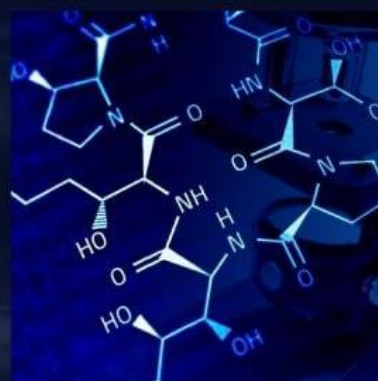
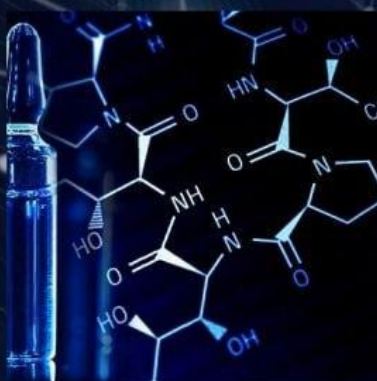
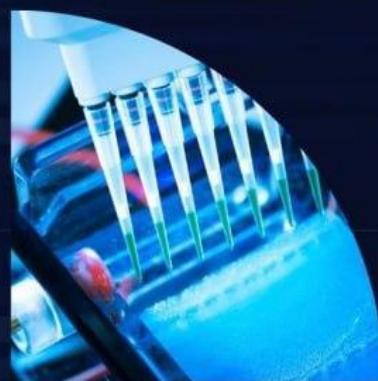


БІОХІМІЯ

НАВЧАЛЬНИЙ ПОСІБНИК
ДЛЯ ЗДОБУВАЧІВ ПЕРШОГО (БАКАЛАВРСЬКОГО)
РІВНЯ ВИЩОЇ ОСВІТИ ВИЩИХ НАВЧАЛЬНИХ
ЗАКЛАДІВ ЗІ СПЕЦІАЛЬНОСТЕЙ 091 БІОЛОГІЯ
ТА 014 БІОЛОГІЯ ТА ЗДОРОВ'Я ЛЮДИНИ



Харків
2024



**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
КОМУНАЛЬНИЙ ЗАКЛАД
«ХАРКІВСЬКА ГУМАНІТАРНО-ПЕДАГОГІЧНА АКАДЕМІЯ»
ХАРКІВСЬКОЇ ОБЛАСНОЇ РАДИ**

Іонов І. А., Дехтярьова О. О., Москальов В. Б., Борзик О. Б.



БІОХІМІЯ

**Навчальний посібник
для здобувачів першого (бакалаврського) рівня вищої освіти вищих
навчальних закладів зі спеціальностей 091 Біологія та 014 Біологія та
здоров'я людини**

**Харків
2024**

УДК 577.1(075.8)

I 75

Укладачі:

Іонов І. А., – доктор сільськогосподарських наук, професор, член-кореспондент Національної академії аграрних наук України, професор кафедри анатомії та фізіології людини імені доктора медичних наук, професора Я. Р. Синельникова Харківського національного педагогічного університету імені Г. С. Сковороди.

Дехтярьова О. О., кандидат біологічних наук, доцент, доцент кафедри природничих дисциплін Комунального закладу «Харківська гуманітарно-педагогічна академія» Харківської обласної ради.

Москальов В. Б., доктор філософії, викладач кафедри природних дисциплін Комунального закладу "Харківська гуманітарно-педагогічна академія" Харківської обласної ради.

Борзик О. Б., доктор філософії, викладач кафедри природних дисциплін Комунального закладу "Харківська гуманітарно-педагогічна академія" Харківської обласної ради.

Рецензенти:

Жукова І. О. – докторка ветеринарних наук, професорка, професорка кафедри фізіології і біохімії тварин Державного біотехнологічного університету.

Сукач О. М., доктор біологічних наук, старший науковий співробітник, провідний науковий співробітник відділу кріобіохімії Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України.

I 75. Біохімія. Навчальний посібник для здобувачів першого (бакалаврського) рівня вищої освіти вищих навчальних закладів зі спеціальностей 091 Біологія та 014 Біологія та здоров'я людини / уклад. І. Іонов, О. Дехтярьова, В. Москальов; О. Борзик. Комунальний заклад «Харківська гуманітарно-педагогічна академія» Харківської обласної ради. – Харків, 2024. – 316 с.

Навчальний посібник складено відповідно до навчальної програми з курсу «Біохімія» для студентів біологічних спеціальностей університетів, а також для магістрантів, аспірантів. У виданні, на основі новітніх досягнень сучасної біохімії розглянуто основні розділи статичної і динамічної біохімії, будова, властивості основних класів органічних сполук, особливостей роботи тканин, органів при порушенні біохімічних реакцій.

Навчальний посібник містить методичні рекомендації до лабораторних робіт з кожного розділу біохімії, які містять теоретичні відомості з теми, опис процедури проведення лабораторної роботи з малюнками та схемами, контрольні питання і завдання для самоконтролю, тестові завдання.

Основне завдання посібника – закріплення теоретичних знань студентів та формування практичних вмінь і навичок на основі застосування досягнень сучасної біохімічної науки.

УДК 577.1(075.8)

I 75

Затверджено на засіданні науково-методичної ради Комунального закладу «Харківська гуманітарно-педагогічна академія» Харківської обласної ради

(Протокол № 1 від 11.09.24 р.)

© ХГПА, 2024

© Іонов І. А., Дехтярьова О. О., Москальов В. Б.,
Борзик О.Б.

ЗМІСТ

Розділи	Стор.
Передмова	8
РОЗДІЛ 1. ВСТУП ДО ПРЕДМЕТУ. ХІМІЧНИЙ СКЛАД ЖИВИХ ОРГАНІЗМІВ	9
1.1. Предмет та задачі біохімії	9
1.2. Статистична та динамічна біохімії	11
1.3. Хімічний склад живих організмів	12
1.4. Основні особливості метаболічних процесів	13
РОЗДІЛ 2. БІЛКИ, ФУНКЦІЇ, СТРУКТУРА ОРГАНІЗАЦІЇ Й НОМЕНКЛАТУРА	15
2.1. Функції білків, форма білкових молекул	15
2.2. Хімічний склад білків. Амінокислоти і їх класифікація	17
2.3. Структурна організація білків	22
2.4. Класифікація білкових речовин	29
<i>Лабораторна робота № 1. Фізико-хімічні властивості білків. Класифікація білків</i>	31
<i>Лабораторна робота № 2 Якісні реакції на білки, пептиди, амінокислоти</i>	36
Тестові завдання з розділу «Білки»	45
РОЗДІЛ 3. ФЕРМЕНТИ (ЕНЗИМИ)	50
3.1. Загальні властивості ферментів	50
3.2. Будова молекули ферментів. Поняття активного центра	51
3.3. Специфічні властивості ферментів	54
3.4. Механізм дії ферментів	56
3.5. Активатори й інгібітори ферментів. Типи інгібування ферментів	59
3.6. Поняття про ізоферменти	62
3.7. Кінетика ферментативних реакцій. Одиниця активності ферментів	63
3.8. Класифікація ферментів	64
3.9. Локалізація ферментів у клітках, окремих органах і тканинах	65
<i>Лабораторна робота № 3. Загальні властивості ферментів</i>	66
Тестові завдання з розділу «Ферменти»	75
РОЗДІЛ 4. ВУГЛЕВОДИ	79
4.1. Функції й класифікація вуглеводів	79
4.2. Обмін вуглеводів (переварювання, гліколіз, баланс енергії в	82

реакціях гліколізу, поняття про глікогенез).	
<i>Лабораторна робота № 4. Якісні реакції на вуглеводи</i>	89
Тестові завдання з розділу «Вуглеводи»	98
РОЗДІЛ 5. ЛІПІДИ	101
5.1. Загальна характеристика й класифікація ліпідів.	101
5.2. Перетворення ліпідів у процесі травлення й всмоктування.	107
<i>Лабораторна робота № 5. Якісні реакції на ліпіди</i>	108
Тести по розділу «Ліпіди»	116
РОЗДІЛ 6. НУКЛЕЇНОВІ КИСЛОТИ	119
6.1. Відкриття НК і їхня біологічна роль. Хімічний склад НК	119
6.2. Структура нуклеїнових кислот (правило Чаргаффа, первинна, вторинна, третинна структура)	123
6.3. Структура ДНК і організація хроматину у еукаріот	129
6.4. Класифікація РНК і їх значення	132
Тести з розділу «Нуклеїнові кислоти»	134
РОЗДІЛ 7. ВІТАМІНИ	138
7.1. Загальна характеристика й класифікація вітамінів.	138
7.2. Жиророзчинні вітаміни: будова, функції й потреба	141
7.3. Водорозчинні вітаміни: будова, функції й потреба	152
<i>Лабораторна робота № 6. Якісні реакції на водорозчинні вітаміни</i>	166
<i>Лабораторна робота № 7. Якісні реакції на жиророзчинні вітаміни</i>	172
Тестові завдання з розділу «Вітаміни»	179
РОЗДІЛ 8. ГОРМОНИ	183
8.1. Загальна характеристика й механізм дії гормонів. Номенклатура й класифікація	183
8.2. Гормони щитовидної залози	186
8.3. Гормони паращитовидної залози	189
8.4. Гормони підшлункової залози	189
8.5. Гормони гіпофізу	192
8.6. Гормони наднирників	195
8.7. Гормони статевих залоз	198
8.8. Гормони тимусу	200
8.9. Гормони епіфізу	201
8.10. Тканинні гормони	201
8.11. Фітогормони	202
<i>Лабораторна робота № 8. Якісні реакції на гормони</i>	203
Тестові завдання з розділу «Гормони»	207

РОЗДІЛ 9. БІОЛОГІЧНЕ ОКИСЛЮВАННЯ	211
9.1. Сучасні уяви про біологічне окислювання	211
9.2. Мітохондрії і їхня роль у процесах окисного фосфорилування	213
9.3. Окисне фосфорилування й дихальний ланцюг мітохондрій	215
9.4. Вільне окислювання й мікросомальне окислювання	218
9.5. Регуляція енергетичного обміну	219
<i>Лабораторна робота № 9. Біологічне окиснення, оксидоредуктази</i>	221
Тестові завдання з розділу «Біологічне окислювання»	223
РОЗДІЛ 10. ОБМІН БІЛКІВ	229
10.1. Значення білкового обміну. Перетравлення й шляхи розпаду білків	229
10.2. Перетворення амінокислот у тканинах (дезамінування, переамінування, декарбоксилування)	236
10.3. Синтез сечовини (орнітинів цикл)	238
<i>Лабораторна робота № 10. Обмін простих білків</i>	241
Тестові завдання з розділу: «Обмін білків»	247
РОЗДІЛ 11. ОБМІН ВУГЛЕВОДІВ	249
11.1. Пентозофосфатний цикл окислювання вуглеводів	249
11.2. Глікогенез	252
11.3. Глюконеогенез	253
11.4. Цикл трикарбонових кислот (цикл Кребса)	257
11.5. Порушення вуглеводного обміну	261
<i>Лабораторна робота № 11. Обмін вуглеводів</i>	262
Тестові завдання з розділу: «Обмін вуглеводів»	269
РОЗДІЛ 12. ОБМІН ЛІПІДІВ	272
12.1. Обмін ліпідів - β -окислювання жирних кислот	272
12.2. Біосинтез жирних кислот і тригліцеридів	274
12.3. Регуляція ліпідного обміну	277
<i>Лабораторна робота № 12. Обмін ліпідів</i>	279
Тестові завдання з розділу: «Обмін ліпідів»	283
РОЗДІЛ 13. ОБМІН НУКЛЕЇНОВИХ КИСЛОТ	287
13.1. Синтез і розпад компонентів нуклеїнових кислот (пурінових і піримідинових основ)	287
13.2. Механізм біосинтезу ДНК. Реплікаційна вилка і її робота	297
13.3. Біосинтез РНК	299
РОЗДІЛ 14. ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК ОБМІНУ БІЛКІВ, НУКЛЕЇНОВИХ КИСЛОТ, ВУГЛЕВОДІВ І ЛІПІДІВ	301

14.1. Взаємозв'язок обміну вуглеводів і ліпідів	302
14.2. Взаємозв'язок білкового й вуглеводного обмінів	306
14.3. Утворення вуглеводів і жирів з білків	309
14.4. Взаємозв'язок між обміном органічних і неорганічних речовин	310
14.5. Єдність метаболічних процесів і зовнішнє середовище	311
14.6. Рівні й принципи організації метаболізму	312
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ	315

ПЕРЕДМОВА

Навчальний посібник за своїм змістом відповідає чинній програмі з біохімії. Головна мета посібника – дати загальні уявлення про фундаментальні досягнення біохімії у вивченні хімічних основ життя, оскільки у формуванні фізіолого-біохімічного мислення майбутнього біолога, вчителя біології у школі велику роль відіграє знання будови (структури) та ролі хімічних компонентів у здійсненні фізіологічних функцій. Перша частина посібника присвячена розгляду питань статичної біохімії - хімічного складу живих організмів. Зокрема, надано сучасні уявлення про принципи структурної організації білків, ферментів, вуглеводів, ліпідів, нуклеїнових кислот, вітамінів і гормонів, методах їх визначення в розчинах та тканинах.

Друга частина посібника присвячена розгляду питань динамічної біохімії – обміну основних класів біологічних речовин та його регуляції.

Навчальний посібник включає чотирнадцять розділів, кожний розділ містить теоретичні відомості за темою занять, опис методик дослідження, процедури проведення лабораторних робіт, контрольні питання та тести.

Посібник ілюстровано рисунками, схемами і таблицями.

РОЗДІЛ 1

ВСТУП ДО ПРЕДМЕТУ. ХІМІЧНИЙ СКЛАД ЖИВИХ ОРГАНІЗМІВ

ПЛАН

1. Предмет та задачі біохімії.
2. Статистична та динамічна біохімія.
3. Хімічний склад живих організмів.
4. Основні особливості метаболічних процесів.

1. Предмет та задачі біохімії.

Біологічна хімія (біохімія) – це наука про хімічний склад та хімічні реакції живих організмів, властивості речовин та перетворення цих речовин в процесі життєдіяльності. Сукупність цих перетворень, які відображають постійний взаємозв'язок організму з навколишнім середовищем, прийнято називати обміном речовин.


Основною функцією живого організму є обмін речовин і енергії. Життя можливе до тих пір, поки відбувається обмін речовин, що представляє собою єдність двох протилежних процесів: асиміляції і дисиміляції.

Асиміляція - це синтез і засвоєння речовин, що надходять в організм із зовнішнього середовища, утворення складних хімічних сполук з простіших. Асиміляція завжди проходить з витратами енергії. **Дисиміляція** - це розпад, розщеплення складних органічних сполук на більш прості речовини із звільненням енергії. Частина простіших речовин, що утворюються в процесі дисиміляції, використовується в процесах синтезу, кінцеві продукти обміну видаляються з організму.

Поняття «хімічний склад», «перетворення речовин» та сама назва науки – «біологічна хімія» викликає питання: розділом біології чи хімії є біохімія? Життя – якісно своєрідна, вища форма руху матерії в природі. Обмін речовин являє собою основу, сутність цієї особливої форми руху матерії. *«Життя є спосіб існування білкових тіл, вагомим моментом якого є постійний обмін речовин з оточуючим їх навколишньою природою»*. Тому наука, яка вивчає сутність біологічної форми руху матерії – обмін речовин, повинна бути віднесена до групи біологічних наук.

Визначення біохімії як науки одночасно характеризує і її положення та значення серед інших біологічних наук. Вивчаючи сутність життя, а саме головне у життєвих процесах – обмін речовин, біохімія, безперечно повинна бути віднесена до найважливіших біологічних наук.

