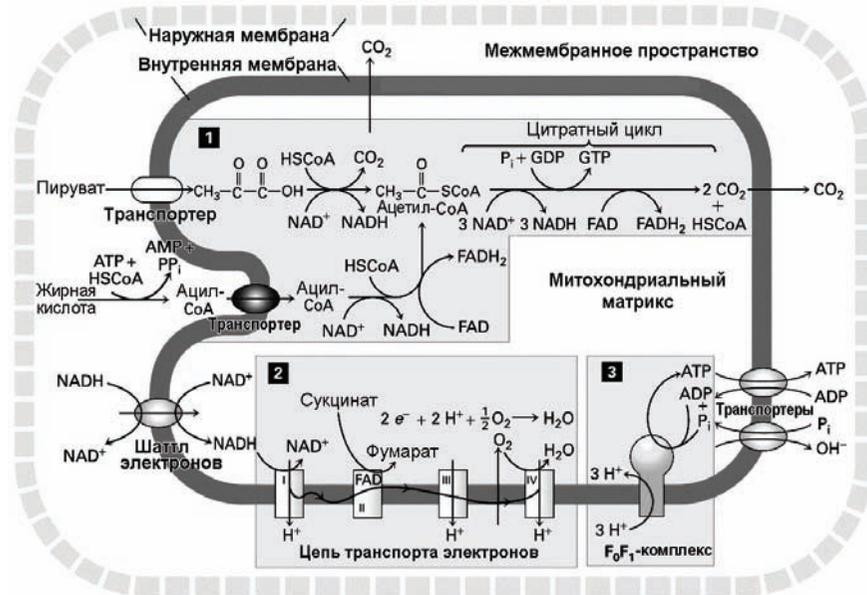


Рисунок 154 – Схема аэробного окисления пирувата и жирных кислот в митохондриях: 1 – пируват дегидрогеназа, цитратный цикл и метаболизм жирных кислот; 2 – транспорт электронов от НАДН и ФАДН<sub>2</sub> к О<sub>2</sub> и создание протондвижущей силы; 3 – синтез АТФ АТФ-синтазой (которую иногда называют *комплекс V*)

Кристы значительно увеличивают площадь внутренней мембраны митохондрии, соответственно увеличивая выход АТФ. В типичной митохондрии клетки печени площадь внутренней мембраны в пять раз больше площади наружной мембраны. А в митохондриях сердечной мышцы или скелетных мышц (в которых происходит повышенный расход АТФ) площадь внутренней мембраны ещё *в три раза* больше, чем в клетках печени.

В растениях углеводы хранятся в виде крахмала, который гидролизуется до глюкозы. Затем в результате гликолиза синтезируется пируват, молекулы которого так же, как и в клетках животных, переносятся в митохондрии. Митохондриальное окисление пирувата, сопровождающееся синтезом АТФ, происходит и в фотосинтезирующих клетках, когда отсутствует освещение (темновые реакции), а в корнях и других нефотосинтезирующих тканях – всё время.

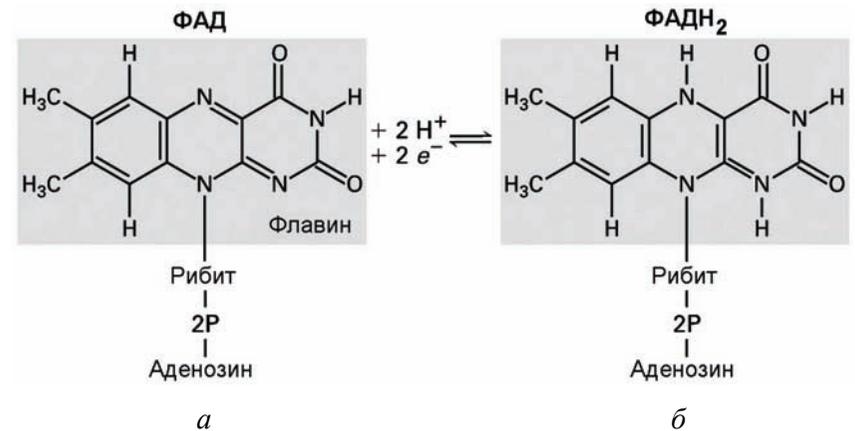


Рисунок 155 – Схема окисления флавинадениндинуклеотида: *а* – окисленная форма ФАД; *б* – восстановленная форма ФАДН<sub>2</sub>. Рибит: –CH<sub>2</sub>(НСОН)<sub>3</sub>СН<sub>2</sub>–

После транспортировки пирувата в матриксы фермент *пируват дегидрогеназа* (используя кофермент СоА) катализирует его превращение в ацетил-СоА (рисунок 156).

В этой реакции, в отличие от реакций, катализируемых лактатдегидрогеназой и алкогольдегидрогеназой (рисунок 152), НАД<sup>+</sup> восстанавливается до НАДН.

### 7.7. Цитратный цикл

Финальный этап окисления глюкозы представляет собой цикл из девяти реакций, который имеет несколько названий – *цитратный цикл*, или *цикл трикарбоновых кислот*, или *цикл Кребса* (рисунок 157).

Каждая ацетильная группа, вошедшая в этот цикл в составе ацетил-СоА, превращается в две молекулы  $\text{CO}_2$ .

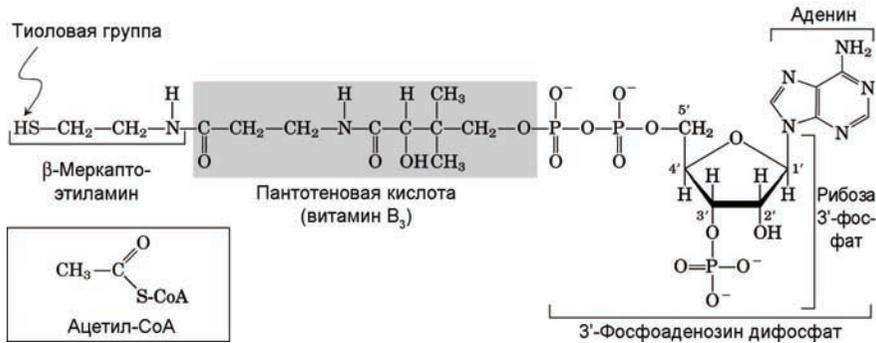


Рисунок 156 – Схема кофермента коэнзим А (СоА). Вставка – схема ацетил-СоА

Цикл начинается с образования шестиуглеродной молекулы лимонной кислоты (*citric acid*) в результате объединения на ферменте *цитрат-синтаза* двухуглеродной ацетильной группы ацетил-СоА с четырёхуглеродной молекулой оксалоацетата (рисунок 157).

Двухэтапная конверсия цитрата в *изоцитрат* (реакции 2 и 3 на рисунке 157) проходят на одном ферменте *аконитат-гидратаза*, причем промежуточный продукт *цис-аконитат* остается во время реакции связанным с ферментом.

В реакциях 4 и 5 высвобождается по одной молекуле  $\text{CO}_2$ .

В реакции 5, которая катализируется ферментом *α-кетоглутарат-дегидрогеназа*, также восстанавливается  $\text{NAD}^+$  до  $\text{NADH}$ . Кроме того, в реакциях 4 и 9 также происходит такое же восстановление, в результате в каждом цикле образуется 3 молекулы  $\text{NADH}$ .

В реакции 7 два электрона и два протона переносятся на ФАД, восстанавливая кофермент до  $\text{FADH}_2$ .

В реакции 6 (фермент *сукцинат-СоА-лигаза*) гидролиз высокоэнергетичной тиоэфирной связи в сукцинил-СоА сопряжен с синтезом ГТФ (из ГДФ) – второй пример *субстратного фосфорилирования*.

*Субстратное фосфорилирование* реализуется только в двух случаях – в реакции 6 образования ГТФ в цитратном цикле (рисунок 157) и в реакциях 7 и 10 гликолиза (рисунок 150).

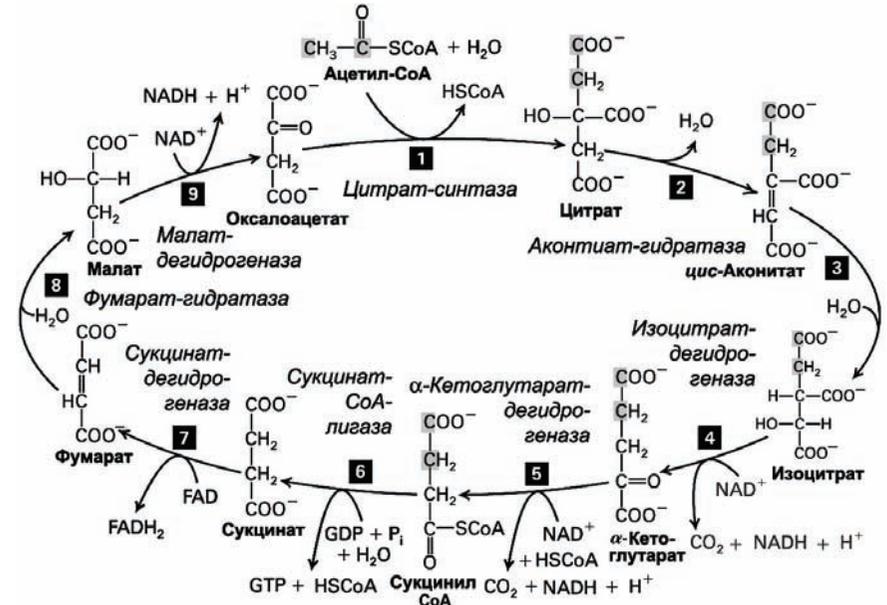


Рисунок 157 – Схема цитратного цикла. Метаболиты подписаны жирным шрифтом, а ферменты – курсивом

В последней реакции 9 (фермент *малатдегидрогеназа*) вновь образуется *оксалоацетат* и цикл может начаться снова.

Примечательно, что *молекулярный кислород*  $\text{O}_2$  не участвует в цитратном цикле.

Все метаболиты и *шесть из восьми ферментов* цитратного цикла являются водорастворимыми и располагаются в *матрикс*е митохондрии.

*Сукцинат дегидрогеназа* (реакция 7) и *α-кетоглутаратдегидрогеназа* (реакция 5) являются мембранными белками внутренней мембраны с активными центрами ориентированными в матрикс митохондрии.

Экспериментально показано, что *шесть немембранных ферментов* образуют в матрикс *большой мультибелковый комплекс* (конвейер

ферментов), в котором продукты предыдущего фермента непосредственно передаются следующему ферменту без диффузии в матриксе.

Суммарно, на одну молекулу глюкозы гликолиз и цитратный цикл синтезируют 6 молекул  $\text{CO}_2$ , 10 молекул НАДН и 2 молекулы ФАДН<sub>2</sub> (таблица 8). И хотя в этих реакциях формируются ещё четыре высокоэнергетичные фосфоангидридные связи в составе молекул АТФ и ГТФ, на это уходит только незначительная часть энергии, выделяющейся при полном окислении глюкозы. *Основная часть* этой энергии аккумулируется в восстановленных коферментах НАДН и ФАДН<sub>2</sub>.

Таблица 8 – Число молекул, суммарно синтезируемых при гликолизе и в цитратном цикле

Реакция	Число синтезируемых молекул		
	$\text{CO}_2$	НАД $\oplus$ восстановлено до НАДН	ФАД восстановлено до ФАДН <sub>2</sub>
1 глюкоза → 2 пирувата (гликолиз)	0	2	0
2 пирувата → 2 ацетил-СоА (пируват-дегидрогеназа)	2	2	0
2 ацетил-СоА → 4 $\text{CO}_2$ (цикл Кребса)	4	6	2
Всего	6	10	2

Синтез же большинства молекул АТФ, которые образуются в процессах аэробного окисления, сопряжен с процессами окисления НАДН и ФАДН<sub>2</sub> молекулярным кислородом  $\text{O}_2$  в пошаговой последовательности реакций, которые в совокупности называются *дыхательной цепью* или *цепью транспорта электронов*.

И хотя молекулярный кислород не используется в цитратном цикле, в отсутствие кислорода цитратный цикл замедляется и останавливается по мере исчерпания запаса НАД $\oplus$  и ФАД. Прежде чем рассматривать цепи транспорта электронов, мы ознакомимся с системами регенерации НАД $\oplus$  в цитозоле и окисления жирных кислот до  $\text{CO}_2$ .

## 7.8. Перенос электронов из цитозоля в митохондрию

Для осуществления непрерывного аэробного окисления тот НАДН, который образуется при этом, должен быть окислен до НАД $\oplus$  в цитозоле.

Так же как и в случае НАДН, образуемом в матриксе митохондрии, электроны от НАДН цитозоля *в конце концов переносятся на  $\text{O}_2$*  посредством дыхательной цепи, которая за счет этого создает протондвижущую силу.

И хотя внутренняя мембрана митохондрии непроницаема для НАДН, в ней находятся белки-транспортёры, так называемые *шаттлы электронов*, которые и переносят электроны с цитозольных НАДН в матрикс митохондрии.

Работу самого распространенного шаттла, который называется *малат-аспаратный шаттл*, иллюстрирует рисунок 158.

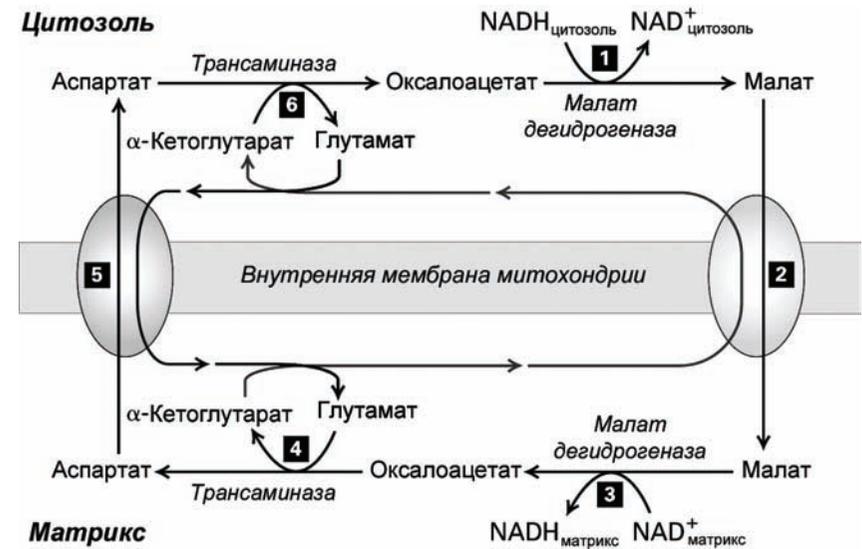


Рисунок 158 – Схема малат-аспаратного шаттла

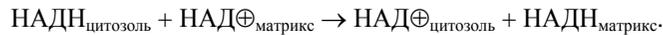
Малат-аспаратный шаттл включает в себя *два* транспортёра *антипорта* – малат/ $\alpha$ -кетогутаратный антипорт и глутамат/аспаратный

антипорт – во внутренней мембране митохондрии и по два фермента – трансаминаза и малат-дегидрогеназа – и в цитозоле клетки, и в матриксе митохондрии.

Шесть последовательных этапов составляют рабочий цикл шаттла.

- (1) Цитозольный фермент *малат-дегидрогеназа* переносит электрон с цитозольного НАДН на *оксалоацетат* образуя *малат*.
- (2) Антипорт одновременно переносит *малат* внутрь матрикса и *α-кетогутарат* (*2-оксоглутарат*) наружу из митохондриального матрикса.
- (3) Митохондриальный фермент *малат-дегидрогеназа* переносит электрон с *малата* (превращая его обратно в *оксалоацетат*) на НАД<sup>+</sup>, восстанавливая его до НАДН.
- (4) *Оксалоацетат*, который не переносится через мембрану, конвертируется в *аспартат* за счет присоединения к нему аминокетильной группы митохондриальным ферментом *трансаминаза* (*аспартат-трансаминаза*), который получает эту аминокетильную группу от *глутамата*. Сам *глутамат* при этом конвертируется в *α-кетогутарат* (бисубстратная "пинг-понг" реакция).
- (5) Второй антипорт выводит в цитозоль *аспартат* в обмен на *глутамат*.
- (6) Завершает цикл *цитозольный* фермент *трансаминаза*, который конвертирует *аспартат* в *оксалоацетат* в бисубстратной "пинг-понг" реакции (со вторым субстратом *α-кетогутарат* (*2-оксоглутарат*), который присоединив к себе аминокетильную группу аспарта-та превратился в *глутамат*).

В результате работы *электронного шаттла* цитозольный НАДН окислился до НАД<sup>+</sup>, а в матриксе митохондрии НАД<sup>+</sup> восстановился до НАДН:



## 7.9. Окисление жирных кислот

Жирные кислоты хранятся в организме в составе *триацилглицеролов*, главным образом в виде капельных включений в клетках жировой ткани, *адипоцитах*. В ответ на появление гормонов таких, как адреналин, триацилглицеролы гидролизуются в цитозоле на *жирные кислоты* и *глицерин* (рисунок 159).

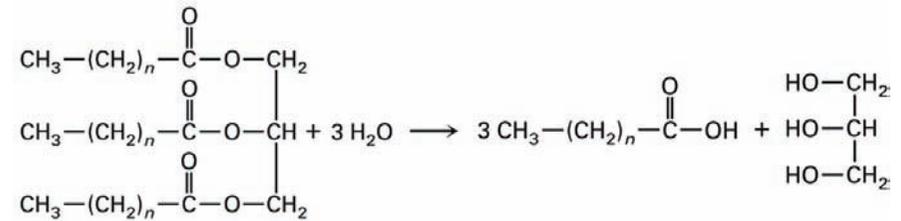


Рисунок 159 – Схема гидролиза триацилглицеролов

Затем жирные кислоты попадают в кровь и используются (окисляются) в большинстве клеток организма, являясь главным источником энергии. В частности, в человеческом организме окисление жирных кислот количественно даёт больше АТФ, чем метаболизм глюкозы. Окисление 1 грамма триацилглицеролов до CO<sub>2</sub> даёт в шесть раз больше АТФ, чем при окислении 1 грамма гликогена.

Триацилглицеролы являются более эффективными для запасания энергии по сравнению с углеводами, поскольку в них углероды в цепях –(H-C-H)<sub>n</sub>– намного более восстановлены, чем углероды в группах –(H-C-OH)– в углеводах, и поэтому их окисление даёт больше энергии.

В *цитозоле* жирные кислоты этерифицируются с коферментом А, и в реакции, сопряженной с гидролизом АТФ, образуются активированные жирные кислоты в форме ацил-СоА:





**7.9.2. Окисление жирных кислот в пероксисомах.** В пероксисомах, так же как и в митохондриях, происходят процессы окисления жирных кислот. Пероксисомы присутствуют во всех клетках млекопитающих, кроме эритроцитов, в растениях, дрожжах – вероятно, они есть во всех эукариотических клетках. Именно пероксисомы ответственны за окисление основного количества жирных кислот. Причем жирные кислоты с длинной углеводородного хвоста *более 20 групп*  $\text{CH}_2$  окисляются *исключительно* в пероксисомах. В клетках млекопитающих жирные кислоты средних размеров (10-20 групп  $\text{CH}_2$ ) деградируют как в митохондриях, так и в пероксисомах.

В отличие от митохондрий, где окисление жирных кислот сопряжено с процессами синтеза АТФ, в пероксисомах процессы окисления *не связаны* с образованием АТФ, а выделяющаяся энергия просто *рассеивается в виде тепла*.

В пероксисомах последовательность реакций, в которых жирные кислоты деградируют до ацетил-СоА, подобна тем, которые протекают в митохондриях (рисунок 161(б)). Но в пероксисомах нет дыхательных цепей, и электроны от молекул ФАДН<sub>2</sub>, образованных при окислении жирных кислот, переносятся на O<sub>2</sub> двумя ферментами – сначала ферментом *оксидаза*, который регенерирует молекулы ФАД и синтезирует молекулы перекиси водорода H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, затем, поскольку перекись водорода является токсичным метаболитом, она немедленно разлагается ферментом *каталаза*.

Образованные в ходе окисления жирных кислот молекулы НАДН выводятся из пероксисомы и затем окисляются в НАД<sup>+</sup> в цитозоле. В пероксисомах нет ферментов цитратного цикла, поэтому образующиеся в результате окисления жирных кислот молекулы ацетил-СоА выводятся из пероксисомы в цитозоль и используются затем в синтезе холестерина и других метаболитов.

#### ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

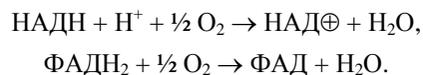
1. Какова роль АТФ в обеспечении клеточных процессов энергией, необходимой для протекания эндоэргонических реакций?

2. В ходе каких процессов получают энергию, необходимую для протекания реакции синтеза АТФ из АДФ и P<sub>i</sub>?
3. Что такое хемиосмос?
4. Что такое протондвижущая сила? В ходе каких процессов она создается?
5. Какие белки используют протондвижущую силу для синтеза АТФ?
6. Как ориентирована АТФ-синтаза в мембране митохондрий, хлоропластов и бактерий?
7. В чем заключается эндосимбиотическая гипотеза?
8. В каких формах запасается химическая потенциальная энергия в биоэнергетических процессах?
9. Чем различаются АТФ-насосы, ионные каналы и переносчики?
10. Какой трансмембранный транспорт называется активным?
11. Чем различаются унипорт, симпорт и антипорт?
12. Чем отличается вторичный активный транспорт от активного транспорта?
13. Сравните скорость переноса молекул через мембрану АТФ-насосами, ионными каналами и вторичными активными транспортерами.
14. Сколько молекул АТФ синтезируется в результате полного аэробного окисления одной молекулы глюкозы?
15. Что такое гликолиз? Запишите полное уравнение гликолиза.
16. В чем сходство и различие процессов окисления никотинадениндинуклеотида и флавинадениндинуклеотида?
17. Что такое субстратное фосфорилирование? На каких этапах гликолиза происходит субстратное фосфорилирование?
18. В чем отличие метаболизма глюкозы в клетках облигатных аэробов и факультативных анаэробов?
19. Какой вид метаболизма глюкозы называется ферментацией? Чем ферментация отличается от гликолиза?
20. В чем отличие анаэробного метаболизма глюкозы в клетках дрожжей от анаэробного метаболизма глюкозы в клетках мускулатуры млекопитающих?

21. Какой процесс называется клеточным дыханием?
22. Какие энергетические процессы связаны с внутренней мембраной митохондрии?
23. Назовите три основные группы реакций в процессе окисления пировата и жирных кислот в митохондриях.
24. Какова роль цитратного цикла в клеточном дыхании?
25. Какова роль ацетил-СоА в цикле трикарбоновых кислот?
26. На каком этапе цикла Кребса происходит субстратное фосфорилирование?
27. Сколько молекул коферментов НАДН и ФАДН<sub>2</sub> восстанавливается из расчета на одну молекулу глюкозы суммарно в гликолизе и цитратном цикле?
28. Какой митохондриальный мембранный комплекс осуществляет перенос электронов с НАДН цитозоля на НАДН матрикса митохондрии?
29. Из каких компонентов состоит малат-аспартатный шаттл?
30. Каким образом в процессе митохондриального окисления жирных кислот эти кислоты попадают из цитозоля в матрикс митохондрии? Какова роль в этом процессе ацил-СоА?
31. В чем отличие процесса окисления жирных кислот в пероксисомах от аналогичного процесса в митохондриях?
32. Какова роль фермента каталаза в процессе окисления жирных кислот в пероксисомах?

## 8. ГЕНЕРАЦИЯ ПРОТОНДВИЖУЩЕЙ СИЛЫ И СИНТЕЗ АТФ

Свободная энергия, которая выделяется в результате гликолиза и в цитратном цикле, сосредотачивается, главным образом, в молекулах восстановленных коферментов НАДН и ФАДН<sub>2</sub>. В процессе клеточного дыхания электроны высвобождаются с НАДН и ФАДН<sub>2</sub> и передаются на О<sub>2</sub>, образуя Н<sub>2</sub>О в суммарных реакциях



Изменение свободной энергии в этих сильно экзергонических реакциях равно  $\Delta G = -52,6$  ккал/моль для НАДН и  $\Delta G = -43,4$  ккал/моль для ФАДН<sub>2</sub>. Суммарно окисление одной молекулы глюкозы в гликолизе и цитратном цикле дает 10 молекул НАДН и 2 молекулы ФАДН<sub>2</sub>, поэтому окисление этих коферментов даст

$$\Delta G = 10 \times (-52,6) + 2 \times (-43,4) = -613 \text{ ккал/моль}.$$

Таким образом, из всей свободной энергии, которая может выделяться при полном окислении глюкозы (-680 ккал/моль), более 90% переходит в коферменты НАДН и ФАДН<sub>2</sub> при их восстановлении.

### 8.1. Цепь переноса электронов

Количество свободной энергии, которое выделяется при окислении одной молекулы НАДН или ФАДН<sub>2</sub> кислородом, достаточно для синтеза *нескольких* молекул АТФ из АДФ и Р<sub>i</sub> (эта эндергоническая реакция потребляет всего  $\Delta G = +7,3$  ккал/моль). Митохондрия максимально использует эту энергию, перенося электроны от НАДН и ФАДН<sub>2</sub> по цепи электронных переносчиков (рисунок 162), все, кроме одного из которых, являются *интегральными белками* внутренней мембраны митохондрии.

Такой *пошаговый* перенос электронов по *дыхательной цепи* (по *цепи переноса электронов*) обеспечивает контролируемое *выделение* энергии небольшими порциями и *превращение* этих порций энергии в протондвижущую силу (рисунок 154(2)).

Главными компонентами дыхательной цепи являются *четыре* больших *мультибелковых комплекса*:

Комплекс I)	НАДН-СоQ-редуктаза,
Комплекс II)	Сукцинат-СоQ-редуктаза,
Комплекс III)	СоQH <sub>2</sub> -цитохром <i>c</i> редуктаза,
Комплекс IV)	Цитохром <i>c</i> оксидаза.

Кофермент Q (**СоQ**) и *цитохром c* переносят электроны между этими комплексами. Той энергии, которая выделяется при релаксации

электрона внутри комплексов I, III и IV, хватает для переноса протонов через мембрану белками этих комплексов (их называют *протонными насосами* или *протонными помпами*), и в результате такого трансмембранного транспорта создается градиент концентрации протонов на внутренней мембране митохондрии.

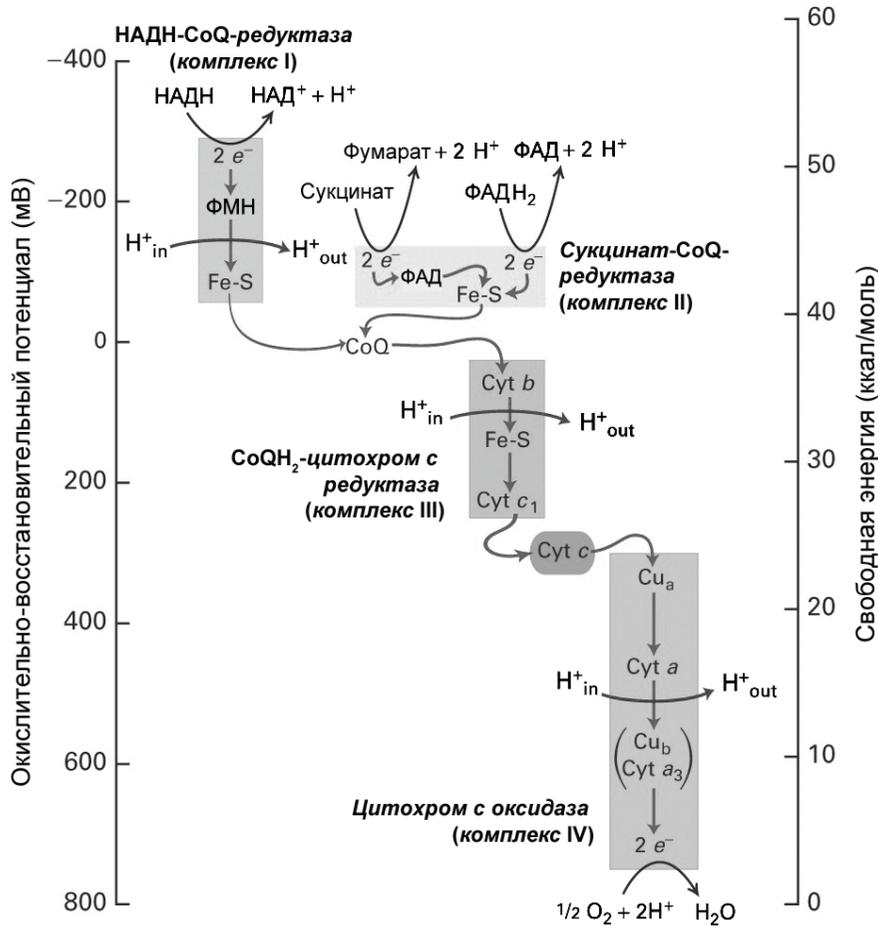


Рисунок 162 – Изменение окислительно-восстановительного потенциала и свободной энергии в ходе последовательного переноса электронов по дыхательной цепи

Поскольку внешняя мембрана митохондрии проницаема для протонов, а внутренняя – нет, то в результате такого трансмембранного транспорта протонов рН митохондриального матрикса растет (а концентрация протонов в матриксе снижается) по отношению к цитозолу и межмембранному пространству митохондрии. Матрикс становится отрицательно заряженным по отношению к цитозолу и на внутренней мембране митохондрии формируется мембранный потенциал.

В результате свободная энергия, которая выделяется в ходе окисления НАДН и ФАДН<sub>2</sub>, запасается и в виде *градиента концентрации* протонов, и в форме *электрического потенциала* на внутренней мембране митохондрии (суммарно это и называют *протондвижущей силой*).

Движение протонов обратно через внутреннюю мембрану митохондрии под действием этой протондвижущей силы сопряжено с синтезом АТФ из АДФ и Р<sub>i</sub> ферментом АТФ-синтаза (рисунок 154(3)).

В состав комплекса I входит флавиновый кофермент (простетическая группа) *флавиномононуклеотид*, ФМН (FMN), в котором, так же как и в ФАД (рисунок 163(а)), активной группой является флавин (изоаллоксазин) (см. рисунок 155).

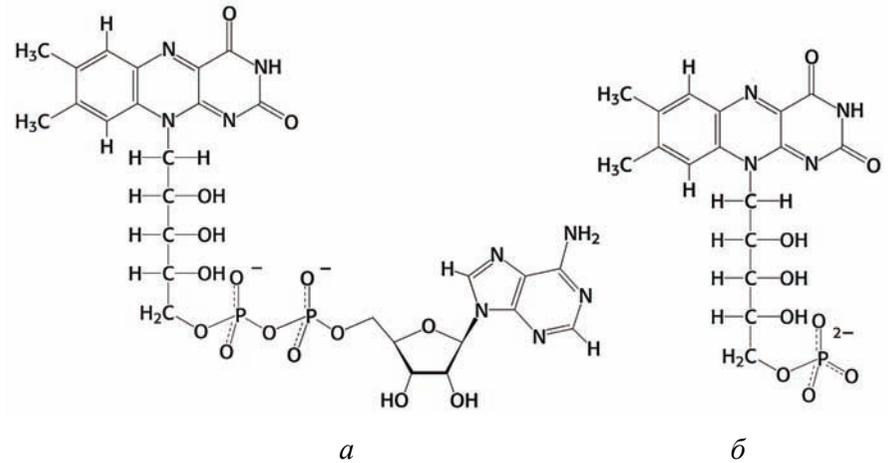


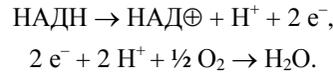
Рисунок 163 – Флавиновые коферменты: а – флавинадениндинуклеотид (ФАД), б – флавиномононуклеотид (ФМН)

Флавин имеет сопряженную систему из трех колец, которая может при восстановлении принимать два электрона и два протона. В флавин-мононуклеотиде (ФМН) к флавиону присоединен фосфорилированный полиол рибит (рисунок 163(б)).

**Окислительным фосфорилированием** называется процесс синтеза АТФ из АДФ и P<sub>i</sub> за счет релаксации энергии электронов при их переносе от НАДН и ФАДН<sub>2</sub> к O<sub>2</sub>. Окислительное фосфорилирование является *главным* источником АТФ в аэробных нефотосинтетических клетках.

### 8.2. Перенос электронов по дыхательной цепи

В митохондриях каждая молекула НАДН доставляет *два* высокоэнергетических электрона в дыхательную цепь. Эти электроны в конце своей релаксации восстанавливают атом кислорода, в результате чего получается молекула воды. *Суммарно* весь этот процесс можно записать как



Релаксация электрона с НАДН на O<sub>2</sub> сопровождается снижением энергии электрона на 1,14 эВ, что соответствует 26,2 ккал/моль. Соответственно, для двух электронов снижение энергии будет ≈ 53 ккал/моль. Большая часть этой энергии превращается в протондвижущую силу.

Каждый из четырех мультибелковых комплексов дыхательной цепи проходит сквозь внутреннюю мембрану митохондрии (является *интегральным белком* внутренней мембраны) и содержит в себе несколько различных *простетических групп* – **акцепторов электронов**, которые участвуют в переносе электронов. Эти небольшие небелковые молекулы или ионы металлов прочно и специфически связаны с мультибелковыми комплексами (таблица 9) и, в отличие от переносчиков электронов, не перемещаются механически независимо от комплексов.

Несколько типов *гемов* – железосодержащих простетических групп, подобных тем, которые содержатся в гемоглобинах и миоглобинах (рисунок 164) – прочно связаны или даже ковалентно присоединены

к митохондриальным белкам, образуя **цитохромы** (обозначены **Cyt** на рисунке 162).

Таблица 9 – Электрон-несущие простетические группы (электрон-акцепторные группы) в дыхательной цепи

Комплекс	Простетические (акцепторные) группы
I	ФМН, Fe-S
II	ФАД, Fe-S
III	Гем b <sub>L</sub> , Гем b <sub>H</sub> , Fe-S, Гем c <sub>1</sub>
IV	Cu <sup>2+</sup> , Гем a, Cu <sup>2+</sup> , Гем a <sub>3</sub>

Атомы железа в центре гема присоединяют и отдают электроны (окисление и восстановление Fe) в процессе переноса электронов по дыхательной цепи:

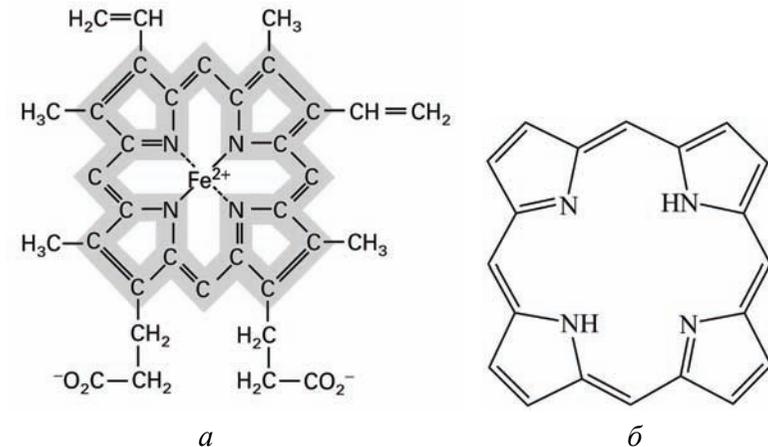
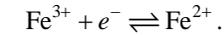


Рисунок 164 – Схема гема: *a* – схема гемов цитохромов b<sub>L</sub> и b<sub>H</sub>; *б* – порфириновое кольцо (циклический тетрапиррол) является основой структуры гема любого типа

В дыхательной цепи электроны переносятся по цитохромам в последовательности *b*, *c*<sub>1</sub>, *c*, *a*, *a*<sub>3</sub> (рисунок 162). Разные цитохромы имеют разные гемы, которые отличаются химическими группами, присоединяемыми к периметру *порфиринового кольца*, и различным аминокислотным окружением гемов. Поэтому каждый цитохром имеет *специфический восстановительный потенциал*. Набор значений восстановительных потенциалов разных цитохромов однозначно *задает направление* и необходимую *последовательность* переноса электронов вдоль дыхательной цепи.

Поскольку порфириновое кольцо гема в цитохромах состоит из чередующихся двойных и одинарных связей (рисунок 164), в нем возможно большое количество разнообразных резонансов, и дополнительный электрон может связаться с атомами углерода или азота или с ионом железа. Все цитохромы, кроме цитохрома *c*, входят в состав мультибелковых комплексов на внутренней мембране митохондрии. А цитохром *c*, хотя он также представляет собой гем-протеиновый комплекс, является водорастворимым белком и свободно перемещается в межмембранном пространстве митохондрии.

*Кластеры из атомов железа и серы (Fe-S)* являются железосодержащими простетическими группами, в которых атом Fe присоединен к неорганическим атомам S и к цистеиновым атомам серы из аминокислотного окружения простетической группы (рисунок 165).

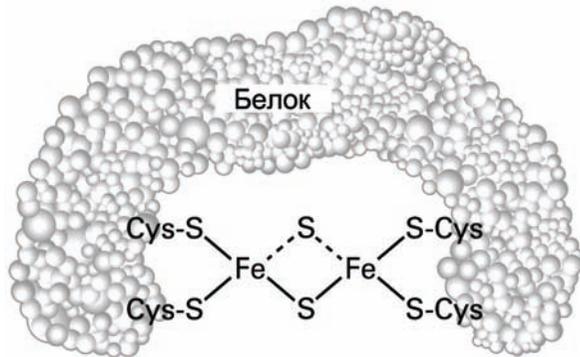


Рисунок 165 – Димерный кластер атомов железа и серы

Все Fe-S кластеры могут присоединить (и отдать) один электрон. В кластерах некоторые атомы железа имеют заряд (+2), а другие атомы железа – (+3), хотя реальный заряд атома Fe между (+2) и (+3), поскольку электроны внешних орбит атомов Fe обобществлены и формируют общую орбиталь. Присоединяемый к кластеру электрон также становится общим электроном всех атомов Fe, входящих в кластер.

*Кофермент Q (CoQ)*, который чаще называют *убихинон (ubiquinone)*, является *единственным* переносчиком электронов в дыхательной цепи, в котором электрон связывается *не* с простетической группой белка (рисунок 166).

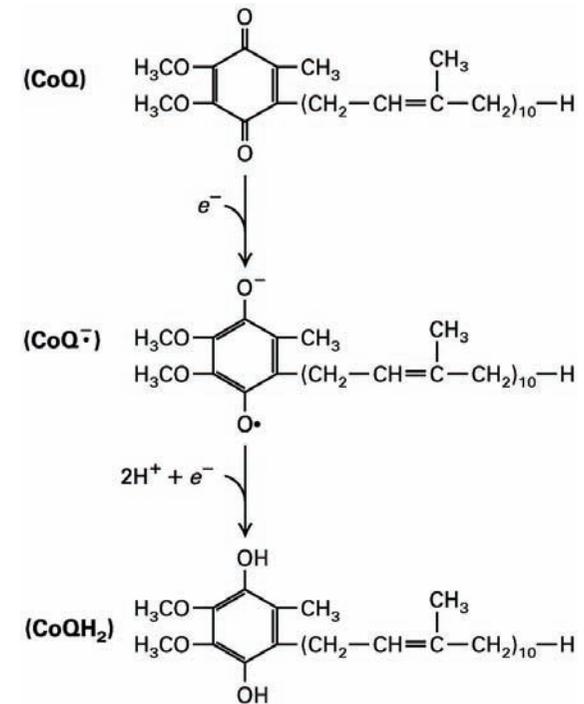


Рисунок 166 – Схема восстановления убихинона до дигидроубихинона

В действительности убихинон переносит не один электрон, а два атома водорода, то есть *два электрона и два протона*. Сначала окислен-

ная хинонная форма CoQ принимает на себя *один электрон*, образуя промежуточный заряженный свободный радикал *полухинон (semiquinone)*, который обозначают (CoQ<sup>-•</sup>).

Затем присоединением ещё *одного* дополнительного электрона и *двух протонов* образуется полностью восстановленная форма убихинона *дигидроубихинон (CoQH<sub>2</sub>) (dihydroquinone)* (рисунок 166).

