

# **БИОХИМИЯ**

## **ВВЕДЕНИЕ**

Клетка как самовоспроизводящийся химический реактор. Потoki вещества, энергии и информации в клетке. Единство химического состава и типов превращений веществ в живых системах. Химический состав клеток. Способы существования организмов: аутотрофия, гетеротрофия. Определение понятий об обмене веществ, энергии и информации: метаболизм, катаболизм, анаболизм, рецепторные системы, хранение и передача генетической информации. Координация метаболизма в клетках, колониях микроорганизмов, тканях и органах. Специализация метаболизма. Биохимическая эволюция.

## **ХИМИЧЕСКАЯ ПРИРОДА И СВОЙСТВА КОМПОНЕНТОВ КЛЕТОК (СТАТИЧЕСКАЯ БИОХИМИЯ)**

### **1. Вода - универсальная среда для химических превращений в живых системах**

Свойства воды как растворителя. Динамическая структура воды. Влияние растворенных веществ на свойства воды. Электрохимия водных растворов. pH и буферные растворы. Специфика молекулярных взаимодействий в водных растворах.

### **2. Структуры и физико-химические свойства мономерных соединений, входящих в состав биологических объектов**

Природные аминокислоты. Способы классификации аминокислот. Общие и специфические реакции функциональных групп аминокислот. Ионизация аминокислот. Методы разделения и идентификации аминокислот и пептидов. Необычные аминокислоты, их производные, пептиды.

Природные углеводы и их производные. Моносахариды и их химические свойства. Стереохимия и изомерия углеводов. Гликозиды, амино-, фосфо-, сульфосахариды. Олигосахариды. Альдо- и кетосахара и их дезоксипроизводные. Реакционная способность углеводов.

Липофильные соединения и их классификация. Насыщенные и ненасыщенные жирные кислоты. Изомерия и структура ненасыщенных

жирных кислот. Нейтральные жиры. Фосфолипиды, сфинголипиды, гликолипиды. Полиморфизм фосфолипидов в водных растворах. Мицеллы и липосомы. Стерины, желчные кислоты. Методы очистки и разделения липофильных соединений.

Пуриновые и пиримидиновые основания. Нуклеозиды и нуклеотиды. Циклические нуклеотиды.

Витамины, коферменты и другие биологически активные вещества. Амид никотиновой кислоты. Липоевая кислота. Рибофлавин. Динуклеотиды (NAD, FAD). Биотин. Тиамин. Пантотеновая кислота, кофермент А (CoA). Пиридоксин- и пиридоксаль фосфаты. Аскорбиновая кислота. Ретиноиды. Токоферол. Нафто- и убихиноны. Биогенные амины. Ацетилхолин. Железо-порфирины и хлорофилл. Железо-серные кластеры. Минеральный состав клеток и микроэлементы.

### **3. Структура и свойства биополимеров.**

Белки. Методы разделения и очистки белков. Первичная структура белка и методы ее установления. Природа пептидной связи. Упорядоченные ( $\alpha$ -спираль,  $\beta$ -слои) и неупорядоченные структуры полипептидных цепей. Уровни структурной организации белков (первичная, вторичная, третичная, четвертичная и надмолекулярные структуры). Природа межмолекулярных взаимодействий, обеспечивающих структуру белков (ионные взаимодействия, водородные связи, гидрофобные взаимодействия, дисульфидные связи). Особенности строения мембрано-связанных белков. Структурные белки (коллаген, кератины). Посттрансляционная модификация белков. Конформационная стабильность и подвижность белка. Денатурация белка и проблема ее обратимости. Связь между первичной и высшими степенями структурной организации белков. "Консервированные" и гомологичные последовательности аминокислот в белках. Взаимодействие белков и низкомолекулярных лигандов (миоглобин, гемоглобин). Сравнительная биохимия и эволюция белков.

Полисахариды. Химическое строение крахмала, гликогена, целлюлозы, хитина. Гомо- и гетерополисахариды. Протеогликаны. Гликолипиды. Первичная, вторичная и более высокие уровни организации полисахаридов, гликопротеинов, сульфополисахаридов.