Значення біохімії, як науки для людства визначається тим, що вона є однією з теоретичних основ медицини, сільського господарства, біотехнології, генної




інженерії та інших галузей промисловості. В основі багатьох біологічних станів людини лежать порушення окремих біологічних процесів. Відомо більше ста хвороб, обумовлених порушенням діяльності ферментативних систем, відсутністю окремих ферментів внаслідок спадкоємних дефектів. Для деяких хвороб характерні зміни в хімічній структурі деяких високомолекулярних сполук. Такі своєрідні «молекулярні дефекти» описані, зокрема, для гемоглобіну та полісахаридів. Наприклад, відсутність в крові ряду білків глобулінової природи різко позначається на процесі згортання крові. Якщо в плазмі крові відсутній один з глобулінів, то людина хворіє на гемофілію, або кровоточивість. У людей, які страждають на гемофілію, різко знижена здатність згортання крові. Навіть невелике поранення може викликати у них небезпечну кровотечу.

Без глибоких знань молекулярних основ патології не можливі ні діагностика, ні лікування, ні профілактика хвороб. Успіхи біохімії разом із біотехнологією визначають і стратегію створення нових лікарських препаратів (приклад - синтез інсуліну). Великий інтерес в цьому відношенні має широке використання ферментів при лікуванні деяких хвороб, а також використання ферментних препаратів у годівлі тварин.

Біохімічні процеси та показники лежать в основі будь-якої технології харчової промисловості: хлібопечення, сироваріння, виноробства, пивоваріння, виробництва чаю, жирів та олій, переробки молока, м'яса та риби, плодів та овочів, виробництва крохмалю та патоки. Біохімічні знання необхідні для успішної організації шкіряного виробництва, при виготовленні виробів з хутра, обробці натурального шовку. Ферментативні препарати широко використовують при виготовленні бавовняних тканин.

Все більше розширюються біохімічні виробництва для виготовлення вітамінів, антибіотиків, біологічно активних речовин (БАР), органічних кислот, кормового білку. Тільки на основі глибокого вивчення закономірностей обміну речовин сільськогосподарських рослин та тварин можливе отримання великих врожаїв з високою якістю продуктів у рослинництві та підвищення продуктивності у тваринництві. Виключно ефективним в цьому відношенні є використання в сільському господарстві різноманітних хімічних препаратів: гербіцидів, фунгіцидів, кормових вітамінів, білків та антибіотиків, дефоліантів та десикантів (викликають опадання листя та перезбиральне висушування рослин), інсектицидів (знешкоджують комах - шкідників), репелентів (відлякують шкідників) та т.п. Все перелічене говорить про велике значення біохімії для людства, пояснює великий інтерес до цієї науки у всьому світі.



2. Статистична та динамічна біохімія.

Біохімію прийнято ділити на **статичну** та **динамічну**. **Задача статичної біохімії** – вивчення хімічного складу та властивості речовин живих організмів.

Динамічна біохімія вивчає перетворення речовин в процесі життєдіяльності або протягом хімічних процесів, які відбуваються у живій матерії. Цей розподіл, у значній мірі умовний, при проведенні реальних біохімічних досліджень неможливо глибоко вивчити та зрозуміти перетворення будь-якої речовини в організмі, не знаючи будови, властивостей цієї речовини, та навпаки, будь-яка характеристика властивостей біохімічних сполук буде неповною без опису їх перетворень в організмі.

Динамічна біохімія потребує знань складу живого тіла, а також речовин, які до нього потрапляють; вміння ізолювати та одержувати шляхом синтезу окремі речовини, які входять до складу живого організму та їжі і які до нього потрапляють.

В залежності від об'єктів дослідження розрізняють біохімію людини та тварин, біохімію рослин, біохімію мікроорганізмів. Виділяють окремі розділи біохімії за напрямком досліджень.

Технічна біохімія розробляє біохімічні основи тих галузей промисловості, де переробляється сировина та матеріали біологічного походження (хлібопечення, сироваріння, виноробства і т.п.). **Медична біохімія** вивчає біохімічні процеси в організмі людини у нормі та при патології. **Еволюційна біохімія** співвідносить склад та шляхи перетворення речовин та енергії різних систематичних груп живих організмів в еволюційному плані. **Ензимологія** вивчає структуру, властивості та механізм дії ензимів (ферментів) - біологічних каталізаторів.

З усіх інших наук біохімія найбільше пов'язана з фізіологією.

Цей зв'язок обумовлений самою природою, сутністю біологічних процесів. В основі любого порушення будь-якої фізіологічної функції лежить система змін біохімічних реакцій. Не можна глибоко, до кінця вірно зрозуміти природу любого фізіологічного процесу, якщо не знати його біохімізм, так як не можна вивчати біохімічні реакції відокремлено від їхнього фізіологічного значення. Тому стає зрозумілим, чому до другої половини ХІХ сторіччя біохімія була не самостійною наукою, а розділом фізіології. На хід біохімічних процесів вирішальне значення має стан фізіологічних функцій організму і перш за все стан нервової системи.

Тісний взаємозв'язок біохімії і фізіології відобразився і у творчості багатьох великих дослідників. Фізіолог Іван Петрович Павлов є одночасно одним з основоположників низькі важливих розділів біохімії, зокрема розділів ензимології: про перетворення зимогенів (проферментів) в активні ферменти, о зворотності дії ферментів, будові та властивостях травних ферментів.

Поступово, у зв'язку з накопиченням біологічних знань, біохімія стала одним з ведучих розділів фізіології, а потім відокремилась у самостійну науку. В теперішній

час, у зв'язку з могутнім розвитком окремих розділів біохімії, з'являється тенденція виділення деяких з них у самостійні наукові дисципліни (наприклад, ензимології).

3. Хімічний склад живих організмів.

У складі живих організмів немає жодного хімічного елементу, який би становив виняткову приналежність саме до живих організмів, не зустрічається в неживій природі. З 107 відомих у цей час хімічних елементів у живих організмах знайдено більше 70, з них близько 20 зустрічається у всіх типах організмів.

Основними типами сполук, що входять до складу живих організмів, є: білки, нуклеїнові кислоти, вуглеводи, ліпіди (жири й жироподібні речовини), вода, мінеральні солі. Крім них у складі організмів присутні деякі інші органічні речовини: карбонові кислоти, аміни, спирти, альдегіди. Є речовини, характерні тільки для рослинних тканин: ефірні масла, алкалоїди, дубильні речовини. І, нарешті, в окремі групи повинні бути виділені речовини, що є присутніми у тканинах живих організмів, як правило, у невеликих кількостях, але грають першорядну роль у регуляції всього обміну речовин: гормони, ферменти, вітаміни, антибіотики, фітонциди й т.п. Їх часто поєднують у групу біологічно активних сполук.

В. І. Вернадський запропонував групувати хімічні елементи біосфери «декадами» залежно від вмісту в живих організмах (табл. 1).

Таблиця 1. Середній елементарний склад рослин і тварин

Номера декад	Вміст у біосфері, % на сиру масу	Елементи
Макроелементи		
I	10	O, H
II	1	C
III	0,1	N, P, K, Ca, Si
IV	0,01	Mg, S, Fe, Na, Cl, Al
Мікроелементи		
V-V- VII	$10^{-3} - 10^{-5}$	Mn, B, Si, Zn, Ba, Li, Ni, Rb, F і ін.
Ультрамикроелементи		
VIII— XIV	$10^{-6} - 10^{-12}$	Mo, I, As, Ag, Hg, Au, Pb, Ra й ін.

Існує певна залежність між поширенням елементів у біосфері, їхньою біологічною роллю й положенням і періодичній системі Менделєєва. Речовини

живих організмів більш ніж на 99 % складаються з елементів перших трьох періодів цієї системи, тобто з легких елементів. Близько 98 % маси біосфери становлять чотири елементи: водень, кисень, вуглець і азот.

Дослідженнями встановлено, що до складу організму хребетних тварин зазначені речовини входять приблизно в наступних кількостях (в %):

Вода - 65,9	Соли - 5,6
Білки - 6,8	Вуглеводи - 1,2
Ліпіди - 10,5	

4. Основні особливості метаболічних процесів

Обмін речовин (метаболізм) живої клітини складається в основному із двох потоків реакцій - катаболічних і анаболічних.

Катаболічні шляхи (катаболізм) - це процеси деградації, дисиміляції. Сюди відносяться різні реакції розщеплення (гідроліз, фосфороліз) і окислювання. Великі органічні молекули розщеплюються до простих речовин з одночасним виділенням хімічної енергії, що міститься в них. Енергія запасується організмом у формі АТФ і в ряді інших сполук, а потім використовується на процеси життєдіяльності.

Анаболічні шляхи (анаболізм) - процеси синтезу, асиміляції. При цьому з відносно простих молекул будуються складні органічні сполуки. Ці шляхи часто містять у собі відбудовні реакції й здійснюються з витратою енергії.

Тісний зв'язок між анаболізмом і катаболізмом проявляється на трьох рівнях.

1. На рівні джерел вуглецю: продукти катаболізму можуть бути вихідними субстратами анаболічних реакцій.
2. На енергетичному рівні: у процесі катаболізму утворюються АТФ і інші високоенергетичні сполуки; анаболічні процеси протікають із їхнім споживанням.
3. На рівні відбудовних еквівалентів: реакції катаболізму є в основному окисними; процеси анаболізму, навпаки, є відбудовними.

У процесі метаболізму здійснюються чотири специфічні функції.

1. Витяг енергії з навколишнього середовища (або у формі енергії органічних речовин, або у формі енергії сонячного світла).
2. Перетворення екзогенних речовин в «будівельні блоки», тобто в попередники біополімерів.
3. Складання білків, нуклеїнових кислот, ліпідів, полісахаридів і інших клітинних компонентів із цих будівельних блоків.
4. Руйнування «застарілих» біомолекул, що вже виконали в клітині свої функції.

Найважливішою особливістю всіх біохімічних реакцій є їхня велика швидкість, обумовлена присутністю ферментів - біологічних каталізаторів. Ті ж

реакції поза організмом при участі хімічних каталізаторів мають швидкість на кілька порядків менше.

Для метаболічних процесів характерні також ступінчастість і спряженість. Багато реакцій у клітині йдуть звичайно через ряд проміжних етапів, щаблів. Наприклад, окислювання вуглеводів (клітковина, крохмаль і т.п.) у процесі згоряння поза організмом протікає одноетапно — приєднується O_2 і відразу утворюються кінцеві продукти окиснення CO_2 і H_2O .

РОЗДІЛ 2

БІЛКИ, ФУНКЦІЇ, СТРУКТУРА ОРГАНІЗАЦІЇ Й НОМЕНКЛАТУРА

ПЛАН

1. Функції білків, форма білкових молекул.
2. Хімічний склад білків. Амінокислоти і їх класифікація
3. Структурна організація білків
4. Класифікація білкових речовин

Одне з принципових відмінностей визначення життя полягає в тому, що в ньому вказується матеріальний носій - білок. У цей час встановлено, що в живій природі не існує небілкових організмів.

Білки - це високомолекулярні полімерні сполуки, які руйнуються при гідролізі на амінокислоти, тобто це сполуки, мономерами яких є амінокислоти, поєднанні пептидними зв'язками. Індивідуальність білкових молекул визначається порядком чергування амінокислот і їх кількістю.

Часто їх називають протеїнами (від грець. *protos* — перший, найважливіший). Для живих організмів вони дійсно є головними і за вмістом, і, особливо, за значенням. В організмі тварин білків в середньому - 18-21 %, у більшості рослин – 0,01-15 %, в бобових більше 20 %.

1. Функції білків, форма білкових молекул.

1. Структурна функція. Білки створюють основу протоплазми будь-якої живої клітини, у комплексі з ліпідами вони є основним структурним матеріалом всіх клітинних мембран, всіх органел.

Широко поширені такі важливі структурні білки, такі як колаген у сполучній тканині, кератин у волоссі, нігтях, шкірі, еластин у судинній стінці та ін. Не менш важливу роль виконують білки в комплексі з вуглеводами у формуванні ряду секретів - мукоїдів, муцинів і т.п. Нарешті, у комплексі з ліпідами (зокрема, фосфоліпідами) білки беруть участь в утворенні біомембран клітин.

2. Каталітична функція. Всі ферменти є білками, простими або складними. Таким чином, практично всі біохімічні реакції каталізуються білками-ферментами. У списку ідентифікованих ферментів їх біля 3000 найменувань, більше 200 з них отримано в кристалічному вигляді. Ця функція білків є унікальною, не властивою іншим полімерним молекулам.

3. Скорочувальна функція. В акті м'язового скорочення й розслаблення бере участь безліч білкових речовин тіла. Однак головну роль у цих життєво важливих

процесах грають актин і міозин - специфічні білки м'язової тканини. Будь-які форми руху в живій природі (робота м'язів, рух війок і джгутиків у найпростіших, рух протоплазми в клітині й т.п.) здійснюються білковими структурами клітин.

4. Транспортна функція. Білок крові гемоглобін транспортує кисень від легенів до тканин і органів. Перенос жирних кислот по організму відбувається за участю іншого білка крові альбуміну. Є білки крові, що транспортують ліпіди, вітаміни, залізо, стероїдні гормони. Перенос багатьох речовин через клітинні мембрани здійснюють особливі білки-переносники.

5. Захисна функція. Основну функцію захисту в організмі виконує імунологічна система, що забезпечує синтез специфічних захисних білків - антитіл у відповідь на надходження в організм бактерій, токсинів, вірусів або інших антигенів (чужорідних речовин). Висока специфічність взаємодії антитіл з антигенами за типом білок-білкова або білок-полісахаридна взаємодія сприяє нейтралізації їхньої біологічної дії й збереженню нормального стану. Як інший приклад захисної ролі можна привести здатність ряду білків крові до згортання. Згортання білка плазми крові фібриногену призводить до утворення згустку крові, що охороняє організм від втрати крові при пораненнях.

Внутрішні стінки стравоходу, шлунку вистелені захисним шаром слизових білків - муцинів. Токсини багатьох видів організмів, що захищають їх у боротьбі за існування, також є білками (змійні отрути, бактеріальні токсини). Основу шкіри, що охороняє тіло тварин від багатьох зовнішніх впливів, становить білок колаген. Кератин - білок волосяного захисного покриву.

6. Гормональна функція. Ряд гормонів по своїй будові відносяться до білків (інсулін) або пептидів (адренокортикотропний гормон, окситоцин, вазопресин і ін.).

7. Живильна (резервна) функція. До таких білків відносяться так звані резервні білки, що є джерелами харчування для розвитку плоду; білки яйця (овальбуміни) і основний білок молока (казеїн) також виконують головним чином живильну функцію.

8. Опорна функція. Сухожилля, суглобні зчленування, кістки скелету, копита утворені значною мірою білками.

9. Рецепторна функція. Багато білків (особливо глікопротеїни, лектини) здійснюють найважливішу функцію виборчого дізнання й приєднання окремих речовин.

Можна вказати ще на деякі інші життєво важливі функції білків, зокрема, на здатність білків до збереження осмотичного тиску в клітинах і в крові, на буферні властивості білків, що регулюють фізіологічне значення рН внутрішнього середовища і ін.

Таким чином, із цього далеко не повного переліку основних функцій білків видно, що зазначеним біополімерам належить виняткова й різнобічна роль в організмі людини.

Форма білкових молекул

Білки, що входять до складу різних органів і тканин, класифікують по їхній формі або конформації. Розрізняють фібрилярні білки, побудовані з паралельних, порівняно сильно розтягнутих пептидних ланцюгів, що утворюють пальцеподібні структури. Такі білки важко розчинні й виконують в організмі роль структурних елементів. Білки, що представляють собою щільно згорнуті поліпептидні ланцюги й мають форму, близьку до сферичного, одержали назву глобулярних. Глобулярні білки виконують, як правило, динамічні функції.

Іноді фібрилярна й глобулярна форми зустрічаються у вигляді комплексу, наприклад, у м'язовій тканині комплекс актину з міозином.

У плазмі крові міститься фібрилярний білок фібриноген, а також глобулярні білки - альбуміни й глобуліни.

Встановлено, що білкові речовини м'язів, що виконують скорочувальну функцію, мають фібрилярну форму, а білкові речовини, що виконують живильну функцію - кулясту (глобулярну) форму.