Обе формы убихинона: и CoQ, и CoQH<sub>2</sub> – являются *жирорастворимыми* (липофильными), они свободно диффундируют по внутренней мембране митохондрии. Убихинон получает электроны и от НАДН-CoQ-редуктазы (комплекс I) (рисунок 167), и от сукцинат-CoQ-редуктазы (комплекс II) (рисунок 168) и передает их на CoQH<sub>2</sub>-цитохром c редуктазу (комплекс III).

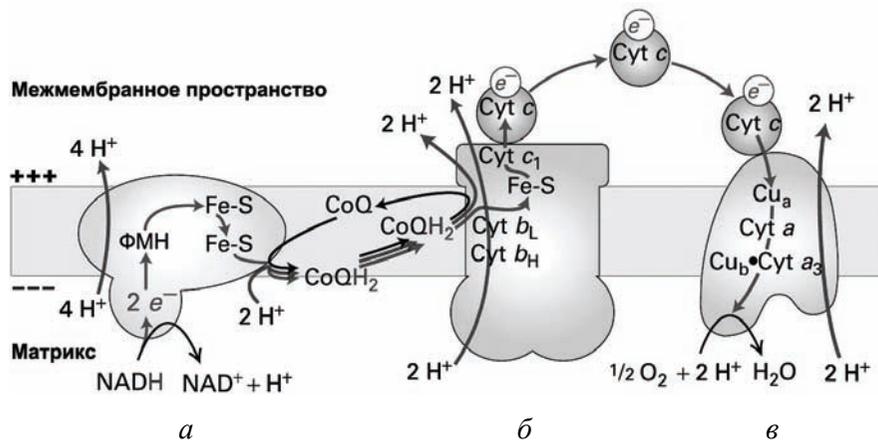


Рисунок 167 – Схема взаимодействия компонентов дыхательной цепи:  
 а – НАДН-CoQ-редуктаза (комплекс I); б – CoQH<sub>2</sub>-цитохром c редуктаза (комплекс III);  
 в – цитохром c оксидаза (комплекс IV)

Важно, что восстановление и окисление убихинона (CoQ) сопряжено с *перекачкой (транслокацией)* протонов через мембрану из матрикса в межмембранное пространство митохондрии.

*Суммарно* (рисунок 167) *на каждую пару электронов с НАДН* через мембрану перекачивается *десять* протонов.

Завершается процесс переноса электронов в матриксе *образованием* ферментом *цитохром-с-оксидаза* молекулы *воды* из молекулярного кислорода (рисунок 167(в)).

При окислении *сукцината в фумарат* (рисунок 168) и переносе электронов с комплекса (II) на убихинон *не происходит* перекачка протонов через мембрану, а дальнейшая цепь переноса электронов через комплексы (III) и (IV) в этом случае идентична переносу электронов с НАДН (рисунок 167(б,в)). Поэтому на каждую пару электронов переносимых с сукцината на O<sub>2</sub> через мембрану транслируется *только шесть* протонов.

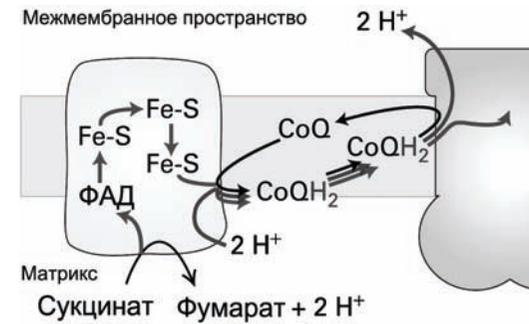


Рисунок 168 – Схема переноса электрона убихиноном CoQ с сукцинат-CoQ-редуктазы (комплекс II) на CoQH<sub>2</sub>-цитохром c редуктазу (комплекс III)

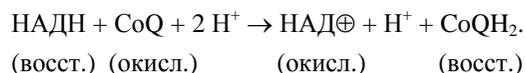
Убихинон получает электроны с той части комплексов (I) и (II), которые ориентированы *в матрикс* (рисунки 167 и 168). Восстановленный убихинон CoQH<sub>2</sub> (дигидроубихинон) передает электроны комплексу (III) на домен, который ориентирован *в межмембранное пространство*, высвобождая при этом два связанных с CoQH<sub>2</sub> протона в межмембранное пространство. Поэтому перенос каждой пары электронов убихиноном *обязательно* сопровождается транслокацией *двух* протонов из матрикса в межмембранное пространство. Такое *циклическое циркулирование* убихинона, в результате которого комплекс (III) переносит дополнительно *два* электрона, называют "Q-цикл".

### 8.3. Компоненты дыхательной цепи

**8.3.1. НАДН-СоQ-редуктаза (комплекс I).** Этот комплекс переносит электроны с НАДН на убихинон СоQ.  $\text{НАД}^{\oplus}$  является двухэлектронным переносчиком – он принимает и отдает по два электрона одновременно.

В комплексе (I) электроны сначала переносятся с НАДН на акцептор ФМН (флаavinмононуклеотид), затем по цепочке Fe-S кластеров передается на СоQ (рисунок 167). ФМН аналогично ФАД может присоединить два электрона, но делает это по одному электрону за раз.

Суммарная реакция, катализируемая комплексом (I):

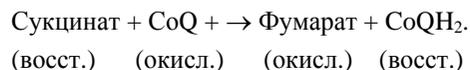


Каждый электрон понижает редокс-потенциал на 360 мВ, что эквивалентно выигрышу в свободной энергии  $\Delta G = -16,6$  ккал/моль для двух переносимых электронов (см. рисунок 162). Большая часть этой энергии расходуется на *транслокацию* протонов протонной помпой через внутреннюю мембрану – на каждую окисленную молекулу НАДН через мембрану перекачивается *четыре* протона.

**8.3.2. Сукцинат-СоQ-редуктаза (комплекс II).** В состав мультибелкового комплекса (II) сукцинат-СоQ-редуктаза (рисунок 168) входит как составная часть *сукцинат дегидрогеназа* – фермент, который окисляет сукцинат ( $^-\text{OOC}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COO}^-$ ) до фумарата ( $^-\text{OOC}-\text{CH}=\text{CH}-\text{COO}^-$ ) в цитратном цикле (рисунок 157).

Те два электрона, которые высвобождаются в этой реакции переносятся сначала на ФАД, а затем по цепочке Fe-S кластеров на СоQ.

Суммарная реакция, катализируемая комплексом (II):



Хотя эта реакция энергетически выгодна ( $\Delta G < 0$ ), но в ней выделяется *недостаточно энергии для транслокации протона*.

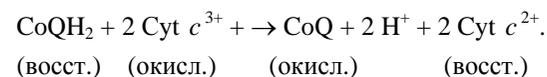
Поэтому комплекс (II) *не перекачивает протоны* через мембрану (не является протонным насосом) и не участвует в создании протондвижущей силы.

**8.3.3. СоQH<sub>2</sub>-цитохром с редуктаза (комплекс III).** Молекула дигидрохинона, переносящая *два электрона* либо с комплекса (I), либо с комплекса (II), отдает их комплексу СоQH<sub>2</sub>-цитохром с редуктаза, регенерируясь обратно в убихинон СоQ. При этом *два протона*, присоединенных к убихинону из матрикса, высвобождаются в межмембранное пространство, создавая часть протондвижущей силы.

В комплексе (III) два электрона, полученные с СоQ, передаются по *цепочке акцепторов* в которую входят Fe-S кластер, два цитохрома *b*-типа ( $b_L$  и  $b_H$ ) и цитохром  $c_1$ .

Наконец, оба электрона переносятся на две молекулы цитохрома *c* (**Cyt c**) – водорастворимого белка-переносчика электронов, который диффундирует в межмембранном пространстве (рисунок 167(б)).

Для каждой пары электронов *суммарная реакция*, которую катализирует комплекс (III):



Изменение энергии  $\Delta G$  в этой реакции существенно отрицательно и этого энерговыделения достаточно для *транслокации дополнительно двух протонов* из матрикса протонным насосом на каждую пару электронов перенесенных через комплекс (III).

**8.3.4. Цитохром с оксидаза (комплекс IV).** После восстановления на комплексе (III) белок-переносчик *цитохром с* переносит электрон на комплекс (IV) – фермент *цитохром с оксидаза* (рисунок 169).



хара, используя протон-сахаридные симпортеры (транспортные мембранные белки), так и для вращения жгутика бактерии (рисунок 143).

Примитивные аэробные бактерии, по-видимому, были *предшественниками митохондрий* эукариотических клеток (рисунок 147).

**8.4.2. F<sub>0</sub>F<sub>1</sub> комплекс.** Комплекс F<sub>0</sub>F<sub>1</sub> или *АТФ-синтаза* состоит из двух главных компонентов F<sub>0</sub> и F<sub>1</sub> (рисунок 170). Иногда комплекс F<sub>0</sub>F<sub>1</sub> называют комплексом V, поскольку АТФ-синтаза напрямую связана с дыхательной цепью.

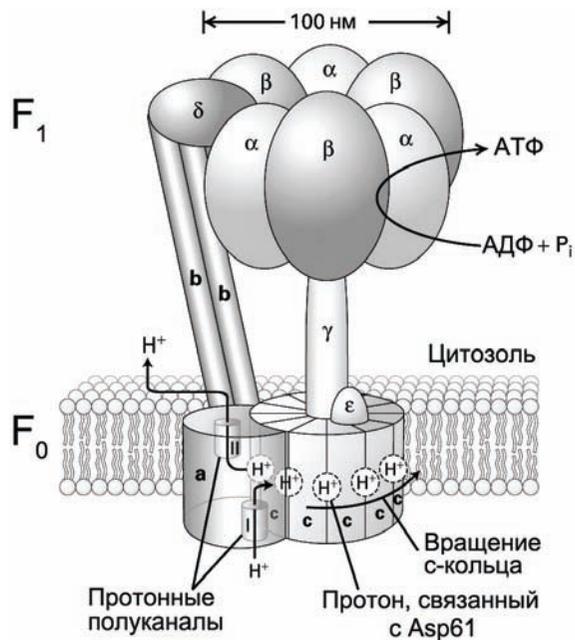


Рисунок 170 – Схема АТФ-синтазы в плазматической мембране бактерий

*Мембранный компонент* F<sub>0</sub> состоит из трех типов интегральных мембранных белков, которые обозначаются **a**, **b** и **c**. В клетках *бактерий и дрожжей* часть F<sub>0</sub> состоит из *одной* субъединицы **a**, *двух* субъединиц **b** и *десяти* субъединиц **c**, поэтому состав компонента F<sub>0</sub> записывают как **a<sub>1</sub>b<sub>2</sub>c<sub>10</sub>**.

Компонент F<sub>0</sub> митохондрий клеток *животных* содержит 12 субъединиц **c**, а хлоропластов растений – 14 субъединиц **c**. Субъединицы **c** образуют кольцо в плоскости мембраны. Субъединицы **a** и **b** прочно связаны между собой, но не связаны с кольцом субъединиц **c**.

*Цитозольный компонент* F<sub>1</sub> является водорастворимым комплексом пяти различных полипептидов и имеет структуру  $\alpha_3\beta_3\gamma\delta\epsilon$ .

В нижней части F<sub>1</sub> находится субъединица  $\epsilon$ , которая прочно присоединена как к субъединице  $\gamma$ , так и к нескольким субъединицам **c** компонента F<sub>0</sub>.

Субъединицы  $\alpha$  и  $\beta$  компонента F<sub>1</sub> соединены друг с другом поочередно и формируют *кольцевой гексамер*  $\alpha\beta\alpha\beta\alpha\beta$  или  $(\alpha\beta)_3$ , который расположен наверху субъединицы  $\gamma$ . Субъединица  $\delta$  прикрепляет этот гексамер к субъединицам **b** компонента F<sub>0</sub>.

В результате субъединицы **a** и **b** компонента F<sub>0</sub> вместе с субъединицей  $\delta$  и гексамером  $(\alpha\beta)_3$  компонента F<sub>1</sub> образуют *прочную* связанную структуру, которая закорена в мембране – своеобразный *статор*, который не участвует в механическом движении и относительно которого вращается *ротор*, состоящий из субъединиц **c** компонента F<sub>0</sub> и субъединиц  $\gamma$  и  $\epsilon$  компонента F<sub>1</sub>.

**8.4.3. Синтез АТФ.** Протон через *протонный полуканал* I в субъединице **a** доходит до субъединицы **c** и связывается с аспартатом Asp61 этой субъединицы. После поворота c-кольца этот протон достигает *полуканала* II, который позволяет протону диссоциировать с аспартата и выйти в цитозоль.

Создаваемое таким потоком протонов вращение субъединицы  $\gamma$  относительно неподвижных субъединиц  $\alpha$  и  $\beta$  циклически стимулирует конформационные переходы в каталитических субъединицах  $\beta$ .

Каждая каталитическая субъединица  $\beta$  *поочередно* принимает *три* конформации (рисунок 171):

1. О-конформацию (*open*), которая слабо связывает АДФ и P<sub>i</sub>, и не связывает АТФ,

2. L-конформацию (*low*), которая сильнее связывает АДФ и  $P_i$ ,
3. T-конформацию (*tight*), в которой АДФ и  $P_i$  связываются так сильно, что спонтанно формируют АТФ.

Дальнейшее вращение субъединицы  $\gamma$  возвращает каталитическую субъединицу в исходную O-конформацию, в которой образованная молекула АТФ отсоединяется, и цикл начинается снова.

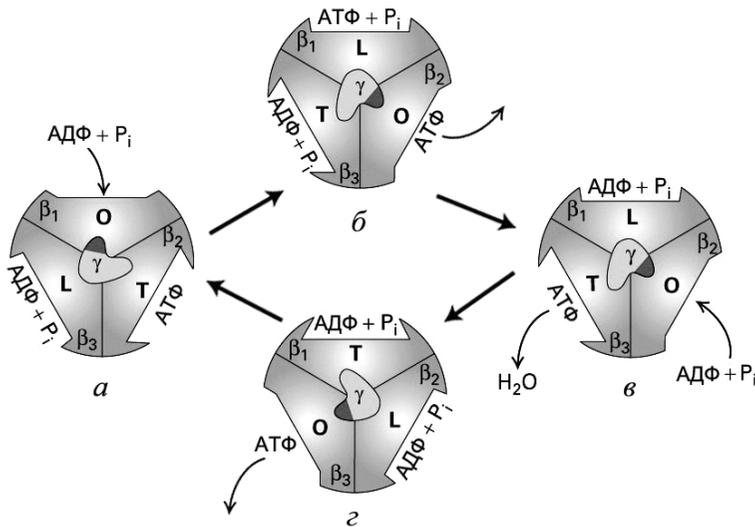


Рисунок 171 – Каталитический цикл АТФ-синтазы

Допустим АДФ и  $P_i$  связываются с субъединицей  $\beta_1$ , находящейся в O-конформации (рисунок 171(a)). Ток протонов проворачивает ротор АТФ-синтазы (и  $\gamma$ -субъединицу) на  $120^\circ$  относительно неподвижных субъединиц  $\beta$  (рисунок 171 (a)→(б)).

В результате такого поворота способность субъединицы  $\beta_1$  к связыванию АДФ и  $P_i$  возрастает с O до L, соответственно, у субъединицы  $\beta_3$  возрастает с L до T, а у субъединицы  $\beta_2$  снижается с T до O, что приводит к выходу образованной молекулы АТФ из субъединицы  $\beta_2$ .

На следующем этапе (рисунок 171 (б)→(в)) АДФ и  $P_i$  внутри субъединицы  $\beta_3$ , которая теперь имеет T-конформацию, сливаются в молекулу

АТФ, а к субъединице  $\beta_2$  (в конформации O) присоединяются АДФ и  $P_i$ . В результате (рисунок 171(в)) образуется такой же комплекс  $F_1$  с метаболитами, как и вначале (рисунок 171(a)), но повернутый на  $120^\circ$ .

На следующем этапе (рисунок 1710 (в)→(г)) происходит поворот ещё на  $120^\circ$   $\gamma$ -субъединицы, который снова стимулирует O→L→T→O конформационные изменения субъединиц  $\beta$ , описанные выше. Повторение этапов (a)→(б) и (б)→(в) приводит к образованию трех молекул АТФ на каждый "полный оборот"  $\gamma$ -субъединицы на  $360^\circ$ .

Молекулы АТФ или АДФ также связываются с регуляторными (или аллостерическими) центрами на трех  $\alpha$ -субъединицах. Такое связывание обеспечивает *изменение скорости* синтеза АТФ по мере изменения концентрации АТФ в матриксе, но не влияет непосредственно на синтез АТФ из АДФ и  $P_i$ .

**8.4.4. Вращение ротора АТФ-синтазы.** Принцип работы мотора  $F_0$ , который в настоящее время считается наиболее обоснованным из множества выдвинутых гипотез и реализующий процесс *вращательной диффузии*, показан на рисунке 172.

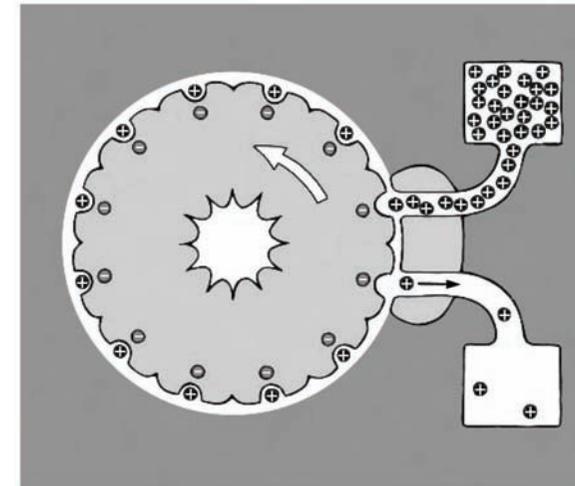


Рисунок 172 – Принцип работы мотора  $F_0$

Цилиндрический трансмембранный ротор АТФ-синтазы имеет отрицательно заряженные *центры связывания* протонов (радикалы аспарагиновой кислоты Asp61). Поскольку ротор погружен в мембрану, он может вращаться, только если эти центры нейтрализованы протонами.

Протоны достигают ротора через один *полуканал* в статоре (на рисунке 31 схематически показан статорный домен, примыкающий справа к ротору) и, совершив круг вместе с ротором, выходят через другой *полуканал* в теле статора с противоположной стороны мембраны.

В настоящее время подробно исследованы два варианта мотора  $F_0$ , которые приводятся в движение потоками *протонов* или *ионов натрия*.

В принципе ротор мотора  $F_0$  может совершать *произвольные скачки* в *обоих* направлениях, стимулированные тепловым движением. Для обеспечения *однонаправленного* вращения необходимо *разрешать* повороты в *нужном* направлении и *блокировать* повороты ротора в *обратном* направлении. Другими словами, мотор из произвольных случайных тепловых движений должен "отбирать" только "благоприятные" события или выполнять функцию "броуновского решета" (или "броуновского храповика"). *Отрицательно заряженные* радикалы аспарагиновой кислоты в центрах связывания протонов ротора *не позволяют* ротору свободно вращаться в мембране. Через полуканал в статоре (верхний полуканал на рисунке 172) протоны из области с повышенной концентрацией протонов проходят к ротору. В области, закрытой от мембраны статором, аспартаты ротора могут протонироваться, нейтрализуя тем самым свой отрицательный заряд. Нейтрализованные домены ротора могут затем вращаться (против часовой стрелки, как показано на рисунке) внутри мембраны. После завершения оборота протонированный аспартат снова попадает в экранированную от мембраны статором область. Здесь находится второй полуканал, выходящий на противоположную сторону мембраны, где концентрация протонов ниже.

Протон диссоциирует с аспартата и выходит через полуканал, а оставшийся заряженный аспартат *не позволяет* ротору вращаться в обратном направлении (своеобразный молекулярный храповик, выполняющий функцию броуновского решета).

Весь этот процесс *обратим*.

*Самопроизвольно* мотор  $F_0$  будет захватывать протоны из полуканала, где их концентрация высока, и высвобождать их в полуканал, где концентрация протонов низка.

Однако, *если приложить* к ротору постоянный *вращательный момент* в противоположном направлении, то ротор не сможет вращаться (теперь уже по часовой стрелке в направлении противоположном указанному на рисунке 172 стрелкой) до тех пор, пока он не захватит протон из полуканала с низкой концентрацией протонов.