Нуклеиновые кислоты. Азотистые основания и пентозы, входящие в состав ДНК и РНК. Комплементарные пары нуклеотидов. Правило Чаргаффа. В-структура ДНК (двойная спираль Уотсона-Крика). Другие упорядоченные структуры нуклеиновых кислот. Денатурация и ренатурация ДНК. Суперспирализация ДНК. Различные типы РНК. Гистоны и строение хроматина. Методы установления первичных последовательностей нуклеотидов в нуклеиновых кислотах (секвенирование).

Биологические мембраны. Липосомы как модель биологических мембран. Физико-химические свойства двойной фосфолипидной мембраны (проницаемость, подвижность молекул фосфолипидов). Химическая гетерогенность фосфолипидов мембраны. Холестерин. Специфичность фосфолипидного состава биологических мембран. Динамическая модель биологических мембран Сингера-Никольсона. Периферические и интегральные белки мембран. Двумерная диффузия белков в мембранах. Ассиметрия биологических мембран. Топография белков и липидных компонентов мембран. Каналы, поры, переносчики, рецепторы и избирательная проницаемость биологических мембран.

## **ФЕРМЕНТАТИВНЫЙ КАТАЛИЗ**

Общие представления о катализе. Физический смысл константы скорости химической реакции (энергетическая диаграмма реакции, переходное состояние, энергия активации). Классификация каталитических механизмов (общий и специфический кислотно-основной катализ, ковалентный катализ, промежуточные соединения). Белки - биологические катализаторы. Стационарное приближение при рассмотрении ферментативных реакций. Уравнение Михаэлиса-Бриггса-Холдейна. Графические методы анализа ферментативных реакций. Физический смысл константы Михаэлиса.

Максимальные скорости ферментативных реакций. Активность и числа оборотов ферментов. Специфичность ферментативного катализа. Ингибиторы и активаторы ферментов. Обратимость ферментативного катализа. Кофакторы. Регулируемость ферментативного катализа. Изо- и аллостерическое связывание лигандов-регуляторов с белком-ферментом. Кооперативные эффекты в ферментативном катализе.

Изоферменты. Международная классификация ферментов. Катализ и проницаемость мембран. Химические механизмы ферментативного катализа (сериновые протеазы, пиридоксальный катализ, карбоангидраза и др.). Специфическая локализация ферментов в клетке.

### **ОСНОВЫ БИОЭНЕРГЕТИКИ**

Изменение свободной энергии и равновесие обратимых реакций. Сопряженные реакции. Ферменты-лигазы в качестве устройств, обеспечивающих сопряжение. Соединения с высоким потенциалом переноса групп. Концепция фосфорильного потенциала. АТФ - универсальный источник энергии в биологических системах. Другие "богатые энергией" соединения (пирофосфат, креатинфосфат, фосфоенолпируват, ацилтиоэфиры, ацилфосфаты). Регулирование фосфорильного потенциала. Креатинкиназная и аденилаткиназная реакции. Нуклеозид моно-, ди- и трифосфаткиназные реакции. Энергетическая эффективность сопряженных реакций. Тепловые эффекты биохимических превращений и терморегуляция. Активный транспорт веществ через биологические мембраны. Транспортные АТРазы.

### **МЕТАБОЛИЗМ (ДИНАМИЧЕСКАЯ БИОХИМИЯ)**

Аутотрофия, гетеротрофия. Фотосинтез. Полисахариды и нейтральные жиры как запасные вещества клетки. Аэробный и анаэробный обмен веществ. Конечные продукты метаболизма. Биохимия пищеварения. Специфичность пищеварительных протеаз, липаз и гликогидролаз. Энергетическая и пластическая функции обмена веществ.