2. Хімічний склад білків. Амінокислоти і їх класифікація.

Перші дослідження сполук білків були виконані італійським вченим Браконно. Знадобилося близько 80 років, щоб довести, що всі білки складаються з амінокислот. До 1900 р. вже було відомо 15 амінокислот, що входять до складу білкових речовин. Заслуга в розшифровці структурних одиниць білків належить німецькому дослідникові Фішеру, що, використовуючи соляну кислоту, піддав гідролізу численні білкові сполуки, що зустрічаються в природі. При гідролізі білків він виявив амінокислоти (АК), що розрізняються між собою по числу амінних і карбоксильних груп, за структурою відкритих і замкнутих ланцюжків.

Класифікація амінокислот

1. Структурна.

- циклічні:

- а) гетероциклічні
- б) ароматичні

- ациклічні:

- а) моноаміномонокарбонові – гліцин, аланін, лейцин, валін, ізолейцин та ін.
- б) діаміномонокарбонові – лізин, аргінін, орнітин
- в) моноамінодикарбонові – глютамінова та аспарагінова кислоти

2. Біологічна.

- замінні

- незамінні

На даний час у природі виявлено більше 300 різних АК. В організмі людини і тварин міститься близько 60 АК і їх похідних, але не всі вони входять до складу білків. Серед них виділено групу з 20 найважливіших АК, які постійно зустрічаються в білкових сполуках. АК, що входять до складу білків, одержали назву **протеїногенних**. Так звані **непротеїногенні** білки знаходяться в клітині або у вільному стані, або входять до складу інших небілкових сполук.

Назви АК будуються за замінною номенклатурою органічних кислот, але, як правило, використовуються їх тривіальні назви, які часто пов'язані із джерелом виділення АК або будь-якими іншими ознаками. Наприклад: гліцин має солодкий смак (від грец. *glycos* – солодкий), серин входить до складу білка фіброїну шовку (від лат. *serius* – шовковистий), тирозин виділений із сиру (грец. *tyros* – сир), аспарагінова кислота – із паростків спаржі (лат. *asparagus* – спаржа) тощо.

Амінокислоти

<i>Замінні</i>	<i>Незамінні</i>
Гліцин	Треонін
Аланін	Метіонін
Серин	Валін
Цистеїн	Лейцин
Аспарагінова кислота	Ізолейцин
Глутамінова кислота	Лізин
<u>Тирозин</u>	Фенілаланін
Пролін	Триптофан
Аспарагін	Аргінін
Глутамін	Гістидин

У цей час у природних білках тваринного походження знайдено 20 різних амінокислот, які розділяються за кількістю амінних і карбоксильних груп на:

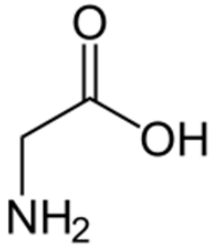
- 1) моноаміномонокарбонові;
- 2) діаміномонокарбонові;
- 3) моноамінодикарбонові;
- 4) діамінодикарбонові.

За структурою амінокислоти підрозділяються на ациклічні й циклічні (гомо- і гетероциклічні). Ациклічні амінокислоти у свою чергу підрозділяються на оксикислоти й кислоти, що містять сірку.

1. Моноаміномонокарбонові

У цю групу входять амінокислоти, що містять одну амінну й одну карбоксильну групи: гліцин, аланін, валін, лейцин і ізолейцин, а також оксигрупу (серин, треонін) і сірку (цистеїн, цистин, гомоцистеїн і метіонін).

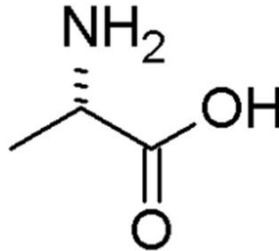
Гліцин



Гліцин

(α-амінооцтова кислота)

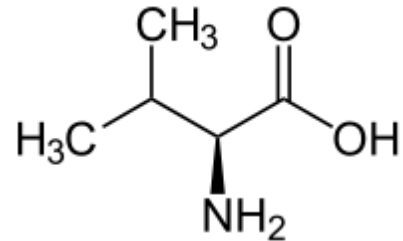
Аланін



Аланін

(α-амінопропіонова кислота)

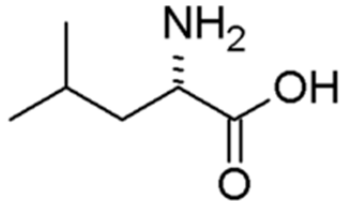
Валін



Валін

(α-аміноізовалеріанова кислота)

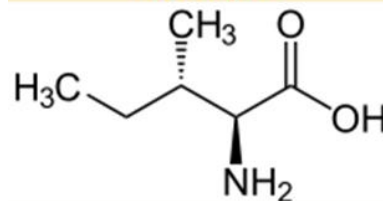
Лейцин



Лейцин

(α-аміноізокапронова кислота)

Ізолейцин

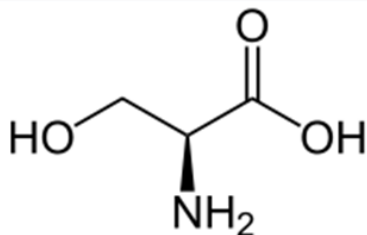


Ізолейцин

(α-аміно-β-метил-β-етилпропіонова кислота)

Оксикислоти

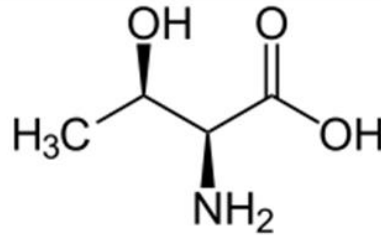
Серин



Серин

(α-аміно-β-оксипропіонова кислота)

Треонін

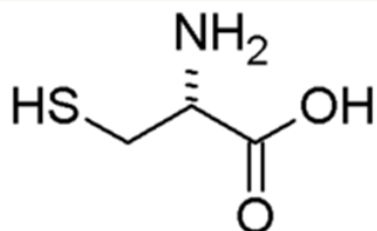


Треонін

(α-аміно-β-оксимасляна кислота)

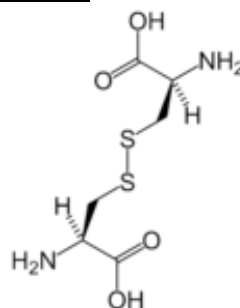
Сірковмісні амінокислоти

L-Цистеїн



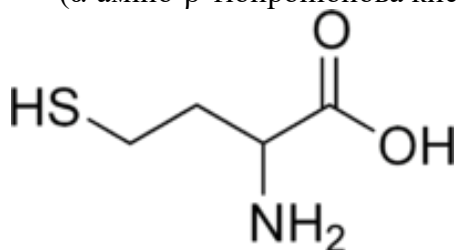
Цистеїн

(α -аміно- β -тіопропіонова кислота)



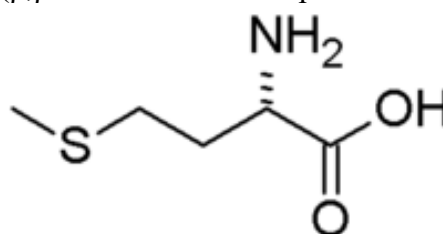
Цистін

(β , β -дитіоди- α -амінопропіонова кислота)



Гомоцистеїн

(α -аміно- γ -тіомасляна кислота)

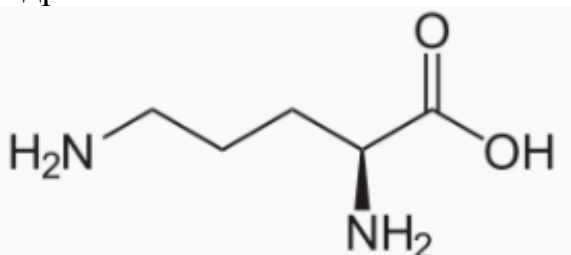


Метіонін

(α -аміно- γ -метилтіомасляна кислота)

2. Діаміномонокарбонові кислоти

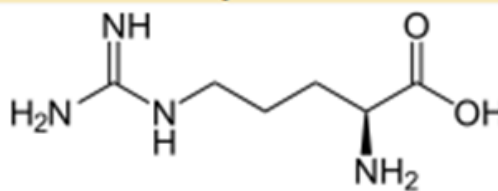
У цю групу входять чотири амінокислоти: орнітин, аргінін, лізин і гідроксилізин.



Орнітин

(α -аміно- δ -діаміновалеріанова кислота)

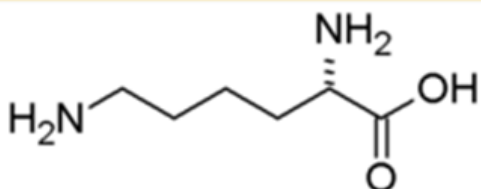
Аргінін



Аргінін

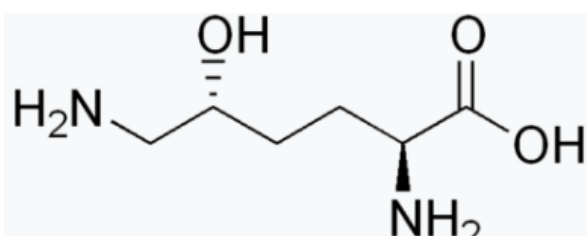
(α -аміно- δ -діаміногуанідинова кислота)

Лізин



Лізин

(α - ϵ -діамінокапронова кислота)



Гідроксилізин

(α - ϵ -діаміно- β -гідроксикапронова кислота)

При розчиненні зазначених амінокислот у воді проявляються основні, тобто лужні, властивості, тому що в них дві амінні групи й одна карбоксильна.

3. Моноамінодикарбонові кислоти

У цю групу входять амінокислоти, що мають одну амінну й дві карбоксильні групи (*аспарагінова й глютамінова кислоти*).



У білкових речовинах мозку ці амінокислоти зустрічаються в більших кількостях і відіграють важливу роль як сполуки, що зв'язують аміак, утворюючи амідні цих кислот (*аспарагін і глютамін*).

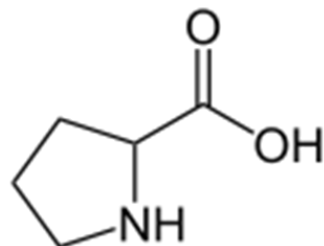
4. Гомоцикличесні (ароматичні) амінокислоти

До числа гомоцикличесних амінокислот належать дві кислоти: *тирозин* (параоксибенілаланін) і *фенілаланін*.

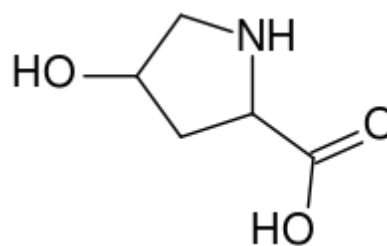


5. Гетероцикличесні (ароматичні) амінокислоти

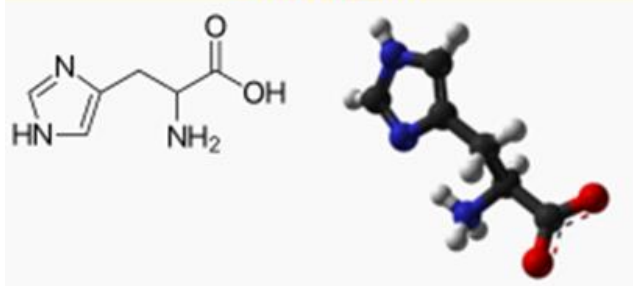
У ряді гетероцикличесних амінокислот зустрічаються наступні: пролін, оксипролін, гістидин, триптофан. По своїй хімічній природі ці амінокислоти є похідними гетероцикличесних сполук: пролін і оксипролін містять у своєму складі гетероцикл - пірролідин, гістидин - імідазол, а триптофан - індол. Пролін і оксипролін зустрічаються у великих кількостях у білках сполучної тканини - колагенах.

**Пролін**

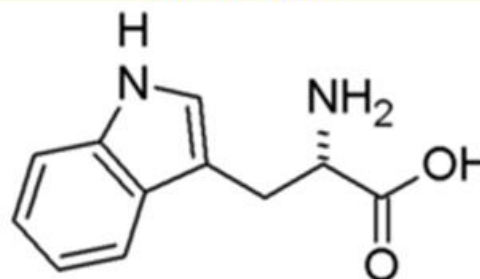
(пірролідин-α-карбонова кислота)

**Гідроксипролін**

(γ-гідроксипірролідинкарбонова кислота)

L-Гістидин**Гістидин**

(α-аміно-β-імідазолпропіонова кислота)

Триптофан**Триптофан**

(α-аміно-β-індоліпропіонова кислота)

Ряд розглянутих амінокислот вважаються незамінними, тому що вони не можуть синтезуватися в організмі людини й повинні бути обов'язково доставлені з їжею. До числа незамінних амінокислот відносяться триптофан, фенілаланін, треонін, метіонін, лізин, валін, лейцин, ізолейцин.

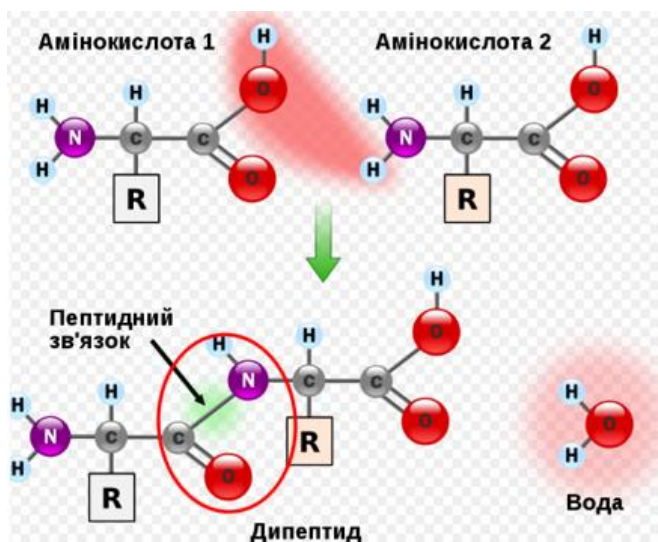
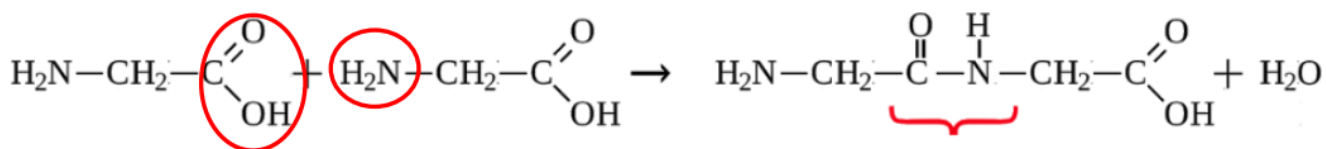
3. Структурна організація білків.

Амінокислоти з'єднуються в білках по типу пептидів, тобто за рахунок своїх амінних і карбоксильних груп.

Білки складаються з поліпептидних ланцюгів, які з'єднуються між собою за рахунок додаткових зв'язків: гідроксильних і карбоксильних груп оксиамінокислот, тирозину, серіну й, нарешті, за рахунок водневих і дисульфідних зв'язків.

Як видно зі схеми, що наведена нижче, пептидний план будови білків забезпечує можливість сполуки нескінченно великої кількості залишків амінокислот за рахунок вільних амінних і карбоксильних груп кінцевих амінокислот. З відомих нам 20 амінокислот може вийти при їхній комбінації величезна кількість різних білкових речовин. Окремі білки, що зустрічаються в організмах, відрізняються один від іншого не тільки складом амінокислот, але й порядком їхнього сполучення.

Схематично це зображується так:



Розрізняють первинну, вторинну, третинну й четвертинну структуру білкових молекул.

1. Первинна структура білкових молекул

Під первинною структурою білкових молекул розуміють послідовність амінокислот у поліпептидному ланцюзі. Метод розшифровки первинної структури належить лауреатові Нобелівської премії Фредеріку Сенгеру, який запропонував спеціальний реактив - динітрофторбензол, що взаємодіє з аміногрупою кінцевої амінокислоти досліджуваного білка. Процес ступінчастого відділення амінокислот може повторюватися доти, поки білкова молекула повністю не розпадається на амінокислоти.