Завершив оборот, ротор высвободит протон в полуканал с высокой концентрацией протонов. В этом случае, под действием внешней силы, мотор будет работать как *протонная помпа*, перекачивающая протоны через мембрану.

### 8.5. Транспорт АТФ и АДФ через внутреннюю мембрану митохондрии

*Протондвижущая сила* не только служит источником энергии для синтеза АТФ, но и *обеспечивает* перенос через внутреннюю мембрану тех молекул АТФ, которые были синтезированы в матриксе митохондрии в процессе окислительного фосфорилирования в обмен на АДФ и  $P_i$  из межмембранного пространства. Такой обмен, необходимый для того, чтобы процесс окислительного фосфорилирования продолжался постоянно, осуществляется *двумя* транспортными белками во внутренней мембране митохондрии (рисунок 173):

- 1) транспортёр фосфата ( $HPO_4^{2-}/OH^-$  антипорт),
- 2) АТФ/АДФ антипорт.

Транспортёр фосфата сопрягает транслокацию одного иона  $HPO_4^{2-}$  внутрь матрикса и одного гидроксил-иона  $OH^-$  наружу из матрикса митохондрии. Аналогично АТФ/АДФ антипорт транслоцирует одну молекулу АДФ внутрь матрикса одновременно с переносом одной молекулы АТФ наружу из матрикса. АТФ/АДФ антипорты, составляющие 10-15% белков внутренней мембраны митохондрии, являются самыми *многочисленными* митохондриальными белками.

Гидроксил-ионы  $\text{OH}^-$ , выкачиваемые наружу, соединяются с протонами  $\text{H}^+$ , которые выкачиваются из матрикса системами электронного транспорта, в результате образуются молекулы воды  $\text{H}_2\text{O}$ . Образование воды поддерживает градиенты протонов и гидроксил-ионов на уровне, обеспечивающем непрерывность работы транспортных антипортов.

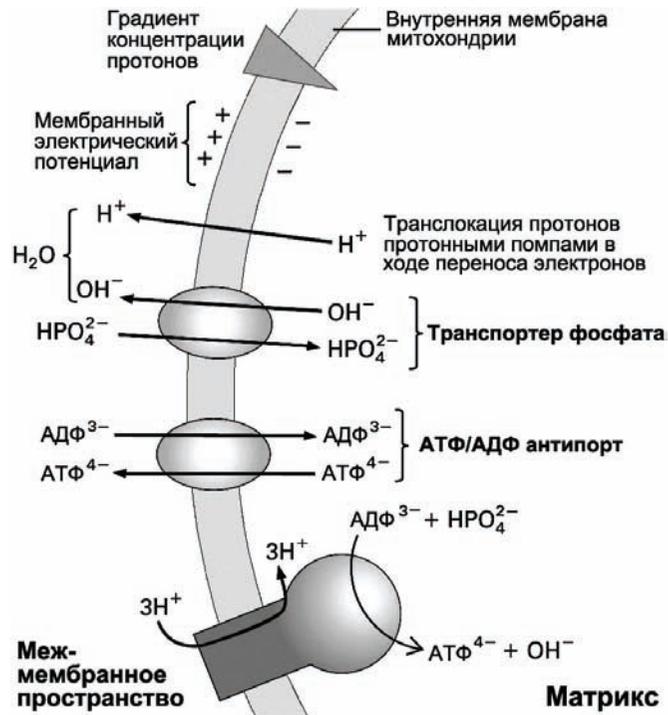


Рисунок 173 – Транспортные системы АТФ, АДФ и  $\text{P}_i$  во внутренней мембране митохондрии

Те протоны, которые были предварительно выкачаны из матрикса в ходе переноса электронов, и которые в результате рекомбинации с гидроксил-ионами были использованы на обеспечение трансмембранного транспорта АТФ, АДФ и  $\text{P}_i$ , очевидно, *не будут* принимать участие в токе протонов, обеспечивающем работу АТФ-синтаз.

По оценкам, из *четырёх* транслоцированных протонов *три* используются на синтез АТФ, а *четвёртый* расходуется на вывод этой молекулы АТФ в результате совместной работы двух транспортных антипортов.

В результате в цитозоле клетки достигается и высокий уровень концентрации АТФ, который далее используется в различных энергозависимых клеточных процессах, и необходимая для непрерывного синтеза АТФ концентрация АДФ и  $\text{P}_i$  в матриксе митохондрии.

**Роль концентрации АДФ.** Если изолированную митохондрию снабжать необходимым количеством НАДН,  $\text{O}_2$  и  $\text{P}_i$ , но не обеспечивать молекулами АДФ, то процессы окисления НАДН и восстановления  $\text{O}_2$  быстро прекратятся, поскольку запасы АДФ быстро будут исчерпаны в результате синтеза АТФ. Если же затем добавить в систему АДФ, то окисление НАДН начнется снова. Следовательно, митохондрия может окислять ФАДН<sub>2</sub> и НАДН *только тогда*, когда существует источник пополнения запаса АДФ и  $\text{P}_i$  для синтеза АТФ.

Это явление, которое носит название *дыхательный контроль* (или *респираторное регулирование*), происходит вследствие того, что окисление НАДН, сукцината или ФАДН<sub>2</sub> обязательно сопряжено с транспортом протонов через внутреннюю мембрану митохондрии.

Если же образующаяся протондвижущая сила не расходуется в процессах синтеза АТФ из АДФ и  $\text{P}_i$  (или по любой другой причине), то и трансмембранный градиент протонов и мембранный потенциал увеличивается *до очень больших значений*. А в этом случае продолжение перекачки протонов будет требовать таких больших затрат энергии, что этот процесс неизбежно *затормозится* и *заблокирует* сопряженные с ним процессы окисления НАДН и других метаболитов.

## ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

1. Какая часть свободной энергии, выделяющейся при полном окислении глюкозы, запасается в коферментах НАДН и ФАДН<sub>2</sub>?
2. Какой процесс называется окислительным фосфорилированием?
3. Из каких мультибелковых комплексов состоит дыхательная цепь?

4. Окисление каких коферментов является источником энергии для создания протондвижущей силы на внутренней мембране митохондрии?
5. Какие акцепторы электронов используются в дыхательной цепи?
6. Каким образом структура гемов цитохромов позволяет устанавливать значение восстановительного потенциала данного цитохрома?
7. Какие переносчики электронов используются в дыхательной цепи?
8. В чем сходство и различие мобильных электронных переносчиков убихинон и цитохром *c*?
9. В чем заключается специфика комплекса I дыхательной цепи?
10. В чем заключается специфика комплекса II дыхательной цепи?
11. В чем заключается специфика комплекса III дыхательной цепи?
12. В чем заключается специфика комплекса IV дыхательной цепи?
13. Сколько протонов суммарно транслоцируется через внутреннюю мембрану митохондрии на каждую прошедшую по дыхательной цепи от НАДН к O<sub>2</sub> пару электронов?
14. Какова биологическая функция мультибелкового комплекса F<sub>0</sub>F<sub>1</sub>?
15. Какие субъединицы входят в состав мембранного компонента F<sub>0</sub>?
16. Какие субъединицы входят в состав цитозольного компонента F<sub>1</sub>?
17. Каким образом трансмембранный ток протонов через комплекс F<sub>0</sub> приводит к синтезу АТФ в комплексе F<sub>1</sub>?
18. Какие мембранные системы обеспечивают непрерывность процесса окислительного фосфорилирования? Какая сила служит источником энергии для этого процесса?
19. Что такое респираторное регулирование?
20. Каким образом дыхательный контроль координирует процессы окисления и фосфорилирования в митохондрии?

## 9. ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ

Фотосинтез происходит в хлоропластах растений. *Главными продуктами фотосинтеза являются:*

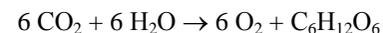
- *сахароза* – дисахарид глюкоза{α1→2}фруктоза,
- *крахмал* – [поли{α1→4глюкоза}] – нерастворимый полимер из мономеров глюкозы.

*Крахмал* в листьях растений синтезируется и хранится в *хлоропластах* (см. рисунок 21 и п.4.3).

*Сахароза синтезируется в цитозоле* клеток листьев из трикарбонных предшественников, которые в свою очередь синтезируются в хлоропластах.

Сахароза транспортируется в нефотосинтезирующие (не зеленые) ткани растения (например, корень или плоды), где она используется в качестве источника энергии для синтеза АТФ.

В *растениях*, в эукариотических *водорослях* и в некоторых фотосинтетических *бактериях* (например, в цианобактериях или прохлорофитах) в ходе фотосинтеза также образуется *молекулярный кислород*. *Суммарная реакция* для случая кислород-образующего фотосинтеза



представляет собой просто обратную реакцию окисления углеводов до CO<sub>2</sub> и H<sub>2</sub>O.

*Зеленые и пурпурные бактерии* также осуществляют фотосинтез, но при этом *не производят кислород*.

Фотосинтетические реакции поглощения света и синтеза АТФ происходят *на мембранах тилакоидов*, расположенных в строме хлоропластов (рисунок 21). Две ограничивающие хлоропласты снаружи мембраны – проницаемая внешняя и внутренняя – не участвуют в фотосинтезе.

## 9.1. Этапы фотосинтеза

Процесс фотосинтеза может быть разделен на *четыре этапа*, каждый из которых происходит в определенной области хлоропласта:

- 1) *поглощение света*,
- 2) *перенос электрона*, в результате чего образуется  $O_2$  из  $H_2O$ , восстанавливается НАДФ<sup>+</sup> до НАДФН и создается протондвижущая сила,
- 3) *синтез АТФ*,
- 4) *преобразование  $CO_2$  в углеводы*, которое обычно называют *фиксация углерода*.

Все четыре этапа фотосинтеза сопряжены, взаимосвязаны и взаимозависимы таким образом, чтобы в результате растение получало именно столько углеводов, сколько ему необходимо. Все реакции на этапах 1–3 катализируются белками тилакоидной мембраны.

Ферменты, которые превращают  $CO_2$  в *углеводы*, а затем в *крахмал*, являются водорастворимыми и располагаются в *строме* хлоропласта.

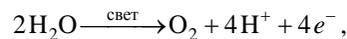
Ферменты, которые синтезируют *сахарозу* из трикарбонных предшественников, расположены в *цитозоле* клетки.

**9.1.1. Поглощение света.** Фотосинтез начинается с поглощения света молекулами *хлорофиллов*, которые связаны с белками в тилакоидной мембране.

Молекулы хлорофиллов *напоминают геммы* тем, что они содержат порфириновое кольцо (циклический тетрапиррол) (рисунок 164), которое присоединено к длинному углеводородному хвосту (рисунок 174).

В отличие от гемов, хлорофилл вместо иона железа содержит ион магния,  $Mg^{2+}$ , и дополнительное пятиуглеродное кольцо (рисунок 174(3)).

Энергия поглощенного света используется для *удаления электрона* с донора (которым в случае зеленых растений является молекула воды) и *образования молекулярного кислорода*



а затем для переноса электрона к первичному электронному переносчику, *хинону*, который обозначается Q, и который аналогичен CoQ. Хинон в тилакоидах хлоропластов называется *пластохиноном*.

Пластохинон уносит электрон от положительно заряженного хлорофилла *a* – этот процесс называется *разделение зарядов*.

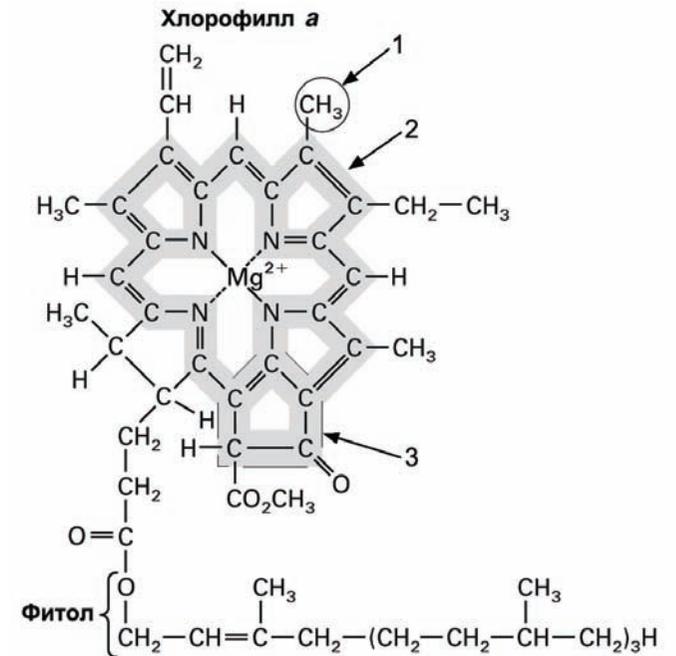


Рисунок 174 – Схема молекулы хлорофилл *a*: 1 –  $CH_3$  группа, в хлорофилле *b* заменяется на группу  $-HC=O$ ; 2 – порфириновое кольцо; 3 – дополнительное по сравнению с гемом пятичленное кольцо. Гидрофобный фитол обеспечивает встраивание хлорофилла в гидрофобное ядро белка

После этого хлорофилл восстанавливается электроном, который (в хлоропластах растений) "изымается" у молекулы воды, что приводит в итоге к образованию молекулярного кислорода.

**9.1.2. Перенос электрона и генерация протондвижущей силы.** Электроны уводятся с *первичного* электронного акцептора – пластохинона

– по цепочке электронных переносчиков к *финальному* акцептору электронов – обычно к никотинамид-аденин-динуклеотид-фосфату (в окисленной форме НАДФ<sup>+</sup>), восстанавливая его до НАДФН (рисунок 175).

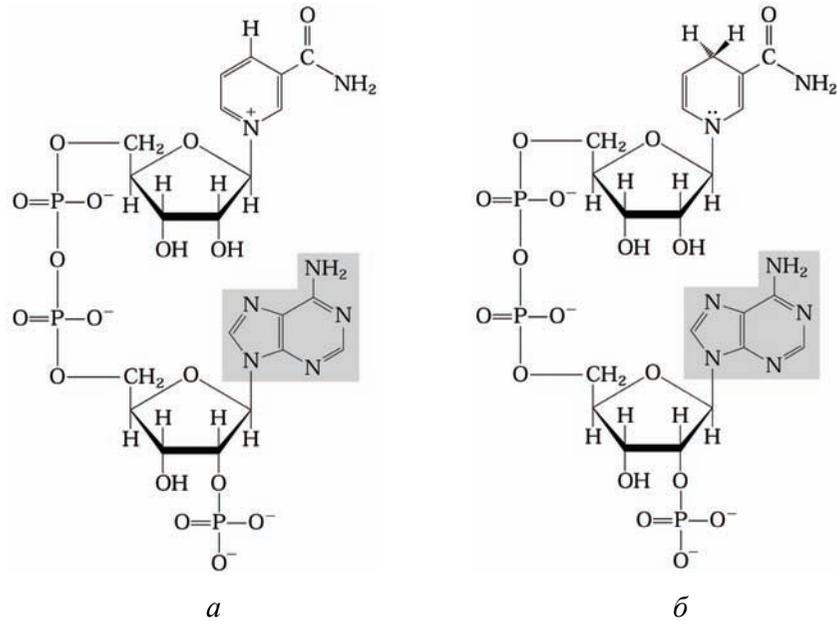
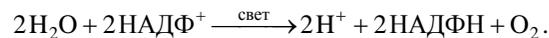


Рисунок 175 – Окисленная и восстановленная формы молекулы никотинамид-аденин-динуклеотид-фосфат (НАДФ): *a* – окисленная форма НАДФ<sup>+</sup>, *б* – восстановленная форма НАДФН

Перенос электронов в тилакоидной мембране сопряжен с *транслокацией* протонов из стромы в люмен тилакоида. В результате образуется градиент рН на тилакоидной мембране ( $pH_{\text{люмена}} < pH_{\text{стромы}}$ ).

Этот процесс *аналогичен* созданию протондвижущей силы на внутренней мембране митохондрии в результате переноса электронов по дыхательной цепи (рисунок 144).

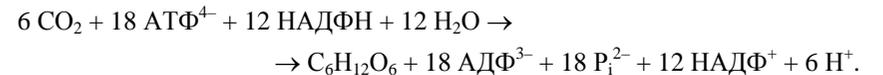
Суммарная реакция на стадиях 1 и 2 имеет вид



**9.1.3. Синтез АТФ.** Ток протонов из люмена тилакоидов в строму, который стимулируется градиентом концентрации протонов, проходит через  $F_0F_1$ -комплексы (АТФ-синтазы), в которых, так же как и в митохондриях, движение протонов сопряжено с синтезом АТФ из АДФ и  $P_i$ . Механизм синтеза АТФ в хлоропластах идентичен механизму такого синтеза в мембранах митохондрий и плазматической мембране бактерии (рисунки 170 и 171).

**9.1.4. Фиксация углерода.** Энергия и электроны, запасенные в молекулах АТФ и НАДФН в ходе второго и третьего этапов фотосинтеза, используются в процессе синтеза полимеров шестиуглеродных сахаров из молекул  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ .

Суммарная реакция записывается в виде



Те реакции, в которых образуются АТФ и НАДФН, напрямую зависят от наличия поглощения света. Поэтому этапы 1–3 называют *световыми реакциями* фотосинтеза.

Те реакции, которые протекают на стадии 4, не зависят напрямую от поглощения света, поэтому их называют *темновыми реакциями*.

Однако следует помнить, что реакции на стадии 4, конечно же, не обусловлены темнотой, в реальных условиях они протекают, главным образом, в светлое время в условиях естественной освещенности.

Реакции 4 стадии происходят в строме хлоропласта и в цитозоле клетки.

## 9.2. Фотосистемы

Поглощение света и конверсия энергии фотонов в химическую энергию происходит в мультибелковых комплексах, которые называются *фотосистемами*. Фотосистемы обнаружены во всех фотосинтезирующих организмах.

Фотосистемы *состоят из двух связанных компонентов:*

- *реакционный центр*, в котором происходит возбуждение высокоэнергетичного электрона – первичное событие в процессе фотосинтеза,
- *светособирающие комплексы, ССК (light-harvesting complexes, ЛНС), светособирающей антенны*, которая поглощает свет разных длин волн и передает эту поглощенную энергию в реакционный центр.

И реакционные центры, и антенны содержат *светопоглощающие пигментные молекулы*. Главным пигментом в фотосистемах является *хлорофилл a*, который входит в состав, как антенн, так и реакционных центров. Кроме хлорофилла *a* в антеннах находятся другие пигменты – *хлорофилл b* в растениях и *каротиноиды* в растениях и фотосинтезирующих бактериях, которые имеют в своем составе углеводородные цепочки с чередующимися одинарными и двойными (насыщенными и ненасыщенными) углерод-углеродными связями (например, полиметиновые или изопреновые цепи). Каротиноиды являются полиненасыщенными углеводородами терпенового ряда. Молекула *каротина* (производная изопреноидного углеводорода – тетратерпена  $C_{40}H_{64}$ ) построена из восьми звеньев изопрена  $C_5H_8$  ( $CH_2-C(CH_3)=CH-CH_2$ ) (рисунок 176).

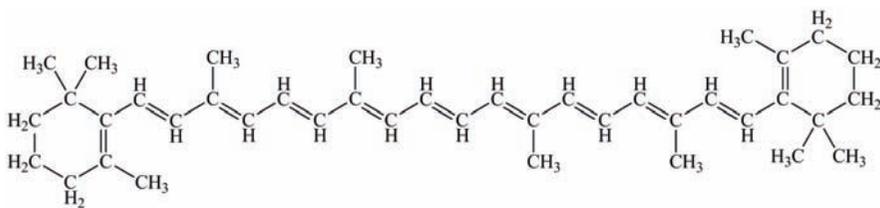


Рисунок 176 – Схема молекулы  $\beta$ -каротина

Наличие в антеннах разнообразных *пигментов*, которые поглощают свет *разной длины волны*, существенно *расширяет диапазон спектра*, который может быть поглощен и использован в фотосинтезе.

На рисунке 177 показано, что кривая зависимости интенсивности фотосинтеза от длины волны падающего света *коррелирует со спектрами пигментов*, находящихся в светособирающих антенных комплексах.