**1. Обмен углеводов** Фосфорилиз гликогена. Гидролиз крахмала. Гексокиназная и глюкокиназная реакции. Гликолиз и гликогенолиз. Прямое

окисление глюкозы. Включение гексоз и пентоз в гликолитический распад. Молочнокислое и спиртовое брожение. Стехиометрические уравнения гликолиза и гликогенолиза. Образование АТФ, сопряженное с распадом глюкозо-6-фосфата до молочной кислоты. Гликолитическая оксидоредукция. Характеристика отдельных ферментов гликолиза. Регулирование гликолиза. Регуляторные механизмы фосфолиза гликогена и фосфофруктокиназной реакции. Обратимость гликолиза и глюконеогенез. Цикл Кори. Синтез гликогена. Стехиометрические уравнения синтеза глюкозы и гликогена из молочной кислоты. Содержание глюкозы, лактата и пирувата в крови как физиологический показатель.

**2. Обмен липидов** Транспорт липофильных веществ: желудочно-кишечный тракт — кровь — клетки. Липазы и фосфолипазы. Включение глицерина в гликолитические реакции. Активация жирных кислот. Роль карнитина в транспорте жирных кислот в митохондрии. Окислительный распад жирных кислот ( $\beta$ -окисление). Конечные продукты распада "четных" и "нечетных" жирных кислот. Образование ацетоацетата. Содержание "кетонных" тел (ацетоацетат, ацетон,  $\beta$ -оксибутират) как физиологический показатель. Источники ацетил-СоА для синтеза жирных кислот. Система синтеза жирных кислот. СоА и ацилпереносящие белки. Синтез фосфолипидов. Синтез нейтрального жира. Стехиометрические уравнения распада жирных кислот до ацетил-СоА. Стехиометрические уравнения синтеза жирных кислот из ацетил-СоА.

**3. Обмен аминокислот и других азотистых соединений** Внечлеточный (пищеварительный) протеолиз. Заменяемые и незаменимые аминокислоты. Переаминирование. Декарбоксилирование аминокислот. Окислительное дезаминирование аминокислот.  $\alpha$ -Кетокислоты - продукты распада аминокислот. Детоксикация аммиака. Аммонийотелия, уреотелия и урикоотелия. Синтез мочевины в качестве конечного продукта обмена азотистых соединений. Стехиометрические уравнения образования мочевины. Конечные продукты и схемы распада пуриновых и пиримидиновых оснований. Глутамин

как транспортная форма аммиака. Креатин и креатинин. Внутриклеточный протеолиз. Общие представления о синтезе заменимых аминокислот. Активация аминокислот и синтез аминоксил-т-РНК. Общие представления о синтезе белка рибосомами.

**4. Распад ди-, трикарбоновых кислот** Окислительное декарбоксилирование пирувата. Ацетил-СоА универсальный интермедиат распада жиров, углеводов и белков. Пути образования щавелево-уксусной кислоты. Цикл ди-, трикарбоновых кислот (цикл Кребса). Стехиометрическое уравнение распада пирувата до  $\text{CO}_2$ . Энергетическая и пластическая функции цикла Кребса.

**5. Терминальное окисление** Коферменты - продукты окислительных реакций ( $\text{NAD}^+/\text{NADH}$ ;  $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$ ; убихинон/убихинол). Оксидазы и механизмы активации кислорода. Электрон-трансферные реакции и понятие о дыхательных цепях. Структура митохондрий и локализация компонентов дыхательной цепи млекопитающих. Перенос восстановительных эквивалентов через мембрану митохондрий. Трансгидрогеназная реакция. Компоненты дыхательной цепи. Дыхательная цепь - преобразователь энергии (теория электрохимического сопряжения П. Митчела). Обратимая  $\text{H}^+$ -АТРаза- главное устройство для синтеза АТФ в аэробных клетках. Стехиометрические уравнения окисления  $\text{NADH}$  и убихинола кислородом. Эффективность сопряжения окислительного фосфорилирования. Механизмы термогенеза. Дыхательные цепи микросом. Цитохром Р-450 и окислительная деструкция ксенобиотиков.