Для визначення С-кінцевих амінокислот запропоновано метод з використанням гідразину. При взаємодії з білком відбувається гідрогеноліз, і всі амінокислоти, карбоксильні групи яких брали участь в утворенні пептидних зв'язків, будуть з'єднані з гідразином.

Визначення амінокислотної сполуки можна проводити й шляхом гідролізу за участю специфічних ферментів. Так, наприклад, фермент ***пепсин*** розриває в молекулі білка пептидні зв'язки, утворені ароматичними амінокислотами (фенілаланіном і тирозином), у той час як трипсин розриває пептидні зв'язку між діамінокислотами (аргініном і лізином). Такий процес гідролізу називають вибіркоким (селективним).

У цілому ряду білків з'ясована первинна структура. Найменша кількість амінокислотних залишків знайдено в молекулі глюкогону (29), а найбільша - у

молекулі гемоглобіну (574). Є білки, у яких число амінокислотних залишків більше 8000.

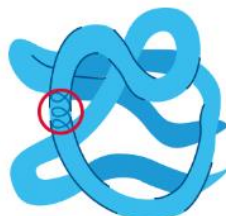
I структура



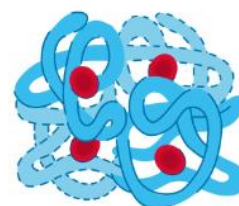
II структура



III структура



IV структура



2. Вторинна структура білкових молекул.

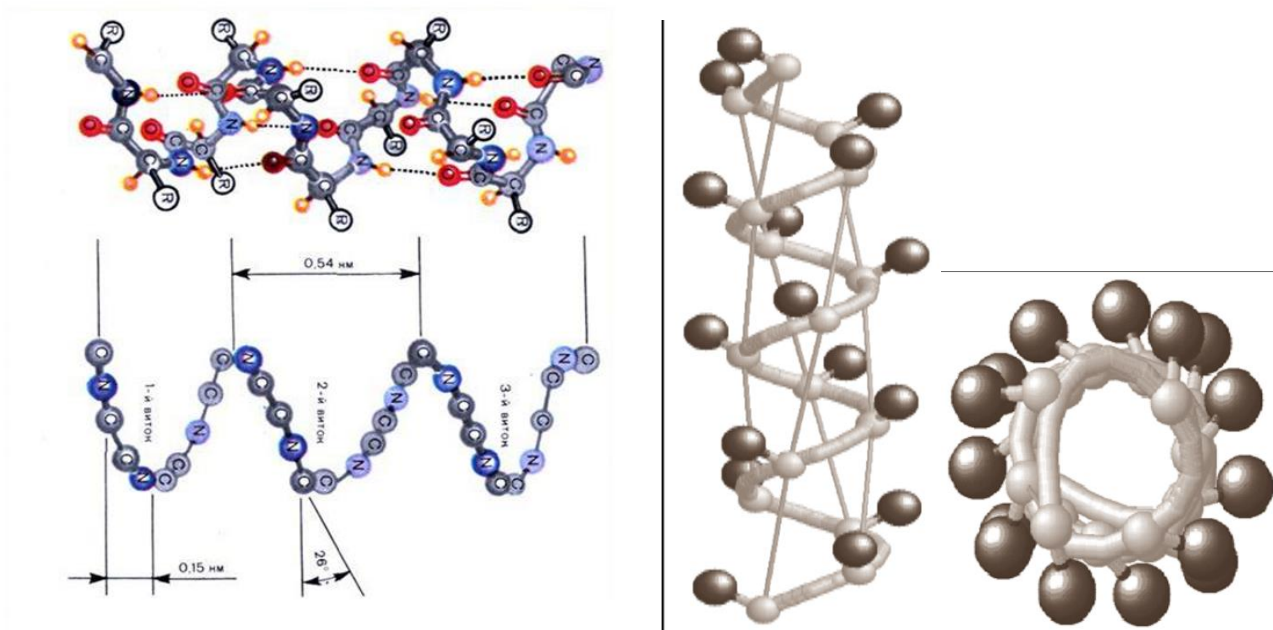
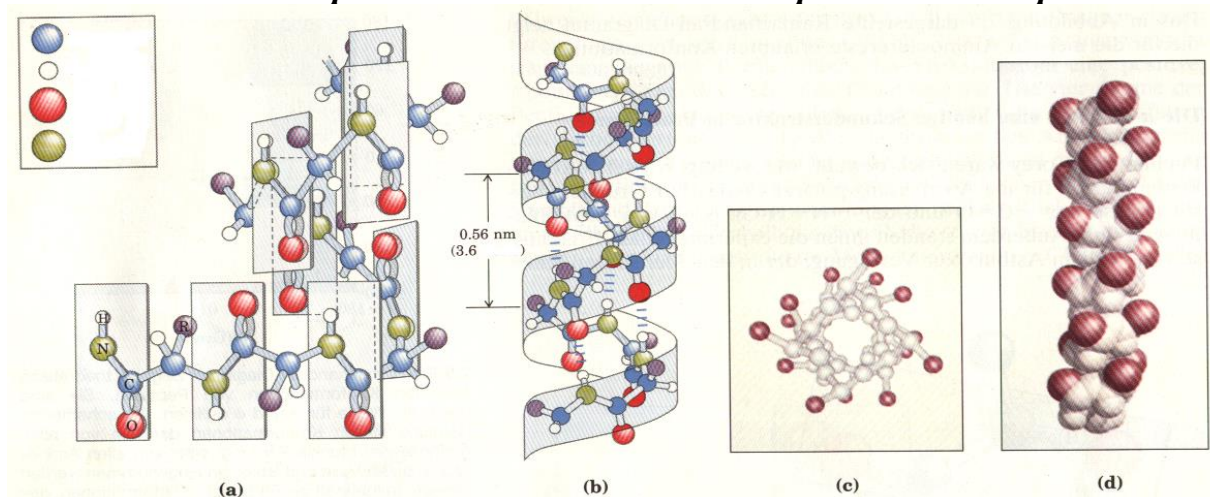
- α -спіраль
- β -структура (складчастий шар або лист)

Отже, вторинна структура – це форма і ступінь спіралізації поліпептидного ланцюга в просторі (спіральна конформація).

Американські вчені Лайнус Полінг та Р. Корі (1950 р.) встановили, що для пептидів найвигіднішою конформацією є певна спіральозакручена структура, яку вони назвали α -спіраллю. Її можна уявити як закручену ліворуч або праворуч гвинтову драбину, в якій сходинками служать радикали АК. У природних білках виявлено тільки **праві α -спіралі**. Зовні α -спіраль має вигляд правильної спіралі, яка йде поверхнею уявного циліндра.

Під час формування α -спіралі водневі зв'язки утворюються в поліпептидному ланцюзі між кожною карбонільною групою і четвертою за ходом ланцюга –NH-групою.

Під вторинною структурою білків розуміють спіралеподібну форму поліпептидного ланцюга, причому на кожний виток спіралі доводиться 3,6 амінокислотних залишків, закручування спіралі відбувається за годинниковою стрілкою. Водневі містки усередині спіралі надають твердість структурі. У поліпептидному ланцюзі білкової молекули можуть бути як спіралізовані, так і не спіралізовані, тобто лінійні ділянки. Строго лінійна структура властива невеликій кількості білків. Глобулярні й фібрилярні білки мають α -спіралеподібну структуру.

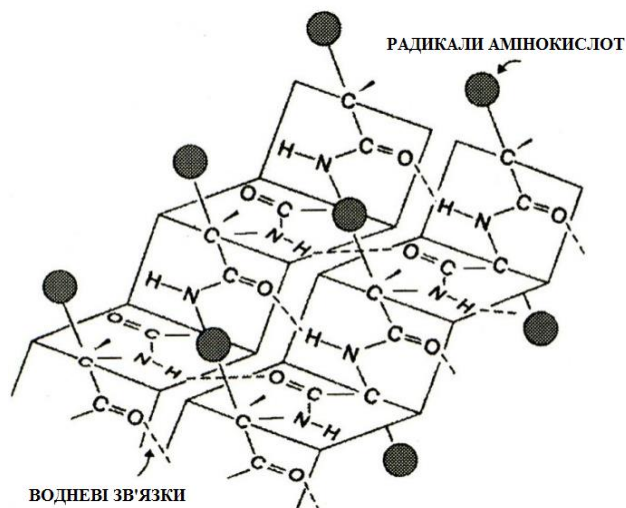
α -спіраль*Чотири моделі схематичного зображення α -спіралі*

Цей різновид вторинної структури має слабо вигнуту конфігурацію поліпептидного ланцюга. Вона формується за допомогою міжпептидних водневих зв'язків у межах окремих ділянок одного ланцюга, де водневі зв'язки будуть всередині поліпептидного ланцюга.

У більшості випадків складчасті шари містять не більше 6-ти поліпептидних ланцюгів. Залежно від взаємної орієнтації ланцюгів розрізняють паралельні і антипаралельні β -структури.

У білках можливі переходи α -структур у β -структури і навпаки внаслідок перебудови водневих зв'язків. Такий перехід виявлено в кератині – білку волосся.

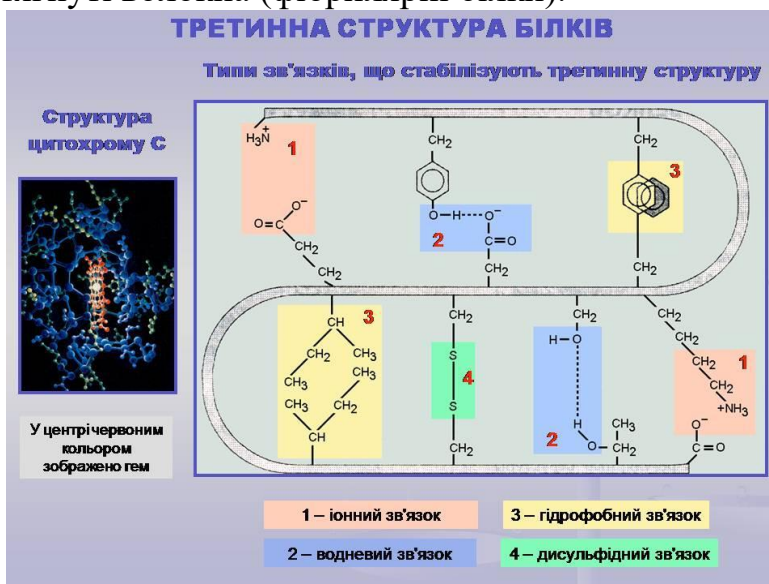
β -структура



3. Третинна структура білкових молекул.

Під третинною структурою білків розуміють розташування в просторі ділянок спіралі однієї або декількох поліпептидних ланцюгів, які зветься субодинацями або - це спосіб укладання поліпептидного ланцюга з елементами вторинної структури у просторі, який досягається за рахунок взаємодії між радикалами залишків АК.

Визначає форму білкової молекули, утворюючи або глобулу (глобулярні білки) або достатньо витягнуті волокна (фібрилярні білки).



Варто мати на увазі, що більшість білків у нативному стані мають досить компактну структуру. Тривимірна структура білка високо специфічна. Поліпептидний ланцюг не просто скручується з утворенням структури, близької до

сферичної, а цей процес здійснюється через ряд чітко фіксованих етапів, у результаті чого виникає унікальна конфігурація білкової молекули. Біологічна активність білків, зокрема ферментів, обумовлена збереженням у їхній молекулі третинної структури.

Завжди варто мати на увазі, що третинна структура білка в остаточному підсумку визначається його первинною структурою, тобто послідовністю амінокислот у поліпептидному ланцюзі.

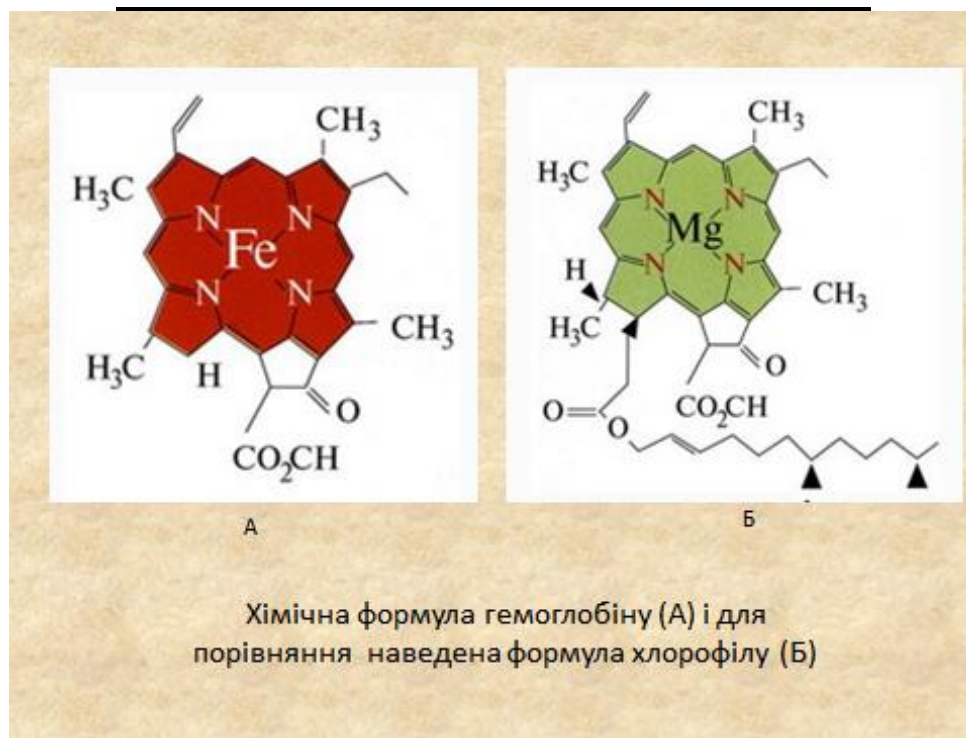
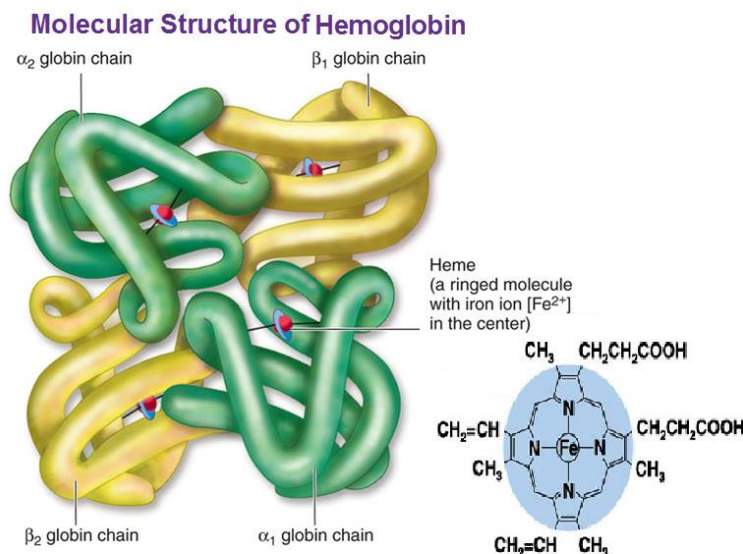
4. Четвертинна структура білкових молекул.

Під четвертинною структурою білкової молекули розуміють просторове розташування декількох субодиниць. Кожна з них має свою власну первинну, вторинну й третинну структури. Молекули багатьох білків складаються з декількох субодиниць, до таких білків відноситься, зокрема, гемоглобін А, що складається з 4 субодиниць. Більшість ферментів має четвертинну структуру. Окремі субодиниці називають мономерами, а їхні сполуки - мультамерами.



Класичним прикладом білків з четвертинною структурою є гемоглобін, молекула якого побудована з 4 субодиниць: двох α - і двох β -поліпептидних ланцюгів.