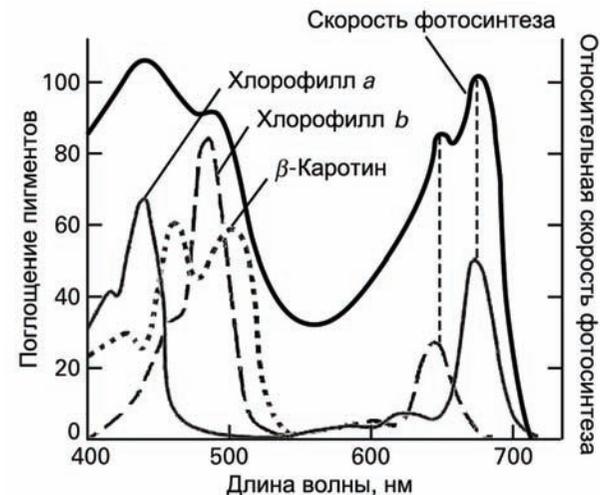


Рисунок 177 – Зависимость интенсивности фотосинтеза от длины волны падающего света и спектры поглощения пигментов хлорофилл *a*, хлорофилл *b* и  $\beta$ -каротин

В качестве примера на рисунке 178 представлена молекулярная модель фотосинтетического центра, расположенного в мембране *цианобактерии*. Он использует "специальную пару" (*special pair*) (димер) молекул хлорофилла (показаны темно-серым цветом в центре молекулы) для генерации высокоэнергетичного электрона. (Растительным аналогом такого центра является фотосистема ФС1 (см. п.10.2).

В *обычных условиях* такой возбужденный электрон быстро бы разменял энергию в виде тепловых фононов или переизлучил бы квант света несколько меньшей энергии, чем была поглощена (флуоресценция).

Но фотосинтетический реакционный центр устроен так, чтобы обойти этот естественный путь энергетической релаксации. Вместо этого возбужденный электрон *уводится* от хлорофилла по эстафете вдоль цепи кофакторов и железо-серных кластеров (путь показан стрелками).

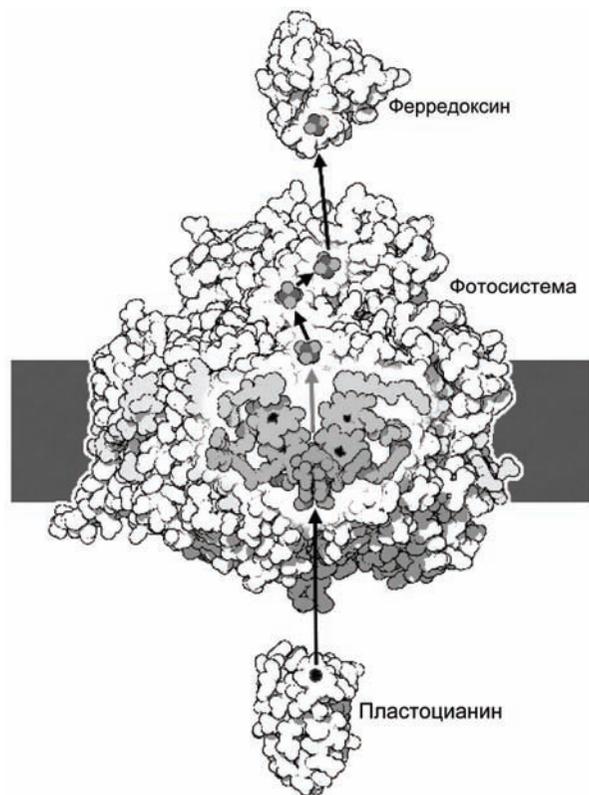


Рисунок 178 – Фотосинтетический реакционный центр цианобактерии

В конце концов, электрон помещается на водорастворимый белок-переносчик (такой, как, например, *ferredоксин*), для транспортировки к месту использования.

Медьсодержащий белок *пластоцианин*, показанный внизу рисунка, замещает недостающий в реакционном центре электрон низкоэнергетичным электроном, восстанавливая хлорофилл в исходное состояние.

В результате мы имеем перенос электрона от низкоэнергетичного источника к высокоэнергетичному переносчику.

В большинстве фотосинтетических организмов источником электрона является молекула *воды*, которая окисляется до молекулярного кислорода. Электрон возбуждается в фотосинтетическом центре, затем

помещается на металлопротеин (такой как, *ferredоксин*) для перемещения его в необходимое место системы.

*Фотосистемы* содержат эффективные комплексы пигментных молекул (*светособирающие комплексы*, ССК), которые поглощают свет и доставляют его к реакционному центру. На рисунке 179 изображена *светособирающая антенная фотосистема*, реакционный центр которой представлен на рисунке 178.

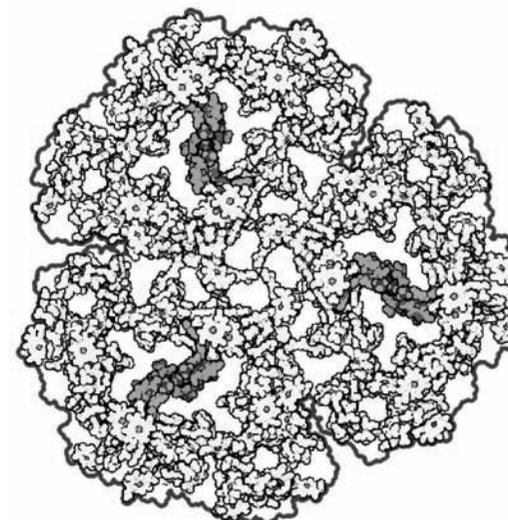


Рисунок 179 – Светособирающий антенный комплекс цианобактерии

Фотосистема состоит из трех идентичных субъединиц, каждая из которых имеет собственный реакционный центр (показаны темно-серым цветом). Окружающие их десятки молекул хлорофилла и каротиноидов работают как *антенна*, поглощая свет разных длин волн и передавая энергию от молекулы к молекуле (резонансным переносом энергии) к хлорофиллам в реакционных центрах субъединиц.

Энергия света также используется для совершения *механической работы*. Например, белок *бактериородопсин* транспортирует протоны через мембрану, используя энергию поглощенного света, а светочувствительный белок *опсин* изменяет форму глобулы, когда поглощает свет.

Подробнее молекулярные механизмы работы фотосистем будут рассмотрены ниже.

### 9.3. Разделение зарядов в реакционном центре фотосистемы

Когда молекула хлорофилла *a*, расположенная в составе "специальной пары" – димера хлорофиллов – *вблизи поверхности* реакционного центра, *обращенной к люмену* тилакоида, поглощает свет в максимуме поглощения 680 нм, эта молекула хлорофилла *a* переходит из основного энергетического состояния в первое возбужденное состояние и её энергия увеличивается на 42 ккал/моль. Реакционный центр устроен таким образом, что возбужденный электрон за счет квантово-механического *туннелирования* уходит с молекулы хлорофилла ещё до того момента времени, когда он смог бы релаксировать обратно в основное состояние.

Процесс туннелирования внутри реакционного центра по цепи промежуточных *акцепторов* электрона заканчивается на поверхности мембраны тилакоида, обращенной к строме на первичном акцепторе электрона – на молекуле *пластохинон Q* (рисунок 180(б)), которая подобна молекуле убихинона (рисунок 180(а)).

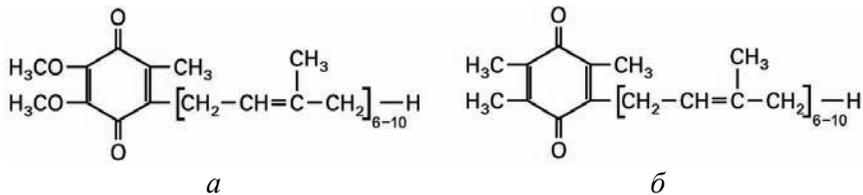


Рисунок 180 – Липофильные переносчики электрона: *a* – убихинон в дыхательной цепи митохондрии; *б* – пластохинон в фотосинтетической электротранспортной цепи хлоропласта

Такой перенос электронов по цепи промежуточных акцепторов, стимулированный поглощением фотона, называется **фотоэлектронным транспортом**.

Особенности фотоэлектронного транспорта зависят от особенностей белкового окружения, как хлорофилла, так и акцепторов электрона в

реакционном центре. В результате фотоэлектронного транспорта вблизи люминальной поверхности реакционного центра остается *положительно* заряженная молекула хлорофилла  $a^+$ , а вблизи поверхности, обращенной к строме, образуется *отрицательно* заряженный акцептор ( $Q^-$ ) (рисунок 181). Тем самым, в реакционном центре реализуется фотосинтетическое *разделение зарядов* (*charge separation*).

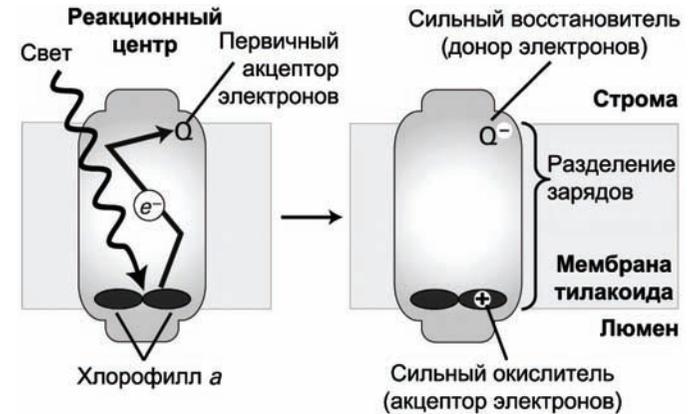
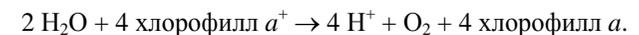


Рисунок 181 – Фотоэлектронный транспорт в реакционном центре

*Пластохинон Q<sup>-</sup>* является *сильным восстановителем*, который эффективно передает избыточный электрон другим молекулам, прежде всего, молекуле НАДФ<sup>+</sup>.

Положительно заряженный *хлорофилл a<sup>+</sup>* является *сильным окислителем*, захватывающим электрон на люминальной поверхности с целью регенерации исходного состояния хлорофилла *a*.

В растениях такой *захват электронов* четырьмя молекулами хлорофилла  $a^+$  в итоге приводит к удалению четырех электронов из двух молекул воды, связанных с люминальной поверхностью реакционного центра с образованием молекулярного кислорода:



Эти оба сильных биологических восстановителя и окислителя являются источником энергии для *всех последующих* реакций фотосинтеза – для переноса электронов, синтеза АТФ и фиксации  $\text{CO}_2$ .

Хлорофилл *a* поглощает фотоны и с длинами волн меньше, чем 680 нм (более высокоэнергетичные фотоны) (рисунок 38). В результате такого поглощения молекула возбуждается в одно из более высоких возбужденных состояний. Однако эти возбужденные состояния всё *равно релаксируют* в нижайшее (первое) возбужденное состояние за очень короткое время порядка одной пикосекунды ( $10^{-12}$  с), а избыточная энергия при этом выделяется в виде *тепла*.

Поскольку процессы фотоэлектронного транспорта, приводящего к разделению зарядов, начинаются всегда только с первого возбужденного состояния реакционного центра хлорофилла *a*, то *квантовый выход* – число актов фотосинтеза приходящееся на один поглощенный фотон – *не зависит от длины волны света* (с длинами волн короче (а, соответственно, с энергиями выше) чем 680 нм).

#### 9.4. Светособирающие комплексы

Несмотря на то, что молекула хлорофилла *a* реакционного центра способна непосредственно поглощать свет и инициировать фотосинтез, она возбуждается, главным образом, косвенно за счет энергии, которую она получает от светособирающих комплексов (ССК), связанных с реакционным центром светособирающей антенны. Примером ССК является светособирающая антенна цианобактерии (рисунок 179).

Действительно, даже в условиях *максимального* освещения, которые реализуются в полдень в тропиках, каждый хлорофилл *a* реакционного центра поглощает только *один* фотон в секунду, а этого не достаточно для поддержания достаточного уровня фотосинтеза в растениях.

*Использование комплексов* светособирающих антенн значительно *увеличивает эффективность фотосинтеза* как за счет увеличения поглощения на длине волны 680 нм, так и за счет использования абсорбционных свойств других пигментных молекул в других спектральных диапазонах.

Энергия поглощенная пигментными молекулами быстро (за время на менее одной наносекунды) передается на один из двух компонентов димера, образованного из двух молекул хлорофилла *a* в реакционном центре, где она инициирует процесс фотосинтетического разделения зарядов.

Белки, из которых образованы светособирающие комплексы, пространственно организуют молекулы пигментов таким образом, чтобы процессы поглощения света и переноса энергии к реакционным центрам осуществлялись *оптимальным* образом. Это максимизирует быстрый и эффективный *резонансный перенос энергии* от пигментных молекул антенны к реакционным центрам.

В цианобактериях и высших растениях в результате поглощения фотонов системой пигментных молекул энергия резонансно передается сначала к "интерфейсной" молекуле хлорофилла в каждом из светособирающих комплексов ("*bridging*" *chlorophyll*), а от них к хлорофиллам реакционных центров (рисунок 182).

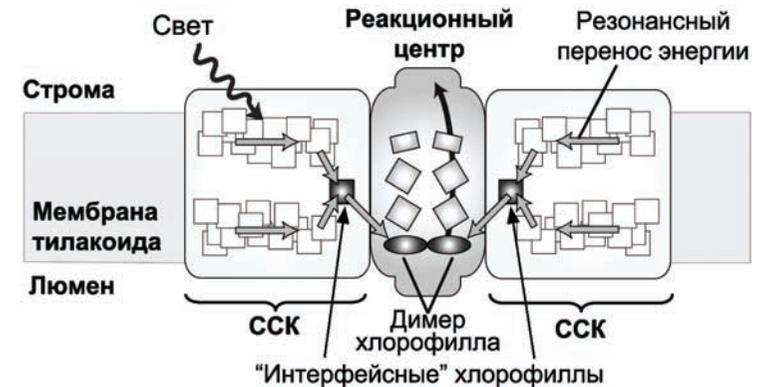


Рисунок 182 – Резонансный перенос энергии от светособирающих комплексов (ССК) к реакционному центру в фотосистеме I цианобактерии. Квадратами обозначены молекулы хлорофиллов

Примечательно, что *молекулярная структура* светособирающих комплексов в цианобактериях и растениях совершенно *отличается* от аналогичных комплексов в зеленых и пурпурных бактериях, несмотря на

то, что в состав комплексов обоих типов входят подобные кластеры молекул каротиноидов и хлорофилла.

Светособирающие комплексы, в отличие от реакционных центров, могут только поглощать фотоны, но они не могут высвобождать (генерировать) фотоэлектроны.

### ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

1. Назовите главные продукты фотосинтеза.
2. Какова функция третьей, тилакоидной, мембраны хлоропластов?
3. Назовите этапы фотосинтеза? Какие процессы происходят на каждом этапе?
4. В чем сходство и различие молекул гемов и молекулы хлорофилла *a*?
5. Что такое световые реакции фотосинтеза и в чем их отличие от темновых реакций?
6. Какие компоненты входят в фотосистемы?
7. Что такое светособирающие комплексы? Какие пигментные молекулы входят в состав светособирающих комплексов?
8. Что такое фотоэлектронный транспорт?
9. Какова функция пластохинона Q?
10. Как реализуется фотосинтетическое разделение зарядов в реакционном центре фотосистемы?
11. Почему квантовый выход фотосистем не зависит от длины волны падающего света?
12. Для чего используется резонансный перенос энергии в светособирающих антеннах?

### 10. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ФОТОСИНТЕЗА

Молекулярный кислород в результате фотосинтеза образуется в цианобактериях, водорослях и растениях, но не образуется в зеленых и пурпурных бактериях. В последних существуют только фотосистемы *типа* I, ФС1 (*photosystem I, PSI*), в которых происходит восстановление

НАДФ<sup>+</sup> до НАДФН, а в цианобактериях, водорослях и растениях дополнительно есть ещё фотосистемы *типа* II, ФС2 (*photosystem II, PSII*), в которых образуется O<sub>2</sub> из H<sub>2</sub>O.

Необходимо отметить, что в археобактериях, в отличие от всех перечисленных выше организмов, реализован совершенно иной специфический только для них механизм фотосинтеза, при котором белок плазматической мембраны бактериородопсин на каждый поглощенный им фотон выкачивает из цитозоля археобактерии один протон.

#### 10.1. Фотосистема пурпурных бактерий

Механизм разделения зарядов в фотосистеме пурпурных бактерий идентичен описанному выше механизму разделения зарядов в фотосистемах растений. Свет поглощает так называемая "специальная пара" – пигментный димер молекул бактериохлорофиллов *a*, очень быстро (за время менее 4 пикосекунд) возбужденный электрон переносится на молекулу феофитина (*pheophytin, Ph*), а хлорофилловый димер остается положительно заряженным.

Затем за 200 пс электрон переносится на молекулу менахинона Q<sub>A</sub>, и, наконец, за 200 мкс (самый медленный этап) происходит перенос электрона на молекулу убихинона Q<sub>B</sub> (рисунок 183) и образование полухинона Q<sub>B</sub><sup>-</sup> (см. рисунок 166).

Поглощение второго фотона этим же реакционным центром добавляет второй электрон на этот полухинон, в результате чего образуется полностью восстановленный хинон (дигидрохинон, QH<sub>2</sub>, рисунок 166), который высвобождается из реакционного центра и диффундирует по плазматической мембране бактерии к Q<sub>0</sub>-центру на экзоплазматической стороне комплекса цитохром *bc*<sub>1</sub>.

Связывание хинона QH<sub>2</sub> с Q<sub>0</sub>-центром приводит к высвобождению двух протонов в периплазматическое пространство (пространство между плазматической мембраной и клеточной стенкой бактерии). Таким образом, поглощение света приводит к выкачиванию протонов из цитозоля и генерации протондвижущей силы на плазматической мембране бактерии.

Одновременно, хинон  $QH_2$  отдает два электрона, которые переносятся внутри комплекса цитохром  $bc_1$ , совершенно аналогично тому, как это происходит в митохондриальном комплексе  $CoQH_2$ -цитохром  $c$  редуктаза (рисунок 167). Q-цикл в комплексе цитохром  $bc_1$  бактерии, так же как и Q-цикл в митохондрии, выкачивает ещё один дополнительный протон из цитозоля в межмембранное (периплазматическое) пространство, тем самым ещё более увеличивая протондвижущую силу.

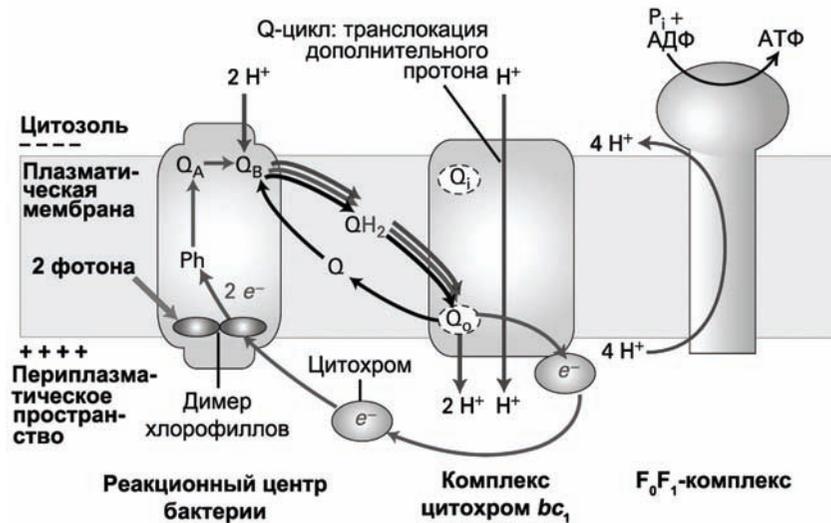


Рисунок 183 – Цепь переноса электронов в фотосистеме пурпурных бактерий

Акцептором электронов, прошедших через комплекс цитохром  $bc_1$ , является малый водорастворимый железосодержащий белок-переносчик *цитохром*, который находится в периплазматическом пространстве бактерии. Получив электрон, ион железа в цитохроме изменяет заряд (восстанавливается) с  $Fe^{3+}$  на  $Fe^{2+}$ .

Восстановленный цитохром (аналогично цитохрому  $c$  в митохондриях (рисунок 167)) диссоциирует с комплекса цитохром  $bc_1$  и диффундирует к реакционному центру, где и замыкается Q-цикл – электрон

переходит на положительно заряженный хлорофилл  $a^+$ , возвращая в исходное состояние и хлорофилл, и ион железа цитохрома.