## **РЕГУЛИРОВАНИЕ И ИНТЕГРАЦИЯ МЕТАБОЛИЗМА**

Ключевые пары метаболитов ( $\text{NAD(P)}^+/\text{NAD(P)H}$ ; АТФ/АДФ; Ацил-СоА/СоА; лактат/пируват; р-оксибутират/ацетоацетат) и факторы, влияющие на их концентрации. Дивергенция катаболических и анаболических цепей метаболизма. Типы регулирования активности ферментов и переносчиков. Стехиометрическое регулирование (алло- и изостерические ингибиторы и активаторы ферментов). Регулирование активности ферментов их ковалентной

модификацией: фосфорилирование, ацилирование, ADP-рибозилирование. Протеинкиназы и протеинфосфатазы. Каскадный принцип регулирования ферментов. Гормоны в качестве первичных управляющих сигналов метаболизма. Рецепторы гормонов и G-белки. Механизмы и результаты действия инсулина, адреналина, глюкагона. Вторичные посредники передачи сигналов: циклические нуклеотиды, ионы  $Ca^{+2}$ , фосфатидилинозитол. Внутриклеточный протеолиз. Тканевая специфичность метаболизма.

### **МАЛЫЙ ПРАКТИКУМ**

1. Свойства растворов электролитов. pH растворов и буферная емкость. Способы выражения концентраций.
2. Методы определения pH. pH-чувствительные индикаторы. Стеклоэлектрод.
3. Свойства белков и аминокислот. Ионообменная хроматография смесей аминокислот. Определение изоэлектрической точки белков.
4. Качественные реакции аминокислот, пептидов и белков.
5. Количественное определение белков.
6. Фракционирование и очистка белков.
7. Анализ состава нуклеопротеидов дрожжей.
8. Качественные и количественные реакции углеводов.
9. Определение активности ферментов.
10. Ферментативные превращения углеводов. Определение сахара в крови.
11. Разделение и идентификация липидов в экстрактах ткани мозга.
12. Ферментативный гидролиз жира молока.
13. Определение содержания креатинфосфата в мышечной ткани.
14. Выделение компонентов адениловой системы из мышц, их разделение и количественное определение.
15. Определение содержания нуклеиновых кислот в ткани печени. Выделение ДНК и ее количественное определение.

16. Гликолитический распад углеводов. Количественное определение фруктозо-1,6-бисфосфата.
17. Определение активности гликогенфосфорилазы мышц.
18. Получение препаратов лактатдегидрогеназы из различных тканей. Определение активности фермента и изучение изозимов лактатдегидрогеназы.
19. Переаминирование в печени и мышцах. Разделение и количественное определение аминокислот.

## ЛИТЕРАТУРА

### **основная:**

- А. Ленинджер.* Основы биохимии. В 3-х томах. "Мир", М., 1985.
- Л. Страйер.* Биохимия. В 3-х томах. "Мир", М., 1984.
- Р. Марри, Д. Греннер, П. Мейес, В. Родуэлл.* Биохимия человека. В 2-х томах. "Мир", М., 1993
- Г. Малер, Ю. Кордес.* Основы биологической химии. "Мир", М., 1970.

### **дополнительная:**

- А. Уайт, Ф. Хендлер, Э. Смит, Р. Хилл, И. Леман.* Основы биохимии. В 3-х томах. "Мир", М., 1981.
- М. Диксон, Э. Уэбб.* Ферменты. В 3-х томах. "Мир", М., 1982.
- Э. Корниш-Боуден.* Основы ферментативной кинетики. "Мир", М., 1979.
- Ч. Кантор, П. Шиммел.* Биофизическая химия. В 3-х томах. "Мир", М., 1985.
- В. Дженкс.* Катализ в химии и энзимологии. "Мир", М., 1972.
- В. П. Скулачев.* Биоэнергетика. Мембранные преобразователи энергии. "Высш. шк.", М., 1989.
- П. Хочачка, Дж. Сомеро.* Биохимическая адаптация. "Мир", М., 1988.