Гемоглобін має 4 групи і являє собою унікальний зразок взаємовідношень між молекулярною структурою і функцією білка, яка полягає в перенесенні кисню з легенів у тканини.



Денатурація білків.

Під денатурацією білків розуміють процес, у результаті якого просторове розташування поліпептидних ланцюгів усередині молекули стає іншим, на відміну від розташування їх у нативному білку, що призводить до порушення

впорядкованої структури білкової молекули, зниженню розчинності, хімічних властивостей і біологічної активності.

Денатурацію можна викликати різними факторами - теплом, ультрафіолетовим випромінюванням, детергентами, кислотами, лугами й ін.

4. Класифікація білкових речовин.

Білкові сполуки, що зустрічаються в природі, розподіляються на дві великі групи: прості - протеїни й складні - протеїди. У простих білках містяться тільки амінокислоти.

<u>Прості (протеїни)</u>	<u>Складні (протеїди)</u>
1. Альбуміни	1. Нуклеопроїтеїди
2. Глобуліни	2. Хромопротеїди
3. Протаміни	3. Глюкопротеїди
4. Гістони	4. Фосфопротеїди
5. Склеропроїтеїни	5. Ліпопротеїди

ПРОСТІ БІЛКИ (протеїни)

Альбуміни й глобуліни широко поширені в природі. Вони знаходяться в плазмі крові, сироватці молока й у тканинах.

У сироватці крові між альбумінами й глобулінами є певне співвідношення, відоме як альбуміно-глобуліновий коефіцієнт (А/Г). Альбуміни відрізняються від глобулінів незначним вмістом глікоколу й великою кількістю амінокислот, що містять сірку. Альбуміни легко розчиняються у воді, у той час як глобуліни у воді практично нерозчинні, але легко розчиняються в сольових розчинах. Альбуміни перебувають у більш дрібному дисперсному стані, чим глобуліни, тому вони важче випадають в осад. Їхня молекулярна маса менше, ніж у глобулінів.

Протаміни

Молекулярна маса цих білків коливається від 2000 до 10000. Вміст азоту становить 30 %, у той час як в інших простих білках азоту всього 16-17 %. Основне ядро в цих білках становить пептидний ланцюг з аргініну й лізину - близько 80 %.

Гістони широко поширені в природі в складі складних білків, головним чином у ядерних білках. Молекулярна маса їх значно менше в порівнянні з альбумінами й глобулінами близько 14300.

Встановлено, що гістони - це білки, які на 30 % складаються з гексонових основ, тобто амінокислот, що містять 6 вуглецевих атомів (аргініну, лізину й гістидину). Представником гістонів є білок *глобін*, що входить до складу білка крові гемоглобіну.

Склеропротеїни (протеїноїди)

Ці білки важко розчинні у воді й сольових розчинах і майже не піддаються впливу ферментів. Такі білки мають особливу еластичність і міцність. Сюди відносяться *кератини* - білки шкіри й *колагени* - білки сполучної тканини. У цих білках міститься найбільша кількість моноамінокарбонів амінокислот - гліцину, аланіну, проліну, оксипроліну. У складі колагену немає цистину й триптофану, а тому він не є повноцінним білком.

СКЛАДНІ БІЛКИ (ПРОТЕЇДИ)

До групи складних білків відносять сполуки, у яких, окрім білкової частини, містяться небілкові компоненти різної хімічної природи.

До складних білків відносяться:

1) нуклеопротеїди, що є складовою частиною ядерної субстанції клітин і складаються з білка й нуклеїнових кислот.

Нуклеопротеїди відносяться до числа найбільш важливих у біологічному відношенні білкових речовин: з ними зв'язані процеси розподілу клітин, зберігання й передачі спадкоємних властивостей. З нуклеопротеїдів побудовані віруси, які можна фільтрувати, що викликають різні захворювання (кір, сап, поліомієліт і ін.). В організмах тварин і рослин зустрічаються два типи нуклеопротеїдів:

2) хромопротеїди. Хромопротеїдами називаються складні білкові речовини, що містять, крім білка, небілковий компонент - барвник - гем.

До хромопротеїдів відносяться *гемоглобін*, *міоглобін* і *гемінові ферменти*: каталаза, пероксидаза й цитохромоксидаза, складні білки: *флавопротеїди*, до складу яких входять барвники — рибофлавіни.

Більшість цих складних білків містять у своєму складі той або інший метал. Гемоглобін крові й гемінові ферменти містять залізо, аскорбіноксидаза, церулоплазмін - мідь, ксантиноксидаза - молібден. Металопротеїди й флавопротеїди відіграють важливу роль у процесах біологічного окислювання в тканинах;

3) лінопротеїди поряд з білком містять ліпідні речовини (фосфатиди, стерини, каротини та ін.);

4) глікопротеїди – являють собою складні білки, у складі яких, крім білка, є простетична група, що містить різні похідні вуглеводів: D-глюкозамін, D-галактозамін, D-глюкуронова кислота. Представниками цих білків є муцин слини, шлунку, слизової оболонки кишечника, склоподібного тіла ока, гепарини, групові речовини крові й ін.;

5) фосфопротеїди – білки, у складі яких поряд з амінокислотами є фосфорна кислота, пов'язана з гідроксильною групою амінокислот серину й треоніну. До цієї

групи білків відносяться казеїноген молока й вітелін яєчного жовтку. Ці білки служать головним живильним матеріалом для розвитку ембріонів.

Лабораторна робота № 1

ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ БІЛКІВ. КЛАСИФІКАЦІЯ БІЛКІВ

Мета: перевірити знання про фізико-хімічні властивості білків (реакції осадження білків), класифікацію і характеристики окремих груп простих і складних білків.

Завдання: освоїти метод розділення білків сироватки на фракції з наступним визначенням співвідношення між окремими білковими фракціями методом нефелометрії.

Питання для самопідготовки:

1. Колоїдні властивості розчинів білка: дифузія, онкотичний тиск.
2. Електрофорез, коагуляція (оборотна і необоротна) і седиментація.
3. Осадження білків солями лужних і важких металів, мінеральними і органічними кислотами, алкалоїдами і алкалоїдними реактивами. Дія на білки лугів.
4. Прості білки: визначення, класифікація – особливості будови, фізико-хімічні властивості, окремі представники.
5. Складні білки: визначення, класифікація (нуклеопротейди, хромопротейди, глікопротейни, фосфопротейни, ліпопротейди, металопротейди).
6. Поняття про простетичні групи. Будова гема та його похідні.

1. Зворотне і незворотне осадження білків

Принцип методу. Розчини білку (золі) дуже нестійкі. При дії на них електролітів (солі, кислоти, луги), а також при підвищенні температури відбувається коагуляція з утворенням осаду (гелю). Коагуляція буває зворотною і незворотною. У першому випадку при додаванні води до осаду білку він розчиняється, в іншому – ні.

Хід роботи.

1. В 3 пробірки налити по 2-3 мл розчину білку.
2. Додати: у 1-у пробірку 3-5 крапель нітратної кислоти.
3. У 2-у – рівний об'єм розчину сульфату амонію.
4. У 3-ю – 3-5 крапель розчину сульфату міді.
5. Записати зміни, що спостерігаємо.
6. У всі пробірки налити по 2-3 мл води.

Спостереження і висновки записати в таблицю:



№	Осаджуючі фактори	Спостереження	Висновки
1	HNO_3		
2	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$		
3	CuSO_4		

2. Розділення суміші білків методом висолювання

Принцип методу. Білки, що мають різну молекулярну масу, не однаково міцно утримують при собі гідратаційну воду. Якщо до розчину, що містить суміш білків з різною молекулярною масою, додати сульфат амонію, створивши 50 % його насичення, із суміші осаджуються (за рахунок дегідратації) високомолекулярні білки (глобуліни), при повному насиченні сульфатом амонію осаджуються низькомолекулярні білки – альбуміни.

Хід роботи.

1. У пробірку наливають 2 мл розчину яєчного білку.
2. Додають 2 мл насиченого розчину сульфату амонію. В осад випадають глобуліни.
3. Вміст пробірок відфільтровують.
4. До прозорого фільтрату додають кристалічний сульфат амонію до насичення ним розчину. В осад випадають альбуміни.

Спостереження і висновки:

Денатурація білків

Під дією зовнішніх факторів може відбуватися порушення структурної організації білкової молекули при збереженні первинної структури. При цьому білок втрачає свої нативні фізико-хімічні та біологічні властивості. Цей процес

називається **денатурацією**. В основі денатурації лежить руйнування зв'язків, які стабілізують вищі структури білків (четвертинна, третинна, вторинна). Більшість білків денатурують при нагріванні їх розчинів вище 50-60 °С, хоч відомі термофільні бактерії, білки яких витримують температуру до 90 °С. До хімічних чинників, що спричиняють денатурацію, належать кислоти, луги, органічні розчинники (спирт, ацетон), детергенти, алкалоїди, солі важких металів (олова, ртуті, міді, кадмію та ін.). Найкраще білки денатурують в дуже кислих (рН≈1,0) середовищах.

Механізм денатурації білка при підвищеній температурі пов'язаний з перебудовою структури білкової молекули, в результаті чого зменшується її розчинність. Присутність солей і рН середовища відіграють важливу роль у випаданні в осад денатурованого при нагріванні білка. Найбільш повне і швидке осадження відбувається в ізоелектричній точці білка, тобто при такому значенні рН середовища, при якому колоїдні частинки білка є найменш стійкими і сумарний заряд молекули дорівнює нулю. Білки, які проявляють кислотні властивості (тобто мають високий вміст глютамінової та аспарагінової кислот), осаджуються у слабокислому середовищі, а білки, які проявляють лужні властивості (мають високий вміст аргініну, лізину та гістидину), – у слаболужному. У сильнокислих і сильнолужних розчинах денатурований при нагріванні білок не випадає в осад, оскільки білкові молекули перезаряджаються (або відбувається посилення наявного заряду) і несуть в першому випадку позитивний, у другому – негативний заряд.

3.1. Теплова денатурація білків

Хід роботи.

1. В 1-у пробірку наливають 2 мл яєчного білка, в 2-у – 2 мл молока.
2. Обидві пробірки нагрівають до кипіння.

Спостереження і висновки:



Денатурація білків яєця і молока в ізоелектричному стані

ІЕТ яєчних білків дорівнює 4,6; ІЕТ казеїногена молока – 4,7; їх ізоелектричні точки знаходяться в слабкислій зоні рН.

Хід роботи.

1. В 1-у пробірку наливають 2 мл яєчного білка, в 2-у – 2 мл молока.
2. В обидві пробірки додають по 1 краплі 1%-го розчину оцтової кислоти і нагрівають.
3. Спостерігають появу осаду білка і порівнюють швидкість осадження білків у цьому досліді зі швидкістю цього ж процесу в попередньому.

Спостереження і висновки:

2.2. Денатурація білків, що виникає при дії солей важких металів**Хід роботи.**

1. У дві пробірки наливають по 1 мл розчину яєчного білка.
2. В 1-у пробірку додають 1-2 краплі розчину ацетату свинцю.
3. В 2-у – 1-2 краплі розчину сульфату міді.
4. Спостерігають утворення осаду.

Спостереження і висновки:

**3.4. Денатурація білків, що виникає при дії мінеральних кислот****Хід роботи.**

1. У дві пробірки наливають по 2 мл розчину яєчного білка.
2. В 1-у пробірку додають 1 краплю сульфатної кислоти, в 2-у – одну краплю нітратної кислоти.
3. Спостерігають утворення осаду.

Спостереження і висновки:

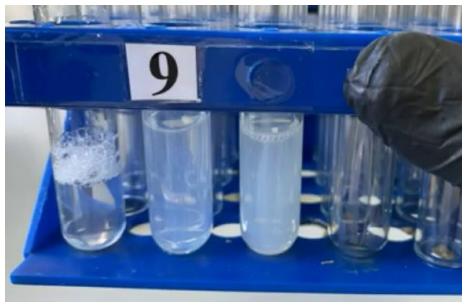


3.5. Денатурація білків, що виникає при дії органічних кислот

Хід роботи.

1. У дві пробірки наливають по 2 мл розчину яєчного білка.
2. В 1-у пробірку додають 1-2 краплі розчину трихлороцтової кислоти.
3. В 2-у – 1-2 краплі розчину сульфосаліцилової кислоти.
4. Спостерігають утворення осаду.

Спостереження і висновки:



3.6. Денатурація білків, що виникає при дії органічних сполук

Принцип методу. Танін, фенол та формальдегід, утворюючи з білками нерозчинні у воді комплекси, денатурують білки. На цій здатності таніну, було засновано використання його для дублення шкір тварин, тобто для виробництва шкіри. Фенол застосовується як дезінфікуючий засіб.

Хід роботи.

1. В три пробірки наливають по 2 мл розчину яєчного білка.
2. У 1-у пробірку додають рівний об'єм насиченого розчину фенолу.
3. В 2-у пробірку – рівний об'єм формаліну.
4. У 3-ю – 3-4 краплі розчину таніну (підкислюють 1 %-м розчином оцтової кислоти).
5. Пробірки з фенолом і формаліном залишають на 15-20 хвилин.
6. Спостерігають денатурацію білка.

Спостереження і висновки:



Лабораторна робота № 2

ЯКІСНІ РЕАКЦІЇ НА БІЛКИ, ПЕПТИДИ, АМІНОКИСЛОТИ

Амінокислоти – це гетерофункціональні сполуки, що містять у своєму складі як аміно-, так і карбоксильну групи. Амінокислоти розрізняють за кількістю цих груп (моноаміномонокарбонові, моноамінодикарбонові, діаміномонокарбонові, діамінодикарбонові) та наявністю додаткових функціональних груп (наприклад, гідроксильної, сульфгідрильної) або гетероатомів (наприклад сірки), за взаємним розміщенням аміно- і карбоксильної групи (наприклад α -, β -, γ -амінокислоти).

Амінокислоти різняться також характером радикалів (ациклічні та циклічні, ароматичні та циклічні неароматичні, гомоциклічні та гетероциклічні) та їх полярністю – полярні (гідрофільні) та неполярні (гідрофобні). Усі амінокислоти, за винятком гліцину, який не має радикала, є оптично активними сполуками, тобто обертають площину поляризованого світла. Вони поділяються на амінокислоти L- та D-стереохімічних рядів, які відрізняються просторовим розміщенням замісників, напрямленням обертання площини поляризованого світла і біологічною активністю.

Особливо виділяють протеїногенні амінокислоти, тобто такі, з яких побудовані білки живих організмів. Протеїногенними є L- α -амінокислоти. Для організмів амінокислоти можуть бути замінними та незамінними, а також частково або умовно замінними. Для кожного виду живих організмів існує свій певний набір незамінних амінокислот. Наприклад, для людини незамінними є вісім амінокислот, дві амінокислоти умовно замінні – вони обов'язкові для дітей і необов'язкові для дорослих.

Амінокислотний склад – важлива характеристика білка. Від того, які саме амінокислоти та в якій послідовності входять до складу білкової молекули (від якісного і кількісного складу), залежить просторова структура білка та його функції.

Повноцінні харчові білки за амінокислотним складом відповідають амінокислотному складу білків організму.

Мета: перевірити теоретичні знання з розділу «Білки», ознайомити з методами якісного визначення білків і амінокислот.

Завдання: навчити проводити якісний аналіз розчинів і біологічних рідин для виявлення в них білків і окремих вільних амінокислот.

Питання для самопідготовки:

1. Дати визначення поняттю «Білки». Поширення їх у природі. Причини різноманітності білків.

2. Елементарний склад білків. Молекулярна маса білків і методи її визначення.