В результате такой циклической (периодической) циркуляции электрона по замкнутой цепи *не образуется* кислород и *не происходит* восстановления коферментов.

Возможно также *альтернативное* использование электронной цепи фотосистем бактерий, при котором электроны движутся по этой цепи односторонне (*линейно*), а не циклически. В этом случае электроны, возбужденные в хлорофиллах реакционных центров, переносятся на кофермент НАД $\oplus$  (а не на НАДФ $^+$ , как в растениях), восстанавливая его до НАДН. Окисленный хлорофилл  $a^+$  восстанавливается электроном, который приносит цитохром  $c$ . А вот для восстановления цитохрома  $c$  бактерии используют электроны либо из сероводорода  $H_2S$  (образуя атомарную серу S), либо просто из молекулярного водорода  $H_2$ .

Ни в том, ни в другом случае не используется вода  $H_2O$  в качестве донора электронов, поэтому и в этом, альтернативном, случае "линейного" использования цепи переноса электронов фотосистемой бактерии молекулярный кислород  $O_2$  не образуется.

Протондвижущая сила создается в обоих случаях – и в случае циклического переноса, и в случае линейного переноса электронов в бактериальных фотосистемах. Так же, как и в других организмах эта протондвижущая сила используется расположенными на плазматической мембране белками: АТФ-синтазами для синтеза АТФ, и белками-переносчиками для транспорта молекул против градиента концентрации.

## 10.2. Две фотосистемы в хлоропластах растений

Фотосинтез в растениях обеспечивают *две фотосинтетические системы* ФС1 и ФС2 (рисунок 184).

ФС1 возбуждается светом с длинами волн короче 700 нм, а ФС2 – светом с длинами волн меньше 680 нм. Так же, как в случае зеленых и пурпурных бактерий, каждая фотосистема хлоропласта содержит димер специализированных молекул хлорофилл  $a$ , который способен инициировать перенос фотоэлектрона.

Спектры поглощения хлорофиллов в реакционных центрах ФС1 и ФС2 отличаются вследствие их различного белкового окружения. Поэтому эти хлорофиллы часто обозначают как  $P_{680}$  (в фотосистеме ФС2) и  $P_{700}$  (в фотосистеме ФС1).

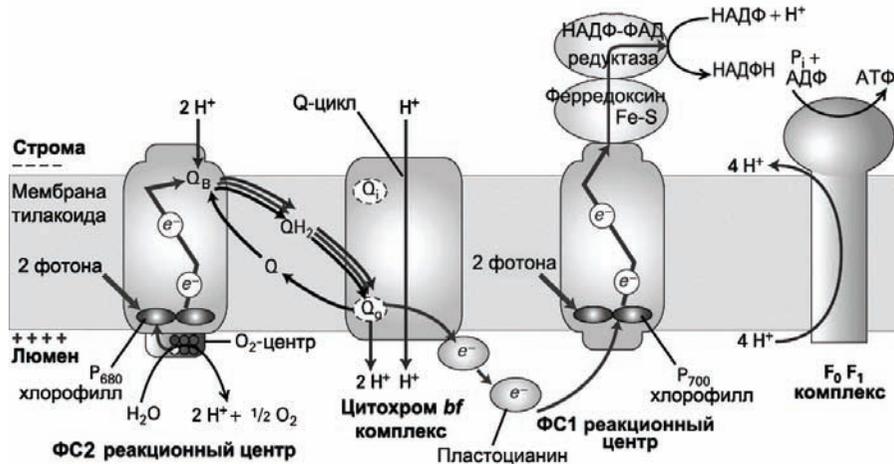


Рисунок 184 – Цепь линейного переноса электронов в растениях

Аналогично бактериальным реакционным центрам каждый реакционный центр в хлоропласте ассоциирован с множеством *светособирающих комплексов* (ССК), причем белковый состав ССК, связанных с ФС1 и с ФС2, различен.

*Пространственное расположение* двух типов фотосистем на тилакоидных мембранах также *отличается* – ФС2 локализованы преимущественно в области стопкообразных тилакоидных *гран*, а ФС1 располагаются на *гладких* участках тилакоидных мембран.

И, наконец, самое *важное* различие двух типов фотосистем хлоропластов – *функциональное*:

- только на ФС2 происходит расщепление воды и образование молекулярного кислорода,
- только на ФС1 осуществляется перенос электронов на НАДФ<sup>+</sup>.

Фотосинтез в хлоропластах, так же, как и в зеленых и пурпурных бактериях, может протекать с использованием и однонаправленного (*линейного*), и *циклического* переноса электронов:

- *линейная* цепь переноса электронов инициирует фиксацию углерода и синтез АТФ,
- *циклическая* цепь поддерживает только синтез АТФ, но не инициирует фиксацию углерода, поскольку при циклировании электронов не синтезируются НАДФН, которые необходимы в процессе фиксации углерода.

Фотосинтезирующие водоросли и цианобактерии также имеют два типа фотосистем, аналогичных фотосистемам растений.

### 10.3. Линейная цепь переноса электронов в фотосинтетических растениях

Однонаправленный (линейный) перенос электронов в хлоропластах, при котором электрон переносится с молекулы воды на НАДФ<sup>+</sup>, происходит с участием обеих фотосистем ФС1 и ФС2.

Процесс начинается на фотосистеме ФС2 с поглощения *первого* фотона, в результате чего электрон с хлорофилла *a*  $P_{680}$  (вблизи люминальной поверхности ФС2) переносится на *пластохинон*  $Q_B$  (на поверхности ФС2, обращенной к строме) образуя *полухинон* (рисунок 184).

Образованный в результате переноса электрона окисленный  $P_{680}^+$  *отбирает* недостающий электрон у молекулы воды, при этом образуются промежуточные вещества, которые в финале приводят к синтезу  $O_2$ , и протоны, которые остаются в люмене тилакоида и вносят вклад в создание протондвижущей силы.

Затем происходит поглощение *второго* фотона хлорофиллом *a*  $P_{680}$ , в результате чего полухинон, присоединив к себе второй электрон, захватывает из стромы два протона и образуется *дигидропластохинон*  $QH_2$ , который диссоциирует с ФС2 и диффундирует в мембране тилакоида к комплексу цитохром *bf*.  $QH_2$  присоединяется к центру  $Q_0$  комплекса цитохром *bf* на люминальной стороне. Комплекс цитохром *bf* аналогичен по

структуре и функциям комплексу цитохром *bc<sub>1</sub>* пурпурных бактерий и комплексу CoQH<sub>2</sub>-цитохром *c* редуктаза в митохондриях. Совершенно аналогично и Q-цикл совершается в комплексе цитохром *bf* в паре с реакционным центром ФС2, что приводит к увеличению протондвижущей силы, создаваемой электронным транспортом.

В фотосистеме ФС1 поглощение фотона приводит к переносу электрона с хлорофилла *a* P<sub>700</sub> по цепочке внутрибелковых акцепторов к водорастворимому белку *ферредоксину*, связанному с ФС1 со стороны стромы. Окисленный хлорофилл P<sup>+</sup><sub>700</sub> восстанавливается электроном, который переносится с комплекса цитохром *bf* медьсодержащим водорастворимым белком люмена тилакоида *пластоцианином*.

Бактериальный аналог ФС1 показан на рисунке 178.

Комплекс цитохром *bf*, получив электроны от QH<sub>2</sub>, передает их по одному на Cu<sup>2+</sup>-форму пластоцианина, восстанавливая её до Cu<sup>+</sup>-формы. Восстановленный пластоцианин диффундирует в люмене тилакоида к ФС1, перенося по одному электрону на одном белке. После присоединения к ФС1 электрон переносится на хлорофилл, восстанавливая его в исходное состояние.

Ферредоксин, который переносит электрон с помощью встроенного железо-серного кластера Fe-S, передает электрон ферменту *ферредоксин-НАДФ-редуктаза*, который с помощью ФАД и одного протона, захваченного из стромы, восстанавливает НАДФН.

F<sub>0</sub>F<sub>1</sub>-комплексы на мембране тилакоида используют созданную в процессе линейного переноса электронов протондвижущую силу для синтеза АТФ в строме тилакоида. Таким образом, перенос электронов *по линейной цепи* приводит к образованию НАДФН и АТФ в строме, где они используются для фиксации CO<sub>2</sub>.

#### 10.4. Водорасщепляющий комплекс фотосистемы ФС2

Примечательно, что структура реакционного центра ФС2 подобна структуре реакционного центра пурпурных бактерий, хотя последние не синтезируют O<sub>2</sub>.

Подобно бактериальному реакционному центру реакционный центр ФС2 содержит две молекулы хлорофилла *a* (P<sub>680</sub>), ещё два хлорофилла (Chl), два феофитина (Pheo), два хинона (Q<sub>A</sub> и Q<sub>B</sub>) и один атом (негемный) железа (Fe) (рисунок 185).

Все эти малые молекулы связаны в фотосистеме ФС2 с двумя субъединицами D1 и D2, белковая структура которых чрезвычайно схожа со структурой бактериального реакционного центра. Это лишнее свидетельство в пользу их эволюционного родства.

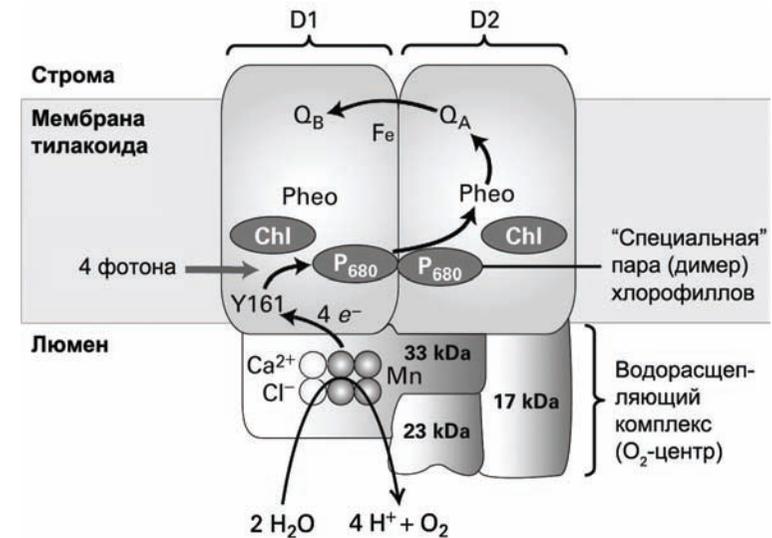


Рисунок 185 – Цепь переноса электронов и расщепление молекул воды в фотосистеме II

Поглощение фотона с длиной волны менее 680 нм, совершенно аналогично тому, как это происходит в фотосинтетических пурпурных бактериях (рисунок 183), приводит к переносу электрона с хлорофилла P<sub>680</sub> через феофитин на хинон Q<sub>A</sub>, а затем на первичный акцептор электронов Q<sub>B</sub> вблизи поверхности мембраны тилакоида, обращенной к строме.

Фотохимически окисленный хлорофилл P<sub>680</sub><sup>+</sup> является *самым сильным* из известных на сегодняшний день *биологическим окислителем*.

Восстановительный потенциал  $P_{680}^+$  превышает аналогичный потенциал молекулы воды, поэтому  $P_{680}^+$  может окислить воду, образуя при этом  $O_2$  и  $H^+$ .

А фотосинтезирующие пурпурные бактерии не могут окислить воду, поскольку их возбужденный хлорофилл  $a^+$  в их реакционном центре не является достаточно сильным окислителем. Именно поэтому пурпурные бактерии используют  $H_2S$  и  $H_2$  в качестве донора электронов для восстановления хлорофилла  $a^+$  в линейных электронных цепях.

Расщепление  $H_2O$  в ФС2 катализируется трёхбелковым *водорасщепляющим комплексом* (*oxygen-evolving complex*) –  $O_2$ -центром, – расположенным на люминальной поверхности тилакоидной мембраны.

Водорасщепляющий комплекс содержит четыре иона марганца (Mn), ион хлора ( $Cl^-$ ) и кальция ( $Ca^{2+}$ ). Это один из редких примеров использования элемента марганца в биологических системах.

Для того, чтобы образовалась молекула кислорода  $O_2$ , необходимо расщепить *две* молекулы воды, удалив *четыре* электрона. Однако поглощение одного фотона фотосистемой приводит к переносу только *одного* электрона. Экспериментально установлено, что фотосистема ФС2 должна *четыре раза подряд* поглотить фотон и, следовательно, четыре раза окислить водорасщепляющий комплекс, чтобы образовалась одна молекула  $O_2$ . Ион марганца может существовать в *пяти* различных зарядовых состояниях и в водорасщепляющем комплексе каждый ион марганца *циклически* принимает эти пять состояний  $S_0 - S_4$ . В результате такого *S-цикла* две молекулы  $H_2O$  расщепляются на четыре протона, четыре электрона и формируют одну молекулу  $O_2$ .

Электроны переносятся по одному за цикл фотопоглощения по цепочке ионов Mn к аминокислоте тирозин-161 (Y161) на субъединице D1, а оттуда – на реакционный центр  $P_{680}^+$ , восстанавливая хлорофилл. А протоны остаются в люмене, увеличивая протондвижущую силу.

### 10.5. Циклическая цепь переноса электронов

Белок-переносчик электронов ферредоксин (который переносит электрон к НАДФ<sup>+</sup> в линейной цепи переноса электронов) может переда-

вать электроны мембранному переносчику *хинону*, связанному с ФС1 со стороны мембраны тилакоида, обращенной к *строме*.

В этом случае такой хинон, присоединяя два протона из стромы и образуя  $QH_2$ -форму, диффундирует в мембране и связывается *вблизи люминальной поверхности* с  $Q_0$ -центром комплекса цитохром *bf*. Здесь он отдает два электрона комплексу цитохром *bf*, а два протона высвобождает в люмен, создавая протондвижущую силу.

Так же, как и в случае переноса электронов по линейной цепи, эти два электрона возвращаются на ФС1 люминальными белками *пластоцианинами*. Такая *циркуляция* электронов по замкнутой циклической цепи, в котором не участвует ФС2, аналогична циклическим процессам, которые происходят в фотосистеме пурпурных бактерий (рисунок 183).

Q-цикл дополнительно переносит два протона на каждую пару перенесенных электронов по циклической цепи, тем самым увеличивая протондвижущую силу. Протондвижущая сила, создаваемая при таком переносе электронов по циклической цепи в хлоропластах, используется для синтеза АТФ комплексами  $F_0F_1$  в тилакоидах, но при этом *не образуются* НАДФН и  $O_2$ .

### 10.6. Регуляция относительной активности фотосистем ФС1 и ФС2

Для того, чтобы фотосистемы ФС2 и ФС1 могли функционировать как последовательные элементы в единой (линейной) цепи переноса электронов интенсивность облучения светом этих систем должна быть организована таким образом, чтобы фотосистемы продуцировали равное число электронов. Если такое равенство не соблюдается, то на фотосистеме ФС1 начинается циклический процесс переноса электронов, а ФС2 становится менее активной.

Существует *механизм регуляции* относительной интенсивности линейного и циклического переноса электронов в хлоропластах, в котором используется обратимое фосфорилирование и дефосфорилирование белков в светособирающих комплексах, связанных с ФС2.

В этом случае мембранная протеин-киназа детектирует относительную активность двух фотосистем по суммарному окислительно-восстановительному потенциалу всего набора (пула) пластохинонов в мембране тилакоида, которые переносят электроны с ФС2 на цитохром *bf* по пути к ФС1.

Если фотовозбуждение ФС1 и ФС2 уравновешено, то работает линейная цепь переноса электронов (рисунок 186(а)).

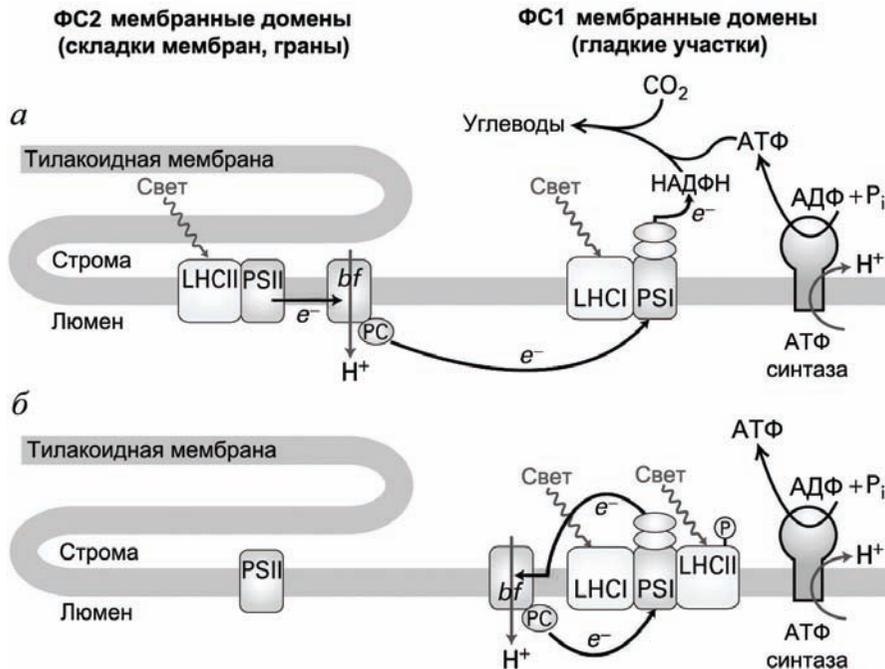


Рисунок 186 – Распределение мультибелковых комплексов в тилакоидной мембране: *а* – при интенсивном освещении работает линейная цепь переноса электронов; *б* – при несбалансированном освещении светособирающие комплексы (LHCII) переприсоединяются к фотосистемам ФС1 (PSI), и работает преимущественно циклическая электронная цепь

Однако, когда *слишком много* пластохинона восстановлено (вследствие избыточной активности ФС2 по отношению к ФС1), протеин-

киназа активизируется и начинает фосфорилировать некоторые светособирающие комплексы ССК2 (LHCII).

Фосфорилированные ССК2 диссоциируют с фотосистем ФС2 (РСII), которые преимущественно расположены в гранях, и диффундируют к гладким участкам тилакоидной мембраны, где они принимают участие в активизации фотосистем ФС1 (РСI) (рисунок 186(б)).

Такое *перераспределение* комплексов ССК2, которое уменьшает размер светособирающих антенн фотосистем ФС2 и увеличивает их у ФС1, сопровождается перераспределением комплексов цитохром *bf* из области преимущественной локализации фотосистем ФС2 (граны) в область, где расположены преимущественно фотосистемы ФС1 (гладкие участки). В результате *интенсифицируется* перенос электронов по циклическому пути.

Такая организация фотосистем в тилакоидах растений позволяет перенаправлять фотосинтетические процессы либо на синтез АТФ (рисунок 186(б)), либо на синтез НАДФН и АТФ (рисунок 186(а)).

НАДФН и АТФ необходимы для превращения CO<sub>2</sub> в сахарозу и крахмал на четвертом этапе фотосинтеза.

#### ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

1. Чем отличаются фотосинтетические системы растений и пурпурных бактерий?
2. Какую функцию выполняет "специальная пара" хлорофиллов в реакционном центре фотосистемы?
3. Что такое Q-цикл? Как он участвует в генерации протондвижущей силы?
4. В чем функциональное отличие линейной и циклической цепей переноса электронов в фотосистеме пурпурных бактерий?
5. Почему возбужденные хлорофиллы в реакционных центрах фотосистем пурпурных бактерий не используют молекулы воды в качестве донора электронов?

6. В каких процессах в пурпурных бактериях используется протон-движущая сила, созданная вследствие циклического переноса электронов в фотосистемах?
7. Каково структурное и функциональное различие двух фотосистем в хлоропластах растений?
8. В чем состоит функциональное различие линейного и циклического переноса электронов в фотосинтетических системах хлоропластов растений?
9. Какие процессы в фотосистемах растений увеличивают протон-движущую силу на тилакоидной мембране хлоропласта?
10. Какова функция белков ферредоксин и пластоцианин в хлоропластах растений?
11. Почему фотохимически окисленный хлорофилл  $P_{680}^+$  в реакционном центре фотосистемы ФС2 хлоропластов может использовать молекулы воды в качестве донора электронов?
12. Какова функция ионов марганца в водорасщепляющих комплексах фотосистемы ФС2?
13. Каким образом регулируется относительная интенсивность линейного и циклического переноса электронов в хлоропластах растений?
14. Какова функция мембранной протеин-киназы в тилакоиде хлоропласта?
15. Как перераспределяются светособирающие комплексы ССК2 при изменении освещенности?