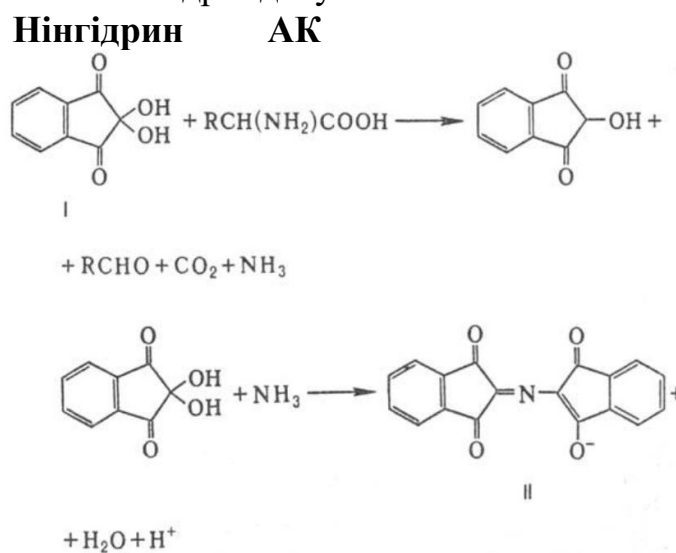
3. Амінокислотний склад білків. Методи його визначення. Будова окремих (замінних і незамінних) амінокислот. Утворення пептидного зв'язку.
5. Типи хімічних зв'язків у білковій молекулі: основні і додаткові.
6. Рівні структурної організації білків: первинна, вторинна, третинна та четвертинна структури.
7. Глобулярні та фібрилярні білки.
8. Кольорові реакції на білки (нінгідрінова, біуретова, ксантопротеїнова, на сульфурвмісні амінокислоти, аргінін, тирозин та ін.). Їх практичне значення.

1. Якісні реакції на білки та амінокислоти

1. Реакція з нінгідрином

Принцип методу. При нагріванні розчинів α -амінокислот або речовин, що містять вільні аміногрупи (білки, пептиди), з нінгідрином утворюються комплексні сполуки, що мають блакитне, фіолетове або червоне забарвлення.

Нінгідринова реакція характерна для аміногруп, які розміщені в α -положенні відносно карбоксильної групи. Під час нагрівання з нінгідрином α -амінокислоти окиснюються і розпадаються на альдегід, вуглекислий газ та аміак, нінгідрин відновлюється до дикетооксигідриндену.



Пурпур Руемана

Виділений аміак реагує з іншою молекулою нінгідрину та з дикетооксигідринденом з утворенням сполуки, яка забарвлює розчин в інтенсивний фіолетово-синій колір.

Хід роботи.

1. Беруть 3 пробірки.
2. В 1-у вливають 1 мл дистильованої води (контроль).
3. У 2-у – 1 мл розчину амінокислоти (дослід 1).

4. У 3-ю – 1 мл розчину білка (дослід 2).
5. У всі пробірки доливають по 2-3 краплі розчину нінгідрину.
6. Вміст пробірок перемішати і кип'ятити на спиртівці 1-2 хвилини.

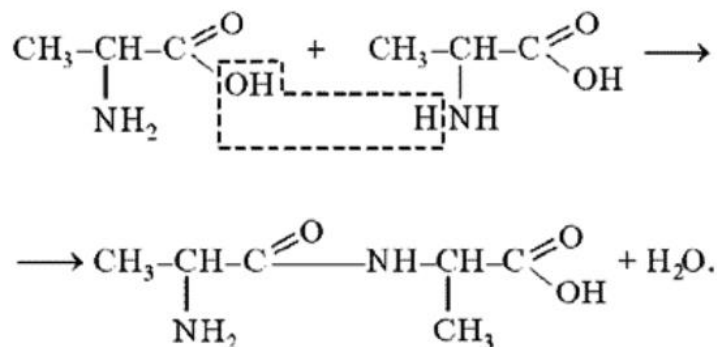


Отримані результати оформити у вигляді таблиці:

Пробірки	Спостереження	Висновки
Контроль		
Дослід 1		
Дослід 2		

2. Біуретова реакція

Принцип методу. В лужному розчині при додаванні сульфату міді речовини, що містять не менше двох пептидних зв'язків (білки, поліпептиди, біурет), утворюють комплексні солі, забарвлені від рожевого до фіолетового і навіть синього кольору.



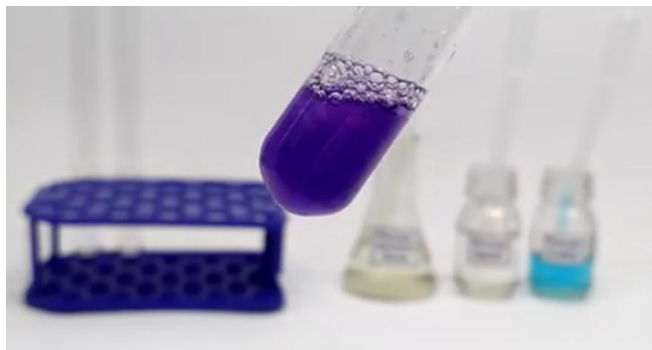
Хід роботи.

1. Для отримання біурету в суху пробірку насипають 0,5-1,0 г сечовини і нагрівають до виділення (по запаху) аміаку.
2. Пробірку охолоджують і одержаний біурет розчиняють у 2-3 мл води (1-а пробірка).
3. В цей же час у 2-у пробірку наливають 2-3 мл розчину білка.
4. У 3-ю – таку ж кількість розчину амінокислоти.

5. Потім в усі пробірки додають по 1-2 мл 30 % розчину гідроксиду натрію і по 1-2 краплі розчину сульфату міді.

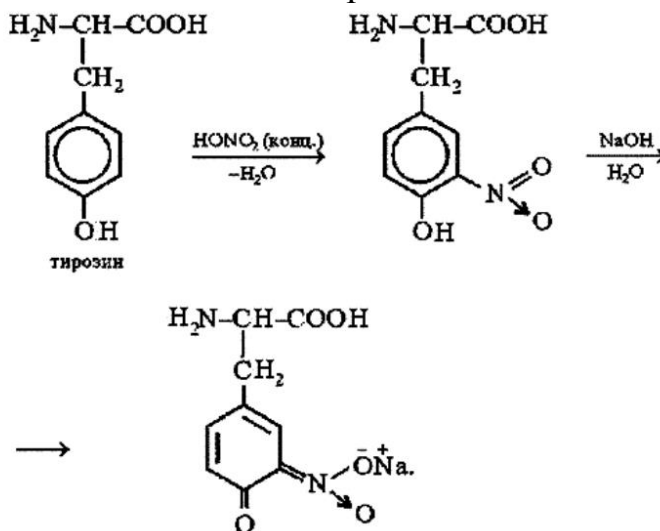
6. Вміст пробірок добре перемішують і порівнюють забарвлення.

Спостереження і висновки:



3. Ксантопротеїнова реакція

Принцип методу. При нагріванні з концентрованою нітратною кислотою розчини фенолів, ароматичних амінокислот і білків, що містять ароматичні амінокислоти, забарвлюються в жовтий колір. При нейтралізації кислоти забарвлення переходить в інтенсивно помаранчеве.



Ксантопротеїнова реакція є характерною для ароматичних амінокислот фенілаланіну, тирозину, триптофану, бензольне кільце яких нітрується за дії концентрованої азотної кислоти з утворенням нітросполук, що забарвлюють розчин у жовтий колір; забарвлення переходить у жовтогаряче при додаванні аміаку.

Ксантопротеїнова реакція дуже чутлива, тому за її допомогою легко виявляють не лише ароматичні амінокислоти, але й білки, до складу яких вони входять.

Хід роботи.

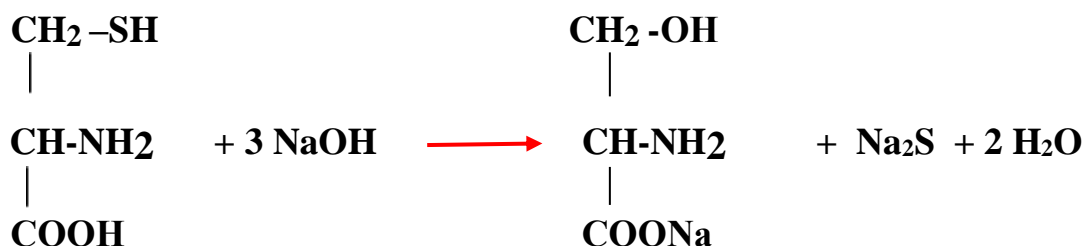
1. Беруть 3 пробірки.
2. В 1-у з них додають 1-2 мл білка, у 2-у – стільки ж фенолу, 3-ю – води.
3. Всі пробірки після додавання по 8-10 крапель нітратної кислоти підігрівають (обережно) до появи забарвлення.
4. Після їх охолодження по краплях додають надлишок 20 % розчину гідроксиду натрію для нейтралізації нітратної кислоти.

Спостереження і висновки:



4. Реакція Фоля на сульфуремісні амінокислоти (вільні або у складі пептидів та білків)

Матеріали та реактиви: водний 0,01 %-й розчин цистеїну; реактив Фоля (до 10 %-го розчину ацетату свинцю додають 10 %-й розчин гідроксиду натрію до розчинення утвореного осаду); концентрований розчин гідроксиду натрію; розчини білків 1, 2, 3, запропоновані викладачем.



Сульфід натрію можна виявити за допомогою іонів важких металів, наприклад свинцю, які утворюють з іонами сірки нерозчинний сульфід свинцю чорного кольору. Розчинний ацетат свинцю під час взаємодії з гідроксидом натрію утворює плумбіт натрію, який у ході реакції із сульфідом натрію утворює чорний осад сульфиду свинцю:





Через 3–5 хв випадає чорний осад сульфїду свинцю.

Хід роботи.

У пробїрку вносять 1 мл розчину цистеїну, 2 мл концентрованого розчину гїдроксиду натрію та 1 мл реактиву Фоля. Суміш ретельно перемішують і кип'ятять на водяній бані 2 хв. Під час кип'ятіння в лужному середовищі пептидів або білків, що містять сірковмісні амінокислоти, від них легко відщеплюється сірка у вигляді сірководню, який у лужному середовищі утворює сульфїд натрію.

Спостереження і висновки:



5. Реакція Шульце-Распайля на триптофан

Принцип методу. Концентрована сульфатна кислота гідролізує сахарозу, і звільнена фруктоза перетворюється на оксиметилфурфурол, який з триптофаном утворює комплекс вишнево-червоного кольору.

Хід роботи.

1. У пробїрку наливають 1-2 мл розчину білка.
2. Додають 2-3 краплі розчину сахарози.
3. Обережно по стїнці додають 1 мл сульфатної кислоти.
4. Подібним чином проводять реакцію з водою.

Спостереження і висновки:

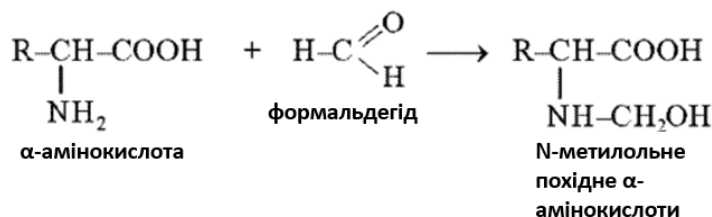


6. Реакція Буазене на триптофан

Матеріали та реактиви: водний 0,01 %-й розчин триптофану, водний 2,5 %-й розчин формальдегіду, концентрована сірчана кислота, 0,5 %-й розчин нітрату натрію, розчини білків 1, 2, 3, запропоновані викладачем.

Хід роботи.

До 2 мл розчину триптофану додають одну краплю розчину формальдегіду, суміш перемішують і вливають порціями по кілька крапель 6 мл концентрованої сірчаної кислоти, охолоджуючи пробірку у ванночці з льодом. Суміш знову перемішують і дають відстоятися 10 хв. Триптофан, конденсуючись із формальдегідом, утворює забарвлений продукт конденсації біс-2-триптофанілметан.



7. Реакція Адамкевича на триптофан

Матеріали та реактиви: водний 0,01 %-й розчин триптофану, льодяна оцтова кислота, яка завжди містить невелику кількість гліоксилової кислоти, концентрована сірчана кислота, розчини білків 1, 2, 3, запропоновані викладачем.

Хід роботи.

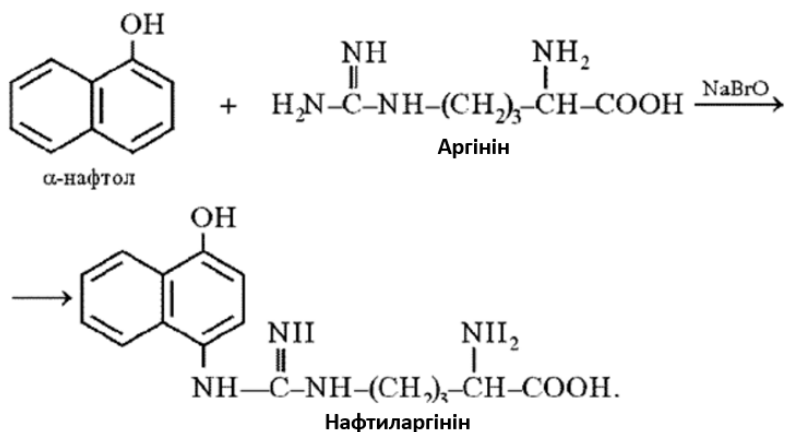
До 0,5 мл розчину триптофану додають 0,5 мл льодяної оцтової кислоти, що містить гліоксилову кислоту. Одержану суміш спочатку нагрівають, потім охолоджують і по стінці пробірки обережно по краплинах додають 1 мл концентрованої сірчаної кислоти, слідкуючи, щоб рідини не змішувалися. Через 10 хв на межі поділу двох шарів утворюється червоно-фіолетове кільце.

Триптофан у кислому середовищі вступає в реакцію з гліоксиловою кислотою (альдегідами), утворюючи забарвлені в червоно-фіолетовий колір продукти

конденсації:

8. Реакція Сакагучі на аргінін

Принцип методу. Аргінін (вільний або в складі білків) з гіпобромітом натрію в лужному середовищі в присутності α -нафтолу утворює сполуку червоного кольору.



Хід роботи.

1. У пробірку наливають 2 мл розчину білка.
2. Додають 3-5 крапель 10 % розчину гідроксиду натрію, 3-5 крапель α -нафтолу і 2-3 краплі гіпоброміту (можна злегка підігріти).

Спостереження і висновки:



9. Реакція Паулі на гістидин і тирозин

Матеріали та реактиви: водний 0,01 %-й розчин гістидину, 1 %-й розчин сульфанілової кислоти в 5 %-у розчині соляної кислоти, 0,5 %-й розчин нітриту натрію, 10 %-й розчин карбонату натрію, розчини білків 1, 2, 3, запропоновані викладачем.

Хід роботи.

До 1 мл розчину сульфанілової кислоти додають 2 мл розчину нітриту натрію, перемішують, негайно доливають 2 мл розчину гістидину, знову ретельно перемішують і додають 6 мл розчину карбонату натрію. Під час взаємодії сульфанілової кислоти з нітритом натрію (калію) в кислому середовищі відбувається реакція діазотування. Її продуктом є діазобензолсульфонова кислота, яка в реакції з гістидином (чи тирозином) утворює сполуку вишнево-червоного кольору.

Після перемішування розчин забарвлюється в червоно-вишневий колір.



Контрольні запитання та завдання

1. Наведіть протеїногенні амінокислоти, напишіть їх структурні формули, позначте радикали.
2. Позначте незамінні, умовно замінні, замінні для людини амінокислоти.
3. Класифікуйте амінокислоти всіма відомими вам способами.
4. Які амінокислоти дають позитивну нінгідринову реакцію? Напишіть загальну формулу таких амінокислот.
5. Ксантопротеїнова реакція – принцип методу. Які амінокислоти можна виявити цією реакцією? Напишіть формули цих амінокислот.
6. Які амінокислоти можна виявити реакцією Фоля? Поясніть принцип цієї реакції.
7. Наведіть визначення енольного та фенольного гідроксилів, а також приклади сполук, що містять їх. Якою реакцією виявляється фенольний гідроксил тирозину?
8. Поясніть принцип якісних реакцій на триптофан.
9. Яка протеїногенна амінокислота не має радикала, а яка – аміногрупи?