## 11. ФОТОСИНТЕТИЧЕСКАЯ ФИКСАЦИЯ УГЛЕРОДА

В хлоропластах растений осуществляется множество метаболических преобразований. Кроме фиксации  $CO_2$ , которую мы подробно рассмотрим ниже, в хлоропластах синтезируются практически все аминокислоты, все жирные кислоты и каротины, все пиримидины и пурины. Наиболее изученным из всех этих метаболических преобразований в клетках растений является биосинтез сахаров из  $CO_2$ .

### 11.1. Цикл Кальвина в строме хлоропласта

Фиксация углерода начинается в строме хлоропласта с особого метаболического цикла, который называется *циклом Кальвина* в честь Мелвина Кальвина, открывшего его. В цикле Кальвина происходит преобразование  $CO_2$  в трехуглеродные соединения за счет энергии, которая выделяется при гидролизе АТФ и окислении НАДФН, полученных на 2 и 3 этапах фотосинтеза.

Растения, в которых связывание углерода происходит практически только в цикле Кальвина в виде трехуглеродных соединений, называют *С<sub>3</sub>-растениями* (в отличие от *С<sub>4</sub>-растений*, которые будут рассмотрены ниже). Та реакция, в которой одна молекула  $CO_2$  присоединяется к одной молекуле рибулозо-1,5-бисфосфат, и в результате получают две молекулы 3-фосфоглицерата (рисунок 187), катализируется ферментом **рубиско** – *рибулозо-1,5-бисфосфат карбоксилаза* (оксигеназа EC4.1.1.39), который расположен в строме хлоропласта.

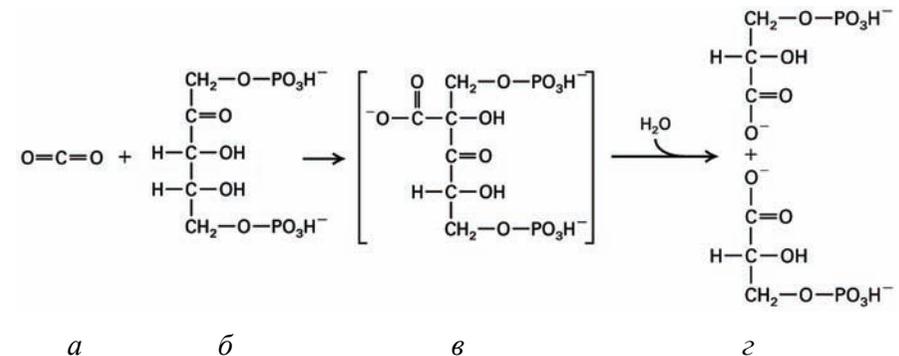


Рисунок 187 – Схема начальной реакции фиксации углерода ферментом рибулозо-1,5-бисфосфат карбоксилаза: *a* – молекула  $CO_2$ ; *б* – молекула рибулозо-1,5-бисфосфат; *в* – промежуточное состояние, стабилизированное фермент-субстратным комплексом; *z* – продукты – две молекулы 3-фосфоглицерата

*Рубиско* состоит из *восьми* идентичных *больших* субъединиц и *восьми* идентичных *малых* субъединиц с огромной общей массой  $\approx 500$  кДа. Только одна из субъединиц синтезируется с ДНК хлоропласта,

остальные закодированы в ДНК ядра клетки. Скорость каталитического преобразования на рубиско довольно низкая, и поэтому в хлоропласте должно быть *много* копий фермента для обеспечения достаточного уровня фиксации углерода. *Рубиско* составляет около 50% белков хлоропласта и считается самым распространенным на Земле ферментом.

Поскольку  $\text{CO}_2$  сначала встраивается в трикарбоновые соединения, цикл Кальвина (рисунок 188) часто называют *C<sub>3</sub>-путем* (*C<sub>3</sub>-pathway*) фиксации углерода (в отличие от *C<sub>4</sub>*-пути, который будет рассмотрен ниже).

Количественно, из *каждых 6 молекул*  $\text{CO}_2$  фермент *рубиско* образует 12 молекул *3-фосфоглицерата* (всего 36 атомов С).

Далее, из них фермент *фосфоглицераткиназа* образует 12 молекул *1,3-бисфосфоглицерата* (расходуя 12 молекул АТФ).

Затем фермент *глицеральдегидфосфат-дегидрогеназа* образует 12 молекул *глицеральдегид-3-фосфата* (окисляя 12 молекул НАДФ).

Из полученных 12 молекул глицеральдегид-3-фосфата 2 молекулы (6 атомов С) далее переносятся в *цитозоль* растительной клетки белковыми фосфат-триозефосфатными *антипортами*, где они превращаются в 1 молекулу *фруктозо-1,6-бисфосфата*.

Оставшиеся в строме 10 молекул глицеральдегид-3-фосфата (30 атомов С) регенерируются в 6 молекул *рибулозо-1,5-бисфосфата*, замыкая тем самым цикл Кальвина (рисунок 188, вверху).

Для фиксации шести молекул  $\text{CO}_2$  и образования в итоге двух молекул глицеральдегид-3-фосфата необходимо *использовать* 18 молекул АТФ и 12 молекул НАДФН, которые предварительно должны быть синтезированы в световых реакциях фотосинтеза.

### 11.2. Синтез сахарозы в цитозоле хлоропласта

Конечный этап синтеза сахарозы происходит в *цитозоле* клеток листьев растений. Сначала одна молекула глицеральдегид-3-фосфата изомеризуется в дигидрокси-ацетонфосфат и соединяется со второй молекулой глицеральдегид-3-фосфата, образуя в итоге молекулу *фруктозо-1,6-бисфосфата*.

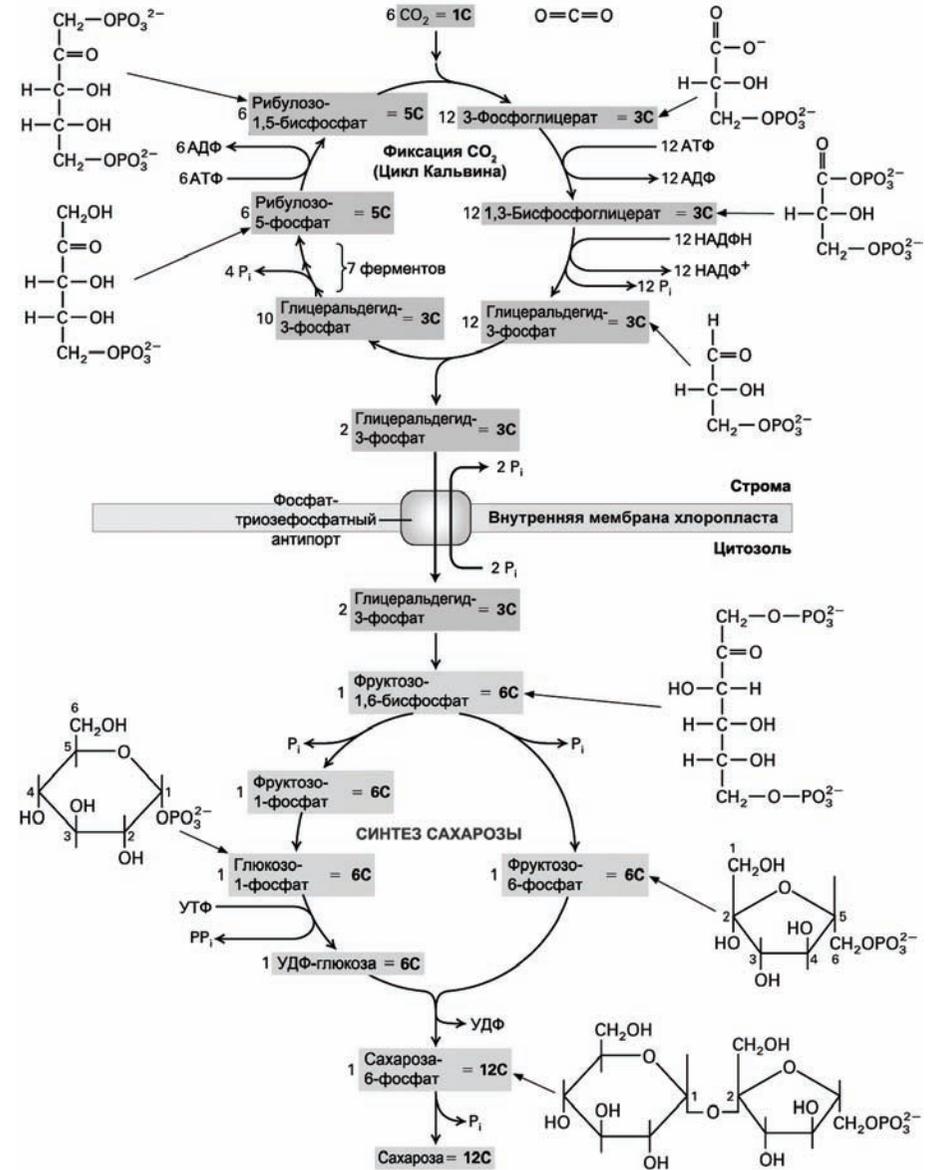


Рисунок 188 – Схема фиксации углерода при фотосинтезе. УДФ и УТФ обозначают уридиндифосфат (UDP) и уридинтрифосфат (UTP)

Эта реакция является *обратной* к *альдозной* реакции при гликолизе (рисунок 150, реакция 4). А уже фруктозо-1,6-бисфосфат превращается, главным образом, в сахарозу по пути, изображенному в нижней части рисунка 188.

Транспортные белки-антипортеры, обменивающие зафиксированный в виде глицеральдегид-3-фосфата углерод из стромы на фосфат из цитозоля, точно поддерживают *равновесие* этих встречных потоков – фиксированный углерод не покидает хлоропласт до тех пор, пока фосфат не войдет в хлоропласт.

Фосфат синтезируется в цитозоле, главным образом, в ходе образования сахарозы из фосфорилированных трехуглеродных промежуточных соединений. Поэтому и синтез сахарозы, и её вывод из клеток листьев в другие клетки способствует увеличению транспорта глицеральдегид-3-фосфата из хлоропласта в цитозоль.

### 11.3. Регуляция фиксации углерода

В *темноте* ферменты, катализирующие реакции в цикле Кальвина, резко инактивируются, оставляя АТФ, которая синтезируется в темноте для других реакций, таких, как синтез липидов и аминокислот.

*Одним* из механизмов, обеспечивающих такую регуляцию, является рН-зависимость некоторых ферментов цикла Кальвина. *На свету* процесс транслокации протонов из стромы в тилакоиды в ходе переноса электронов усиливается, и рН стромы возрастает от  $\approx 7$  в темноте до  $\approx 8$  на свету. Это стимулирует активность некоторых ферментов цикла Кальвина, увеличивая уровень фиксации  $\text{CO}_2$  на свету.

*Другим* регулирующим фактором для некоторых ферментов цикла Кальвина является белок стромы *тиоредоксин* (Тх). В *темноте* в тиоредоксине между цистеинами на поверхности белка образуются дисульфидные связи, а *на свету* те электроны, которые переносятся с фотосистемы ФС1 посредством ферредоксина на тиоредоксин, восстанавливают атомы серы цистеинов (рисунок 189).

В свою очередь, восстановленный тиоредоксин так же точно активирует некоторые ферменты цикла Кальвина, разрушая дисульфидные

связи на них, передавая им электроны и протоны – восстанавливая ферменты, – а сам при этом, окисляясь, вновь формирует дисульфидные мостики на своей поверхности. В *темноте* тиоредоксин так и остается окисленным и не может активизировать ферменты цикла Кальвина.

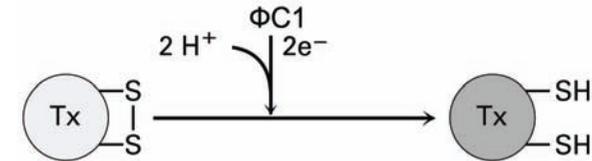


Рисунок 189 – Схема реакции восстановления на свету белка стромы тиоредоксина (Тх)

И, *наконец*, фермент *рубиско* активизируется в присутствии высокой концентрации  $\text{CO}_2$  и ионов  $\text{Mg}^{2+}$ . Активизация происходит путем присоединения  $\text{CO}_2$  к лизину-191 и формирования карбаматной группы, а затем присоединения иона  $\text{Mg}^{2+}$ . Однако при физиологических условиях для такой активации необходим фермент *рубиско-активаза*, который присоединяет  $\text{CO}_2$  к лизину за счет энергии гидролиза АТФ.

### 11.4. Конкуренция фотодыхания и фотосинтеза

Фотосинтез всегда сопровождается *фотодыханием* – процессом, который происходит на свету, при котором расходуется  $\text{O}_2$  и рибулоза-1,5-бисфосфат частично конвертируется в  $\text{CO}_2$ .

Фермент *рубиско* (рибулозо-1,5-бисфосфат-карбоксилаза) катализирует *две* конкурирующие реакции (рисунок 190):

- в одной из них (*фиксация*  $\text{CO}_2$ ) к рибулозо-1,5-бисфосфату присоединяется  $\text{CO}_2$  и образуются две молекулы 3-фосфоглицерата,
- в другой (*фотодыхание*) к рибулозо-1,5-бисфосфату присоединяется  $\text{O}_2$  и образуется одна молекула 3-фосфоглицерата и одна двухуглеродная молекула фосфогликолата.

Процесс фотодыхания *затрачен* для клетки – в нем расходуется АТФ и O<sub>2</sub>, и синтезируется CO<sub>2</sub>. Примечательно, однако, что *все* известные ферменты *рубиско* катализируют процесс фотодыхания.

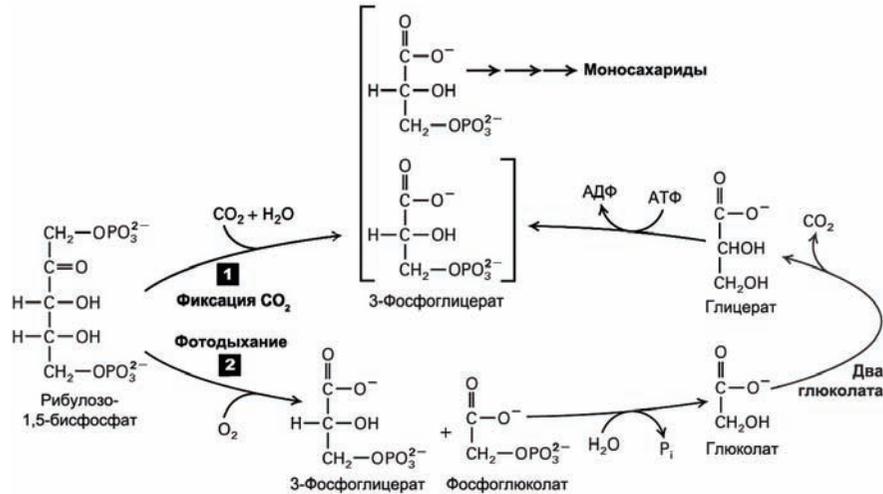


Рисунок 190 – Конкуренция процессов фиксации углерода (1) и фотодыхания (2)

По-видимому, именно те геометрически-аминокислотные *особенности структуры* активного центра, который необходим для осуществления реакции фиксации CO<sub>2</sub>, не дали возможности ферменту эволюционировать так, чтобы избежать катализа реакций фотодыхания затратных для организма.

В жаркую сухую погоду растения закрывают газообменные поры (стома, устьица) на листьях для сохранения влаги. Это приводит к снижению концентрации CO<sub>2</sub> внутри листьев ниже порога активации рубиско, *скорость* фотосинтетического связывания CO<sub>2</sub> *резко падает*, что благоприятствует протеканию процесса фотодыхания.

Для того, чтобы избежать такого "переключения" метаболизма растения, которые существуют в жарком сухом климате (такие, как кукуруза, сахарный тростник, африканское просо), выработали *двухстадийный*

процесс фиксации CO<sub>2</sub>, в котором накопление CO<sub>2</sub> предшествует циклу Кальвина.

Такой метаболический путь называется *C<sub>4</sub>-путь* (*C<sub>4</sub>-pathway*), поскольку первыми в нем образуются четырёхуглеродные соединения, такие, как оксалоацетат и малат (а не трехуглеродные молекулы, с которых начинается цикл Кальвина). *C<sub>4</sub>-путь* реализуется в растительных клетках *двух* типов (рисунок 191):

- 1) в *мезофильных* клетках (*mesophyll cell*), которые расположены вблизи поверхности листьев и могут получать CO<sub>2</sub> непосредственно из атмосферы,
- 2) в *оболочечных* клетках капилляров растений (*bundle sheath cell*), в которые обернута сосудистая ткань (ксилемы и флоэмы, по которым перемещаются биологические жидкости в растении).

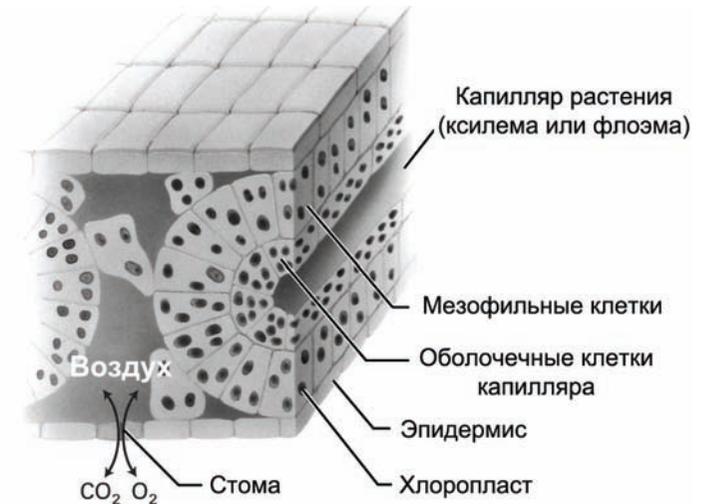


Рисунок 191 – Строение листа C<sub>4</sub>-растений

В *мезофильных* клетках C<sub>4</sub>-растений фосфоенолпируват – трикарбоновая молекула, получаемая при фосфорилировании пирувата, – взаимодействует с CO<sub>2</sub> и образуется оксалоацетат – *четырёхуглеродное*

соединение (рисунок 192). Фермент *фосфоенолпируват-карбоксилаза*, который катализирует это преобразование, обнаружен практически только в  $C_4$ -растениях и, в отличие от рубиско, *не чувствителен* к концентрации  $CO_2$ .

Суммарная реакция преобразования пирувата в оксалоацетат включает гидролиз одной фосфоангидридной связи в АТФ и сопровождается понижением свободной энергии ( $\Delta G < 0$ ). Поэтому фиксация  $CO_2$  происходит даже в условиях низкой концентрации  $CO_2$ .

Оксалоацетат, который образуется в мезофильных клетках, восстанавливается до малата, который переносится специализированными *переносчиками* в оболочечные клетки сосудов  $C_4$ -растений, где  $CO_2$  высвобождается в результате декарбоксилирования и поступает в цикл Кальвина (рисунок 192).

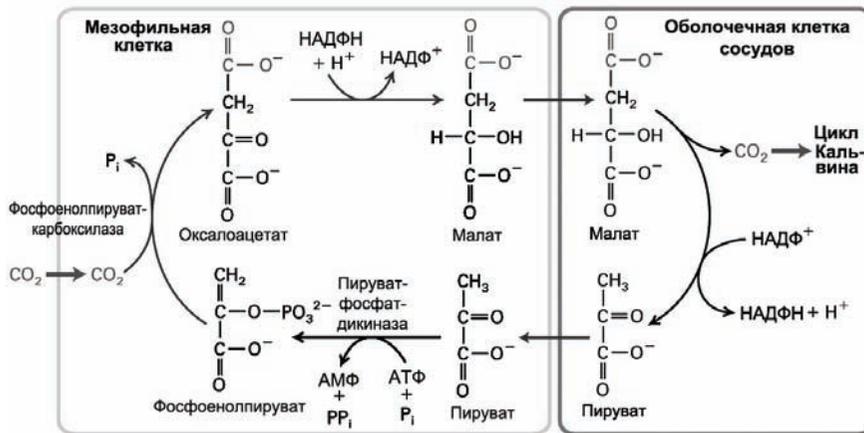


Рисунок 192 – Схема  $C_4$ -пути связывания углерода

Вследствие доставки  $CO_2$  из мезофильных клеток концентрация  $CO_2$  в оболочечных клетках  $C_4$ -растений *намного выше*, чем в окружающей атмосфере. Клетки оболочек капилляров отличаются ещё и тем, что в них нет фотосистем ФС2, а существует *только циклический перенос* электронов на фотосистемах ФС1, для которого не нужен молекулярный кислород  $O_2$ .