ТЕСТИ З РОЗДІЛУ «БІЛКИ»

1. Що являють собою білки:

А. Органічні високомолекулярні сполуки, які побудовані із залишків карбонових кислот;

Б. Органічні високомолекулярні сполуки, які побудовані із залишків амінокислот;

В. Органічні високомолекулярні сполуки, які побудовані із залишків оксикислот;

Г. Органічні високомолекулярні сполуки, які побудовані із залишків кетокислот.

2. Похідними якого класу сполук є амінокислоти:

А. Карбонових кислот;

Б. Амінів;

В. Вуглеводів;

Г. Спиртів.

3. Якісною реакцією на пептидний зв'язок є:

А. реакція Фоля

Б. ксантопротеїнова

В. діазореакція

Г. нінгідрінова

Д. біуретова

4. Денатурація – це руйнування таких структур білкової молекули:

А. четвертинної та первинної

Б. третинної та первинної

В. вторинної та первинної

Г. тільки первинної

Д. вторинної, третинної, четвертинної

5. До складу якої амінокислоти входить гідроксильна група:

А. Аланіну;

Б. Цистеїну;

В. Лізину;

Г. Серину.

6. Яка амінокислота має дисульфідний зв'язок:

А. Аланін;

Б. Серин;

В. Цистин;

Г. Цистеїн.

7. Моноамінодикарбоною амінокислотою є:

- А. метіонін
 - Б. лізин
 - В. аспартат
 - Г. серин
 - Д. гліцин
8. До складних білків відносяться всі названі, крім:
- А. нуклеопротеїди
 - Б. хромопротеїди
 - В. альбуміни
 - Г. металопротеїди
 - Д. ліпопротеїди
9. З названих амінокислот виберіть сірковмісну:
- А. гістидин
 - Б. серин
 - В. метіонін
 - Г. аргінін
 - Д. аспарагін
10. Які амінокислоти мають дві карбоксильні групи:
- А. Лізин, аланін;
 - Б. Ізолейцин, валін;
 - В. Аспарагінова кислота, глутамінова кислота;
 - Г. Фенілаланін, цистин.
11. Які амінокислоти мають дві аміногрупи:
- А. Лізин, аргінін;
 - Б. Лейцин, тирозин;
 - В. Гістидин, валін;
 - Г. Триптофан, гліцин.
12. Вкажіть за допомогою якого хімічного зв'язку сполучаються амінокислоти, при утворенні первинної структури білка:
- А. Водневого;
 - Б. Іонного;
 - В. Пептидного;
 - Г. Дисульфідного.
13. За участю яких функціональних груп амінокислот утворюється пептидний зв'язок:
- А. Груп $-\text{COOH}$ і $-\text{OH}$;
 - Б. Груп $-\text{OH}$ і $-\text{NH}_2$;
 - В. Груп $-\text{SH}$ і $-\text{COOH}$;
 - Г. Груп $-\text{COOH}$ і $-\text{NH}_2$.

14. Вкажіть на властивості, характерні для білків:

- А. Висока молекулярна маса, термолабільність;
- Б. Здатність розчинятися в органічних розчинниках, термостабільність;
- В. Низька молекулярна маса, погано розчиняються у воді;
- Г. Проходять через напівпроникні мембрани, не осаджуються солями важких металів.

15. Від чого залежить ступінь іонізації функціональних груп білкової молекули:

- А. Від кількості функціональних груп;
- Б. Від значення рН середовища;
- В. Від наявності карбоксильних груп;
- Г. Від наявності аміногруп.

16. Ізоелектрична точка білків – це значення рН, при якому:

- А. Молекула білка набуває позитивного заряду;
- Б. Білок є електронейтральним;
- В. Молекула білка набуває негативного заряду;
- Г. Розчинність білка найбільша.

17. Вкажіть назву процесу, який зумовлює зміну структури та втрату властивостей білкової молекули:

- А. Конденсація;
- Б. Ренатурація;
- В. Денатурація;
- Г. Седиментація.

18. Що таке прості білки:

- А. Білки, які побудовані із залишків амінокислот і вуглеводів;
- Б. Білки, які побудовані лише із залишків амінокислот;
- В. Білки, які побудовані із залишків амінокислот і фосфорної кислоти;
- Г. Білки, що містять у своєму складі іони металів.

19. Що таке складні білки?

- А. Білки, які побудовані із простого білка і небілкової частини (простетичної групи): вуглеводів, ліпідів, нуклеїнових кислот, іонів металів та ін.;
- Б. Білки, що побудовані з простого білка і окремих спиртів;
- В. Білки, що побудовані з простого білка і дикарбонових кислот;
- Г. Білки, що побудовані з простого білка і діамінів.

20. Класифікація простих білків базується на:

- А. Компонентному складі;
- Б. Особливостях структури;
- В. За функціях і властивостях;
- Г. Амінокислотному складі.

- 21. Глютеліни – це:**
- А. Рослинні білки;
 - Б. Рослинні і тваринні білки;
 - В. Тваринні білки;
 - Г. Білки цитоплазми.
- 22. Гістони входять до складу:**
- А. Мембран;
 - Б. Мітохондрій;
 - В. Цитоплазми;
 - Г. Ядерної ДНК.
- 23. Альбуміни і глобуліни відрізняються:**
- А. Будовою;
 - Б. Властивостями;
 - В. Властивостями і функціями;
 - Г. Структурою.
- 24. Протаміни містять високий вміст:**
- А. Моноаміномонокарбонових кислот;
 - Б. Цистеїну;
 - В. Гліцину;
 - Г. Аргініну і лізину.
- 25. Протеїноїди містять значну кількість:**
- А. Серину;
 - Б. Гліцину;
 - В. Тирозину;
 - Г. Цистеїну.
- 26. Глікопротеїни складаються з білка та:**
- А. Цереброзидів;
 - Б. Вуглеводних компонентів;
 - В. Неорганічного фосфору;
 - Г. Нуклеотидів.
- 27. Які прості білки входять до складу хромопротеїдів:**
- А. Гемоглобін, міоглобін;
 - Б. Фібриноген, колаген;
 - В. Протаміни, гістони;
 - Г. Проламіни, глютеліни.
- 28. Гемоглобін належить до:**
- А. Глікопротеїдів;
 - Б. Металопротеїдів;
 - В. Склеропропротеїдів;

Г. Хромопротейдів.

29. Що являє собою первинна структура білка:

- А. Певна послідовність залишків амінокислот в поліпептидному ланцюгу (ланцюгах);
- Б. Просторова конфігурація поліпептидного ланцюга (ланцюгів);
- В. Укладання поліпептидного ланцюга (ланцюгів) в клубки певної форми;
- Г. Спіралізація поліпептидного ланцюга (ланцюгів).

30. Що таке вторинна структура білка:

- А. Певна просторова конфігурація поліпептидного ланцюга;
- Б. Взаємодія поліпептидних ланцюгів між собою;
- В. Послідовність амінокислотних залишків в поліпептидному ланцюгу;
- Г. Орієнтація амінокислот в просторі.

31. Які зв'язки стабілізують вторинну структуру білка:

- А. Пептидні;
- Б. Дисульфідні;
- В. Водневі;
- Г. Гідрофобні.

32. Що являє собою третинна структура білка:

- А. Взаємодія кількох білкових глобул між собою;
- Б. Спіралізація поліпептидних ланцюгів;
- В. Загальна просторова орієнтація (конформація) поліпептидних ланцюгів;
- Г. Асоціація білкових і небілкових субодиниць.

33. Які із вказаних зв'язків стабілізують третинну структуру білка:

- А. Гідрофобні;
- Б. Пептидні;
- В. Водневі;
- Г. Дисульфідні.

34. Для яких білків характерна четвертинна структура:

- А. Які у своєму складі мають лише один протомер;
- Б. Які складаються із двох і більшої кількості протомерів;
- В. Які у своєму складі мають небілкову частину;
- Г. Які побудовані з одного поліпептидного ланцюга.

РОЗДІЛ 3

ФЕРМЕНТИ (ЕНЗИМИ)

ПЛАН

1. Загальні властивості ферментів.
2. Будова молекули ферментів. Поняття активного центра
3. Специфічні властивості ферментів
4. Механізм дії ферментів
5. Активатори й інгібітори ферментів. Типи інгібування ферментів
6. Поняття про ізоферменти
7. Кінетика ферментативних реакцій. Одиниця активності ферментів..
8. Класифікація ферментів
9. Локалізація ферментів у клітинах, окремих органах і тканинах

Ферментами, або ензимами називаються специфічні білкові речовини, що утворюються в тканинах тваринних і рослинних організмів, що володіють здатністю прискорювати хімічні реакції (*fermentum* – закваска; *enzyme* – в дріжджах). За здатність прискорювати хімічні процеси в організмах ферменти ще одержали назву біокаталізаторів. *Розділ біохімії, що вивчає ферменти та ферментативні процеси, називається ензимологією.*

1. Загальні властивості ферментів

Будучи каталізаторами, ферменти мають ряд *загальних властивостей* з хімічними, небіологічними каталізаторами.

1. Ферменти не входять до складу кінцевих продуктів реакції й виходять із реакції в первісному виді. Вони не витрачаються процесі каталізу.
2. Ферменти не можуть збудити реакцій, що суперечать законам термодинаміки, вони прискорюють тільки ті реакції, які можуть протікати й без них.
3. Ферменти, як правило, не зміщують положення рівноваги реакції, а лише прискорюють його досягнення.

Для ферментів характерні й *специфічні властивості*, що відрізняють їх від хімічних каталізаторів і підкреслюють їхню біологічну природу:

1. По хімічній будові молекули всі ферменти є білками.
2. Ефективність ферментів вище, ніж небіологічних каталізаторів (швидкість протікання реакції при участі ферменту на кілька порядків вище, ніж при участі

хімічних каталізаторів).

3. Ферменти мають вузьку специфічність, вибірковістю дії на субстрати, тобто на речовини, перетворення яких вони прискорюють.

4. Одним з найважливіших властивостей ферментів як біокаталізаторів є їх здатність до регуляції. Через регуляцію ферментативного апарата здійснюється скоординованість всіх метаболічних процесів у часі й просторі, спрямований на відтворення живої матерії, підтримка сталості внутрішньоклітинного середовища, на пристосування до мінливих зовнішніх умов.

5. Як білки ферменти нестійкі до високої температури (або термолабільні) і проявляють свою дію при певній концентрації водневих іонів.

6. При ферментативних реакціях на відміну від неферментативних спостерігаються лише незначні побічні процеси, для ферментативних реакцій характерний майже 100% вихід продуктів.

2. Будова молекули ферментів

Ферменти є глобулярними білками, їхні молекули можуть бути представлені як простими, так і складними білками. У першому випадку ферменти називають однокомпонентними, у другому - двокомпонентними.

Білкова частина двокомпонентних ферментів називається *апоферментом*, а молекула в цілому - *холоферментом*. Небілкові компоненти прийнятий називати *коферментами* або *кофакторами*. Вони діють як акцептори (або донори) атомів або функціональних груп, що віддаляються від субстрату (або приєднуються до нього). Якщо небілкова частина ферменту міцно пов'язана з білком і в циклі біохімічних реакцій не від'єднується від нього, її прийняте називати *простетичною групою*.

Молекулярна маса ряду ферментів (дальтон):

РИБОНУКЛЕАЗА	13700
ТРИПСИН.....	23800
ГЕКСОКІНАЗА	45000
АЛЬДОЛАЗА	142000
УРЕАЗА	480000
ПІРУВАТДЕГІДРОГЕНАЗА	4500000

Коферменти:

1. Водорозчинні вітаміни – у вигляді фосфорних ефірів або в складі нуклеотидів (ФМН, ФАД, НАД, НАДФ, НS-КоА).

2. Нуклеозидтри- і дифосфати (АТФ, ТТФ, УТФ, ГТФ).

3. Метали (Zn^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} , Mo^{2+}).

4. Пептидні коферменти (глутатіон).

<i>Вітамін</i>	<i>Кофермент</i>	<i>Ферменти</i>
B ₁	ТПФ	Декарбоксилази α-кетокислот
B ₂	ФАД, ФМН	Аеробні дегідрогенази
B ₃	НС-КоА	Ацилтрансферази
B ₅	НАД, НАДФ	Анаеробні дегідрогенази
B ₆	ФП	Амінотрансферази
B ₁₂		Метилтрансферази
H		Карбоксилази (лігази)

Функціями коферментів і простетичних груп є:

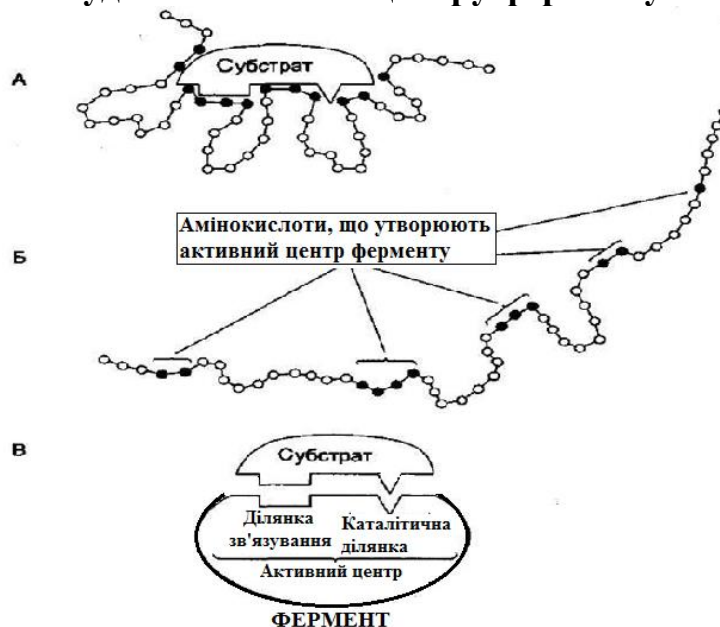
- 1) участь в акті каталізу,
- 2) здійснення контакту між ферментативним білком і субстратом,
- 3) стабілізація апоферменту. Апофермент, у свою чергу, посилює каталітичну активність небілкової частини й, крім того, визначає специфічність дії ферментів, оскільки та сама по хімізму небілкова частина може функціонувати в складі різних ферментів.

Активний центр

У ході ферментативних реакцій здійснюється контакт між ферментом і субстратом, утворюються проміжні фермент-субстратні комплекси (ES). Та область ферментативної молекули, у якій відбувається зв'язування й перетворення субстрату, називається *активним центром* (на його частку звичайно доводиться лише невелика частина молекули). Активний центр утвориться певними бічними радикалами амінокислотних залишків поліпептидного ланцюга, а у двокомпонентних ферментах у нього входять і деякі угруповання небілкової частини. У ферментів, що мають четвертинну структуру, число активних центрів, як правило, збігається із числом субодиниць.

Активний центр функціонально неоднорідний, у ньому умовно виділяють кілька зон. Ті угруповання активного центра, які контактують із фрагментами молекул, що піддаються перетворенню, субстрату, тобто беруть безпосередню участь у синтезі або розщепленні зв'язку субстрату, входять у каталітичну зону. Угруповання, що контактують із неперетравленими фрагментами субстрату, і зміцнювальні його в активному центрі, ставляться до зони зв'язування.

Будова активного центру ферменту



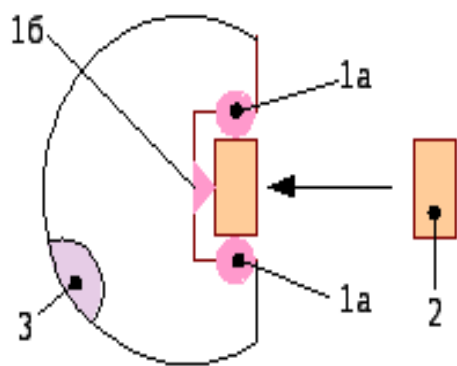
1. Активний центр, в ньому виділяють 2 ділянки, які теж іноді називають центрами:

а) **Субстратний центр** – це ділянка ферменту, за рахунок якого утворюється зв'язок між субстратом та ферментом і відбувається утворення нестійкого фермент-субстратного комплексу;

б) **Каталітичний центр** – це ділянка ферменту, яка відповідає за безпосереднє проведення реакції (часто співпадає з коферментом).