Повышенная концентрация  $CO_2$  и низкая концентрация  $O_2$  в оболочечных клетках  $C_4$ -растений благоприятствуют фиксации  $CO_2$  ферментом рубиско в форме 3-фосфоглицерата и ингибирует использование рубулозо-1,5-бисфосфата в системе фотодыхания.

В мезофильных же клетках  $C_3$ -растений, напротив, повышенная концентрация  $O_2$  в атмосфере благоприятствует фотодыханию (путь 2 на рисунке 190). В результате до 50% углерода связанного *рубиско* может быть переокислено обратно в  $CO_2$  в  $C_3$ -растениях.

$C_4$ -растения опережают  $C_3$ -растения в утилизации доступного  $CO_2$ , поскольку фермент *фосфоенолпируват-карбоксилаза*  $C_4$ -растений имеет более высокое сродство к  $CO_2$ , чем *рубиско*  $C_3$ -растений в цикле Кальвина. Однако в  $C_4$ -цикле одна фосфодиэфирная связь АТФ расходуется (при образовании фосфоенолпирувата из пирувата), поэтому суммарный выход фотосинтеза сахаров при утилизации НАДФН и АТФ у  $C_4$ -растений ниже, чем у  $C_3$ -растений, которые используют только цикл Кальвина для фиксации  $CO_2$ .

Тем не менее, средняя скорость фотосинтеза в таких  $C_4$ -растениях, как кукуруза или сахарный тростник, может быть в 2-3 раза выше, чем у подобных им  $C_3$ -растений, таких, как пшеница, рис или овёс, поскольку в них отсутствуют потери, обусловленные фотодыханием.

### ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

1. Какой процесс называется циклом Кальвина?
2. Какие растения называются  $C_3$ -растениями? В чем их отличие от  $C_4$ -растений?
3. Какую реакцию катализирует фермент рубиско?
4. Какой фермент цикла Кальвина считается самым распространенным на Земле ферментом?
5. Сколько молекул глицеральдегид-3-фосфата переносится в цитозоль клетки из стромы хлоропласта в результате связывания шести молекул  $CO_2$  в цикле Кальвина?
6. Какие два процесса способствуют увеличению транспорта глицеральдегид-3-фосфата из хлоропласта в цитозоль?

7. Какие существуют механизмы регуляции активности ферментов цикла Кальвина?
8. Какой процесс называется фотодыханием?
9. Почему фотодыхание не выгодно для клетки?
10. Какой фермент катализирует и фиксацию  $\text{CO}_2$ , и фотодыхание?
11. В чем заключается причина того, что не произошло эволюционирование ферментов рубиско таким образом, чтобы избежать катализа реакций фотодыхания затратных для организма?
12. Каково физиологическое значение двухстадийного процесса фиксации  $\text{CO}_2$  в  $\text{C}_4$ -растениях?
13. В клетках каких типов реализуется  $\text{C}_4$ -путь?
14. В чем заключаются принципиальные отличия  $\text{C}_4$ -пути от  $\text{C}_3$ -пути?

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

### ОСНОВНАЯ

1. Огурцов А.Н. Молекулярная биология клетки. Основы клеточной организации / А.Н. Огурцов. – Х. : НТУ "ХПИ", 2006. – 169 с.
2. Огурцов А.Н. Молекулярная биоэнергетика клетки / А.Н. Огурцов. – Х. : НТУ "ХПИ", 2009. – 112 с.
3. Огурцов А.Н. Введение в биофизику. Физические основы биотехнологии / А.Н. Огурцов. – Х. : НТУ "ХПИ", 2008. – 320 с.
4. Огурцов А.Н. Ферментативный катализ / А.Н. Огурцов. – Х. : НТУ "ХПИ", 2010. – 304 с.
5. Альбертс Б. Молекулярная биология клетки: В 3-х т. / Б. Альбертс, Д. Брей, Дж. Льюис и др. – М. : Мир, 1994. – Т.1, 517 с. – Т.2, 539 с. – Т.3, 504 с.
6. Ченцов Ю.С. Введение в клеточную биологию / Ю.С. Ченцов. – М. : Наука, 2004. – 495 с.
7. Коничев А.С. Молекулярная биология / А.С. Коничев, Г.А. Севастьянова. – М. : Академия, 2005. – 400 с.
8. Lodish H. Molecular Cell Biology / H. Lodish, A. Berk, L.S. Zipursky et al. – New York : W.H. Freeman and Company, 2003. – 572 p.
9. Bolsover S.R. Cell biology. A short course / S.R. Bolsover, J.S. Hyams, E.A. Shephard et al. – Hoboken : Wiley, 2004. – 531 p.
10. Berg J.M. Biochemistry / J.M. Berg, J.L. Tymoczko, L. Stryer, N.D. Clarke. – New York : W.H. Freeman and Company, 2002. – 572 p.
11. Биология. Большой энциклопедический словарь / Гл. ред. М.С.Гиляров. – М. : Большая Российская энциклопедия, 2001. – 864 с.

12. Watson J.D. Molecular biology of the gene / J.D. Watson, T.A. Baker, S.P. Bell et al. – Cold Spring : Harbor Laboratory Press, 2004. – 732 p.
13. Молекулярная биология. Структура и биосинтез нуклеиновых кислот / Под ред. А.С. Спирина. – М. : Высш. шк., 1990. – 352 с.
14. Спирина А.С. Молекулярная биология. Структура рибосомы и биосинтез белка / А.С. Спирина. – М.: Высш. шк., 1986. – 303 с.
15. Кольман Я. Наглядная биохимия / Я Кольман., К.Г. Рем. – М. : Мир, 2000. – 469 с.
16. Современные методы биофизических исследований / Под. ред. А.Б. Рубина. – М. : Высш. шк., 1988. – 359 с.
17. Нолтинг Б. Новейшие методы исследования биосистем / Б. Нолтинг. – М. : Техносфера, 2005. – 256 с.
18. Рис Э. Введение в молекулярную биологию: От клеток к атомам. Пер. с англ / Э. Рис, М. Стернберг. – М. : Мир, 2002. – 142 с.
19. Алексеев В.И. Прикладная молекулярная биология / В.И. Алексеев, В.А. Каминский. – М. : КомКнига, 2005. – 200 с.
20. Зенгбуш П. Молекулярная и клеточная биология. В 3-х томах / П. Зенгбуш.– М. : Мир, 1982. – Т.1, 368 с. – Т.2, 440 с. – Т.3, 344 с.
21. Соросовский образовательный журнал. – Интернет-ресурс. – <http://web.archive.org/web/20071130004824/http://journal.issep.rssi.ru/>
22. Protein Data Bank. – Интернет-ресурс. – <http://www.pdb.org/>
23. Weaver R.F. Molecular Biology / R.F. Weaver. – New York : The McGraw-Hill Companies, 2002. – 880 p.
24. Goodsell D.S. Bionanotechnology: Lessons from nature / D.S. Goodsell. – New York : Wiley, 2004. – 337 p.
25. Sneppen K., Giovanni Z. Physics in Molecular Biology / K. Sneppen, Z. Giovanni. – Cambridge : University Press, 2005. – 311 p.
26. Stansfield W.D. Molecular and cell biology / W.D. Stansfield, J.S. Colome, R.J. Cano. – New York : McGraw-Hill , 2003. – 122 p.
27. Mülhardt C. Molecular biology and genomics / C. Mülhardt. – Amsterdam : Elsevier, 2007. – 257 p.
28. Molecular Biology and Biotechnology / Ed. by J.M. Walker. – Cambridge : RSC, 2009. – 604 p.

## ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ

29. Огурцов А.Н. Механизмы ферментативных реакций / А.Н. Огурцов. – Х. : НТУ "ХПИ", 2004. – 75 с.
30. Огурцов А.Н. Механизмы мембранных процессов / А.Н. Огурцов. – Х. : НТУ "ХПИ", 2006. – 139 с.
31. Огурцов А.Н. Кинетика ферментативных реакций / А.Н. Огурцов. – Х. : НТУ "ХПИ", 2007. – 146 с.
32. Огурцов А.Н. Молекулярная биология клетки. Основные молекулярные генетические механизмы / А.Н. Огурцов. – Х. : НТУ "ХПИ", 2007. – 120 с.
33. Огурцов А.Н. Молекулярная биология клетки. Молекулярные основы генных технологий / А.Н. Огурцов. – Х. : НТУ "ХПИ", 2008. – 104 с.
34. Огурцов О.М. Молекулярна біофізика ферментів / А.Н. Огурцов. – Х. : НТУ "ХПИ", 2009. – 192 с.
35. Огурцов А.Н. Введение в бионанотехнологию / А.Н. Огурцов. – Х. : НТУ "ХПИ", 2010. – 136 с.
36. Огурцов А.Н. Структурные принципы бионанотехнологии / А.Н. Огурцов. – Х. : НТУ "ХПИ", 2008. – 140 с.
37. Огурцов А.Н. Функциональные принципы бионанотехнологии / А.Н. Огурцов. – Х. : НТУ "ХПИ", 2009. – 146 с.
38. Огурцов А.Н. Введение в молекулярную биотехнологию / А.Н. Огурцов. – Х. : НТУ "ХПИ", 2008. – 152 с.
39. Огурцов А.Н. Молекулярная биотехнология клетки / А.Н. Огурцов. – Х. : НТУ "ХПИ", 2009. – 120 с.
40. Огурцов А.Н. Структура, функции и аналитические методы исследования биомембран / А.Н. Огурцов, Н.Ю. Масалитина. – Х. : НТУ "ХПИ", 2010. – 240 с.
41. Огурцов А.Н. Электрогенез биомембран и механизмы мембранной сигнализации / А.Н. Огурцов, О.Н. Близнюк. – Х. : НТУ "ХПИ", 2010. – 224 с.
42. Огурцов А.Н. Нанобиотехнология. Основы молекулярной биотехнологии / А.Н. Огурцов. – Х. : НТУ "ХПИ", 2010. – 384 с.

43. Finkelstein A.V. Protein Physics / A.V. Finkelstein, O.B. Ptitsyn. – London : Academic Press, 2002. – 354 p.
44. Analytical molecular biology: Quality and validation / Ed. by G.C. Saunders, H.C. Parkes. – Trowbridge : LGC (Teddington) Ltd, 1999. – 190 p.
45. Wu T.T. Analytical molecular biology / T.T. Wu. – New York : Kluwer, 2001. – 258 p.
46. Bionanotechnology: Proteins to nanodevices / Ed. by V. Renugopalakrishnan, R.V. Lewis. – Berlin : Springer, 2006. – 296 p.
47. Whitford D. Proteins structure and function / D. Whitford. – New York : Wiley, 2005. – 528 p.
48. Applied cell and molecular biology for engineers / Ed. by G.N. Waite, L.R. Waite. – New York : The McGraw-Hill, 2007. – 326 p.
49. Artificial intelligence and molecular biology / Ed. by L. Hunter. – Cambridge : MIT Press, 1993. – 468 p.
50. Molecular Biology of protein folding, Part A / Ed. by P.M. Conn. – San Diego : Academic Press, 2008. – 276 p.
51. Dudek R.W. High-yield cell and molecular biology / R.W. Dudek. – Baltimore : Lippincott Williams & Wilkms, 1999. – 110 p.
52. Creighton T.E. Encyclopedia of molecular biology / T.E. Creighton. – New York : Wiley, 1999. – 4899 p.
53. Functional proteomics: Methods and protocols / Ed. by J.D. Thompson, C. Schaeffer-Reiss, M. Ueffing. – Totowa : Humana Press, 2008. – 595 p.
54. Murphy K.P. Protein structure, stability and folding / K.P. Murphy. – Totowa : Humana Press, 2001. – 252 p.
55. Integrative approaches to molecular biology / Ed. by J. Collado-Vides, B. Magasanik, T.F. Smith. – Cambridge : MIT Press, 1996. – 335 p.
56. Paolela P. Introduction to molecular biology / P. Paolela. – Boston : McGraw-Hill, 1998. – 241 p.
57. Oxford dictionary of biochemistry and molecular biology / Ed. by T.K. Attwood et al. – Oxford : University Press, 2006. – 720 p.
58. Lackie J.M. The Dictionary of Cell and Molecular Biology / J.M. Lackie. – Amsterdam : Elsevier, 2007. – 454 p.

## СОДЕРЖАНИЕ

Вступление	3
1. Молекулярная биология. Предмет и основные разделы курса	4
1.1. Разнообразие и всеобщность клеток	4
1.2. Биомакромолекулы	10
1.3. Функционирование клеток	14
1.4. Исследование клеток и их частей	23
1.5. Содержание основных разделов курса	27
2. Основы клеточной теории	28
2.1. Клеточная теория	28
2.2. Два типа организации клетки	29
2.3. Компоненты и содержимое клетки <i>Escherichia coli</i>	31
2.4. Клеточная организация	33
2.5. Строение клетки	38
2.6. Митохондрии и пластиды	41
2.7. Цитоскелет	47
3. Транспорт веществ в клетке	58
3.1. Вакуолярная система клетки	58
3.2. Три основных механизма внутриклеточного транспорта	61
3.3. Синтез белка в шероховатом эндоплазматическом ретикулуме	65
3.4. Вакуолярный транспорт	67
3.5. Трансмембранная транслокация	76
3.6. Круговорот мембран в клетке	78

4. Компоненты биомолекулярных комплексов	80
4.1. Атомный состав живых организмов	80
4.2. Химическая связь и межмолекулярные взаимодействия	83
4.3. Углеводы	90
4.4. Липиды и биомембраны	98
5. Нуклеиновые кислоты и белки	105
5.1. Нуклеотиды	106
5.2. Нуклеиновые кислоты	110
5.3. Упаковка ДНК эукариот	116
5.4. Белки. Классификация аминокислот	119
5.4.1. Строение аминокислот	119
5.4.2. Специальные аминокислоты	123
5.4.3. неполярные и ароматические аминокислоты	127
5.4.4. Полярные незаряженные аминокислоты	131
5.4.5. Заряженные аминокислоты	135
5.5. Иерархия белковых структур	138
5.5.1. Первичная структура белка	138
5.5.2. Вторичная структура белка	140
5.5.3. Третичная структура белка	145
5.5.4. Четвертичная структура белка	148
5.6. Функции белков	150
5.7. Комбинаторный характер молекулярного разнообразия	152
6. Молекулярные основы функционирования белков	155
6.1. Повторы вторичной структуры	157
6.2. Белковые домены	159
6.3. Белковые ассоциаты	162
6.4. Белковые семейства	164
6.5. Фолдинг, модификация и деградация белков	166
6.5.1. Фолдинг белков	167
6.5.2. Химическая модификация белков	169
6.5.3. Деградация белков	171

6.6. Молекулярное узнавание	174
6.6.1. Антитела	177
6.6.2. Моноклональные антитела	179
6.6.3. Ферменты	180
6.6.4. Протеин-киназа А	182
6.7. Молекулярные моторы	185
6.7.1. АТФ-синтаза	188
6.7.2. Линейные моторы	189
6.7.3. Миозин	191
6.7.4. Кинезин	193
6.7.5. Саркомеры	195
6.8. Механизмы регуляции функций белков	196
6.8.1. Аллостерия	196
6.8.2. Кальций-связывающие белки-переключатели	198
6.8.3. ГТФазные переключатели	198
6.8.4. Циклическое фосфорилирование- дефосфорилирование	200
6.8.5. Протеолиз	204
7. Окисление глюкозы и жирных кислот	207
7.1. Хемиосмотическое сопряжение	209
7.2. Эндосимбиотическая гипотеза	212
7.3. Транспорт веществ через биомембрану	214
7.4. Гликолиз	217
7.5. Анаэробный метаболизм	220
7.6. Аэробное окисление в митохондриях	222
7.7. Цитратный цикл	225
7.8. Перенос электронов из цитозоля в митохондрию	229
7.9. Окисление жирных кислот	231
7.9.1. Окисление жирных кислот в митохондриях	232
7.9.2. Окисление жирных кислот в пероксисомах	234

8. Генерация протондвижущей силы и синтез АТФ	236	10.3. Линейная цепь переноса электронов в фотосинтетических растениях	277
8.1. Цепь переноса электронов	237	10.4. Водорасщепляющий комплекс фотосистемы ФС2	278
8.2. Перенос электронов по дыхательной цепи	240	10.5. Циклическая цепь переноса электронов	280
8.3. Компоненты дыхательной цепи	246	10.6. Регуляция относительной активности фотосистем ФС1 и ФС2	281
8.3.1. НАДН-СоQ-редуктаза (комплекс I)	246	11. Фотосинтетическая фиксация углерода	284
8.3.2. Сукцинат-СоQ-редуктаза (комплекс II)	246	11.1. Цикл Кальвина в стромах хлоропласта	285
8.3.3. СоQH <sub>2</sub> -цитохром <i>c</i> редуктаза (комплекс III)	247	11.2. Синтез сахарозы в цитозоле хлоропласта	286
8.3.4. Цитохром <i>c</i> оксидаза (комплекс IV)	247	11.3. Регуляция фиксации углерода	288
8.3.5. Мобильные переносчики электронов – СоQ и цитохром <i>c</i>	249	11.4. Конкуренция фотодыхания и фотосинтеза	289
8.4. Окислительное фосфорилирование	249	Список литературы	295
8.4.1. Окислительное фосфорилирование в бактериях	249		
8.4.2. F <sub>0</sub> F <sub>1</sub> комплекс	250		
8.4.3. Синтез АТФ	251		
8.4.4. Вращение ротора АТФ-синтазы	253		
8.5. Транспорт АТФ и АДФ через внутреннюю мембрану митохондрии	255		
9. Фотосинтетические системы	259		
9.1. Этапы фотосинтеза	260		
9.1.1. Поглощение света	260		
9.1.2. Перенос электрона и генерация протондвижущей силы	261		
9.1.3. Синтез АТФ	263		
9.1.4. Фиксация углерода	263		
9.2. Фотосистемы	263		
9.3. Разделение зарядов в реакционном центре фотосистемы	268		
9.4. Светособирающие комплексы	270		
10. Молекулярные механизмы фотосинтеза	272		
10.1. Фотосистема пурпурных бактерий	273		
10.2. Две фотосистемы в хлоропластах растений	275		

Навчальне видання

ОГУРЦОВ Олександр Миколайович

## ОСНОВИ МОЛЕКУЛЯРНОЇ БІОЛОГІЇ

Навчальний посібник

У двох частинах

### Частина 1

### Молекулярна біологія клітини

Російською мовою

Відповідальний за випуск *М. Ф. Клещев*  
Роботу до видання рекомендувала *М. Г. Зінченко*  
В авторській редакції

План 2010 р., поз. 51 / 109-10.

Підп. до друку 05.07.2010 р. Формат 60×84 1/16. Папір офісний.  
Riso-друк. Гарнітура Таймс. Ум. друк. арк. 17,6. Наклад 300 прим.  
Зам. № 2. Ціна договірна.

---

Видавничий центр НТУ «ХП».

Свідоцтво про державну реєстрацію ДК № 3657 від 24.12.2009 р.  
61002, Харків, вул. Фрунзе, 21

---

Друкарня НТУ «ХП». 61002, Харків, вул. Фрунзе, 21

Учебное пособие содержит материалы по основным вопросам первого раздела курса «Молекулярная биология» в соответствии с программой подготовки студентов направления «Биотехнология».

Предназначено для студентов направления подготовки 051401 «Биотехнология», обучающихся по курсу «Молекулярная биология», в том числе иностранных студентов, всех форм обучения

ISBN 978-966-593-880-4



9 789665 938804