2. Регуляторний (аллостеричний) центр – це ділянка ферменту, приєднання до якого різних речовин (**модифікаторів**) призводить до змін просторової структури активного центру, в результаті чого фермент змінює свою активність.

Модифікатори, що збільшують активність ферментів, називаються **активаторами**, а ті, що зменшують – **інгібіторами**.



1 – активний центр:

1а – субстратний центр (контактні ділянки);

1б – каталітичний центр;

2 – субстрат;

3 – аллостеричний центр.

Зв'язування субстрату, як правило, багатокрапкове, воно здійснюється при участі декількох угруповань ферментативної молекули й субстрату. У молекулі

ферменту існують також залишки амінокислот, які не мають прямих контактів із субстратом, але сприяють каталізу, фіксуючи угруповання каталітичної зони в активному стані.

Найбільше часто до складу активних центрів входять такі амінокислоти, як *сірін, гістидин, треонін, цистин, глутамінова кислота, аспарагінова кислота, аргінін*.

Активні центри ферментів розташовані в поглибленнях на поверхні ферментативної молекули.

3. Специфічні властивості ферментів

Швидкість ферментативних реакцій залежить від ряду факторів: концентрації ферменту й субстрату, температури, рН середовища.

1. Специфічність дії

Індивідуальні особливості будови активних центрів різних ферментів обумовлюють специфічність їхньої дії. Розрізняють наступні рівні специфічності: *специфічність* ферментів може бути *абсолютної й відносної*.

Абсолютна (індивідуальна) специфічність – коли фермент діє тільки на один конкретний субстрат. У випадку абсолютної специфічності ферменти каталізують перетворення тільки однієї речовини, у випадку відносної невеликої групи близьких по властивостях речовин. Прикладами ферменту з абсолютною специфічністю є уреаза:

Уреаза



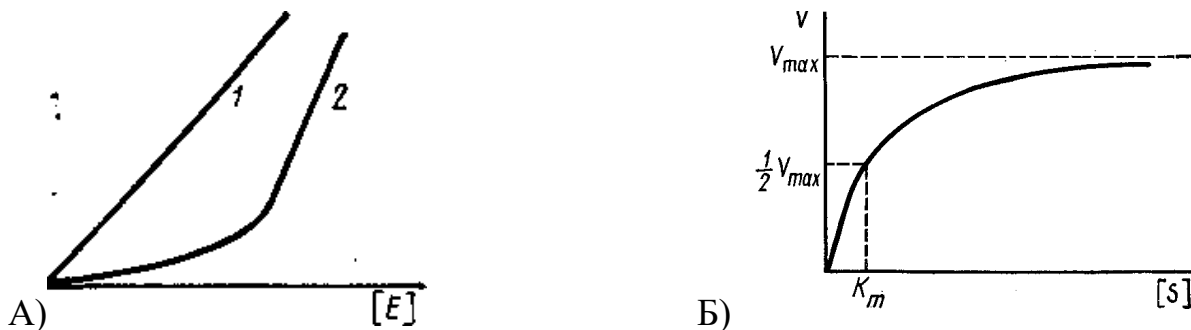
Відносна (групова) специфічність – фермент діє на групу речовин, близьких за хімічною будовою (наприклад, пепсин діє на різні білки). До ферментів з відносною специфічністю ставляться естерази, що розщеплюють великий ряд ефірів карбонових кислот; деякі фосфатази, що діють на ефіри фосфорної кислоти; пептидази й протеїнази, які гідролізують пептиди й білки. Відносна специфічність протеїназ виражається також і в тім, що вони розщеплюють велику кількість різних білків.

Крім хімічної специфічності деякі ферменти виявляють і стеричну або оптичну специфічність. Оптична (стереоспецифічність) специфічність – фермент діє не просто на одну речовину, а тільки на певний його оптичний ізомер (наприклад, ферменти амінокислот організму специфічні тільки по відношенню до L-ізомерів).

Такі ферменти розрізняють стереоізомери й каталізують перетворення тільки одного з них: D- або L-, α - або β -, цис- або транс-.

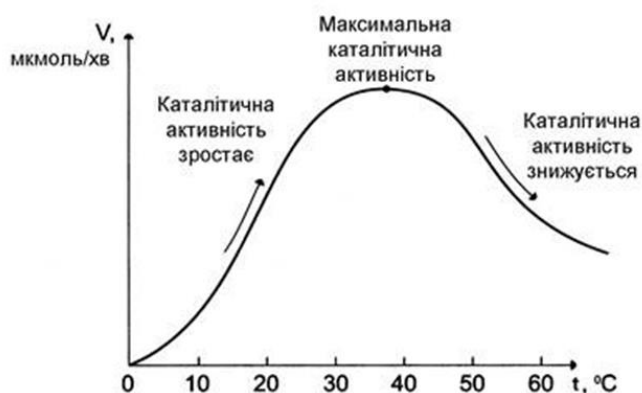
2. Вплив концентрації ферменту й субстрату на швидкість реакції. Залежність швидкості реакції від концентрації ферменту (А) є лінійною. Нелінійна

залежність при високих концентраціях ферменту спостерігається внаслідок недостатці субстрату



Майже у всіх випадках графік залежності початкової швидкості реакції від концентрації субстрату (Б) являє собою гіперболу. В міру зростання концентрації субстрату крива виходить на плато, швидкість досягає своєї максимальної величини. Це говорить про те, що всі молекули ферменту (їхні активні центри) повністю насичені субстратом.

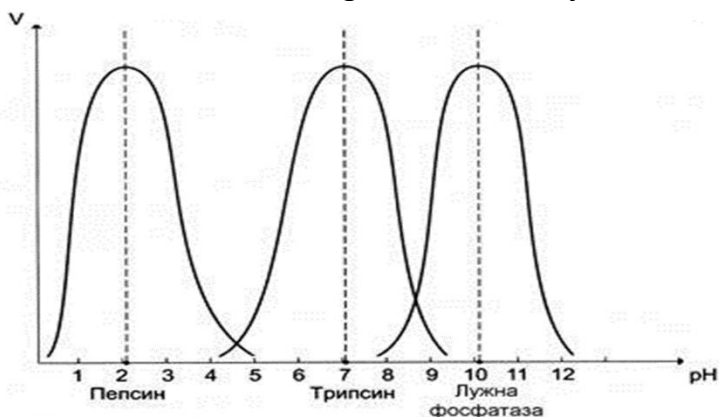
3. Термолабільність – це зміна активності ферментів при різних температурах: оптимальну активність вони проявляють при температурі тіла тварин. Швидкість ферментативної реакції істотно залежить від температури. Графік залежності прямолінійний тільки в певних межах. Це пов'язане з тим, що при підвищенні температури швидкість ферментативних реакцій збільшується до певного максимального значення, при подальшому підвищенні температури відбувається зниження швидкості реакції внаслідок теплової денатурації, що починається, ферменту. При нагріванні вище $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ переважна більшість ферментів повністю підлягає денатурації.



Температурний оптимум для більшості ферментів лежить у межах $40\text{-}60\text{ }^{\circ}\text{C}$. Високої термостабільністю володіють ферменти термофільних мікроорганізмів;

деякі з них здатні навіть витримувати короткочасне кип'ятіння без істотного зниження активності. У кристалічному виді ферменти більше терmostійкі.

4. Чутливість до рН середовища Вплив рН на швидкість ферментативної реакції. Графічна залежність швидкості більшості ферментативних реакцій від рН має колоколоподібну форму. Те значення рН, при якому швидкість реакції максимальна, називається оптимумом рН; при відхиленні рН у будь-яку сторону від цього значення швидкість реакції зменшується.



Крім того, рН може впливати на активність ферментів, дестабілізуючи їхню структуру, порушувати міцність зв'язку апоферменту з небілковим компонентом. Зміна рН може також впливати на стан активаторів і інгібіторів ферментів.

5. Зберігають активність в ізолюваному вигляді, тому багато ферментів використовують як лікарські препарати.

6. Чутливість до наявності в середовищі модифікаторів (активаторів та інгібіторів).

За рахунок їх дії регулюється активність ферменту, кооперативність, взаємозв'язок і запрограмованість їх дії.

4. Механізм дії ферментів

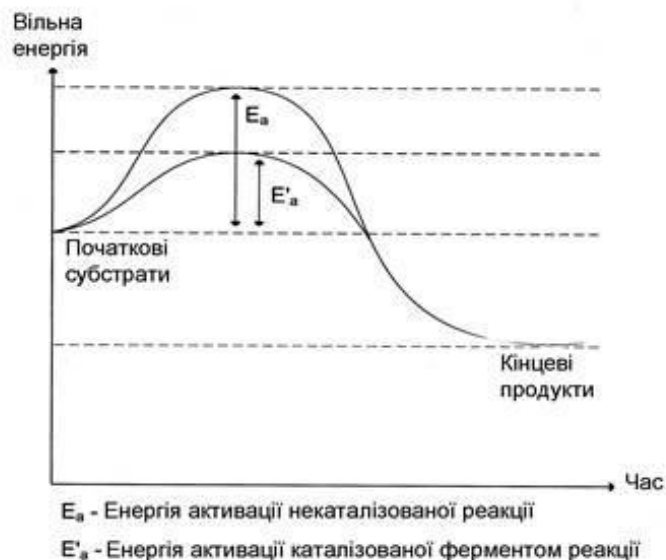
Будь-які хімічні реакції перебігають згідно двох основних законів термодинаміки: закону збереження енергії та закону ентропії. Відповідно до цих законів, загальна енергія хімічної системи та її оточення залишається постійною, при цьому хімічна система прагне до зменшення впорядкованості (збільшення ентропії).

Для протікання будь-якої реакції необхідно, щоб реагуючі молекули прийшли в контакт один з одним. Однак не кожне зіткнення молекул супроводжується їхньою взаємодією, реакція протікає тільки в тому випадку, якщо молекули мають достатній запас кінетичної енергії.

Енергію, необхідну для досягнення активованого (перехідного) стану, щоб молекули могли вступити в реакцію, називають *енергією активації* (E_a).

У випадку ферментативних реакцій енергетичний бар'єр знижується завдяки утворенню фермент-субстратного комплексу, а чим менше енергія активації, тим швидше протікають реакції,

Зміна вільної енергії



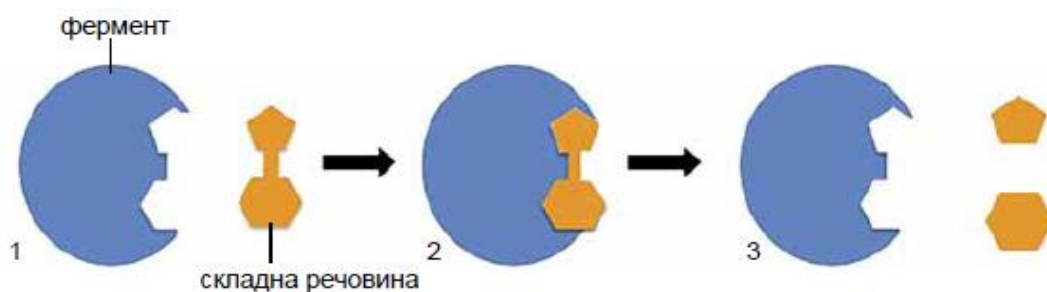
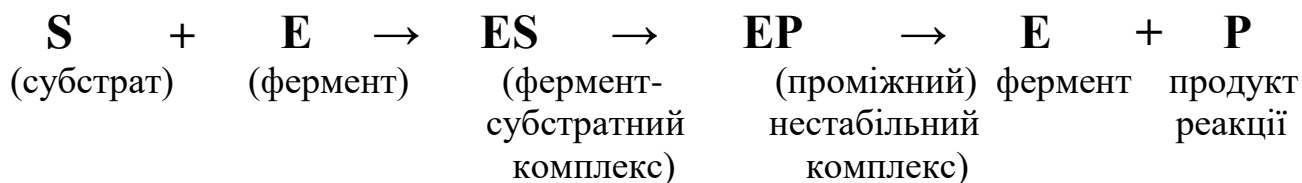
Фермент зменшує енергію активації E_a , тобто знижує висоту енергетичного бар'єру, в результаті чого збільшується частка реакційно-здатних молекул, а отже, підвищується швидкість реакції.

Зниження енергетичного бар'єру відбувається за рахунок:

1. Підвищення ймовірності зіткнення субстратів.
2. Чіткої орієнтації взаємодій молекул в активному центрі.
3. Максимального зближення субстратів.
4. Дії на певні атоми субстрату атомами активного центру.
5. Зміщення електронів і протонів, що підвищує реакційноздатність атомів.

Таким чином, більші швидкості ферментативних реакцій є в остаточному підсумку результатом зниження енергії активації реакцій, які вони каталізують. Саме завдяки тому, що біологічні каталізатори знижують енергію активації, ферментативні реакції протікають із високою швидкістю при відносно низькій температурі.

В механізмі ферментативного каталізу вирішальне значення має утворення нестійких проміжних сполук – фермент-субстратних комплексів – ES, що перетворюються в нестабільний перехідний комплекс – EP, який майже миттєво розпадається на вільний фермент і продукт реакції.



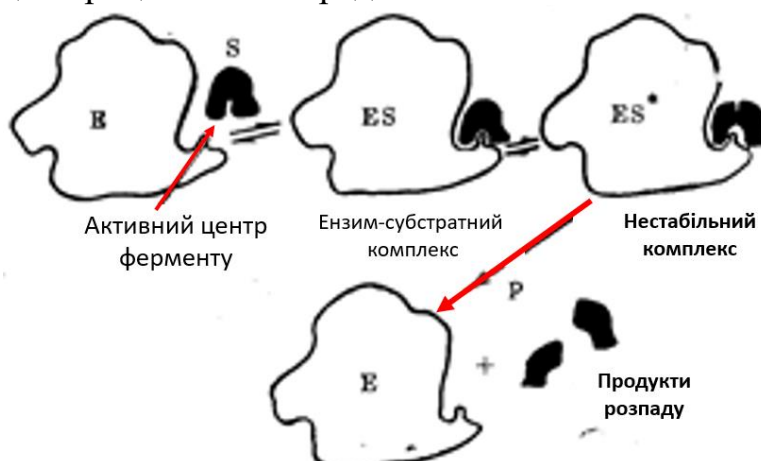
Механізм дії ферментів: 1 – зближення ферменту й складної речовини; 2 – взаємодія ферменту та речовини; 3 – складна речовина розклалися на простіші

У каталітичній дії ферментів можна виділити 3 стадії:

- 1) приєднання молекули субстрату (S) до ферменту (E),
- 2) перетворення субстрату,
- 3) розпад нестійкого ензим-субстратного комплексу на вільний ензим і продукти реакції. Найпростіша схема ферментативної реакції записується в такий спосіб:

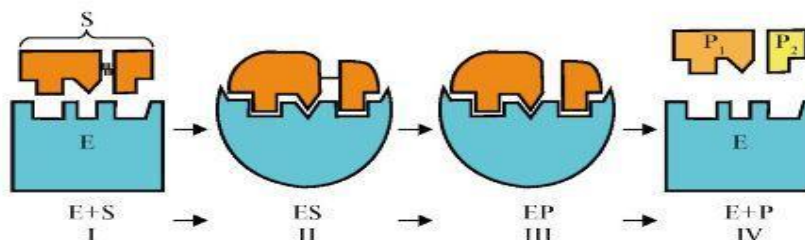


Схематично цей процес можна представити так:



Найбільш швидкої звичайно є перша стадія реакції, повільної - друга. На 1-й стадії реакції відбувається утворення фермент-субстратного комплексу (ES, ФСК), у результаті чого структура й властивості молекули субстрату міняються, утворюються його перехідні форми. Це є головною передумовою прискорення процесу його перетворення в реакції каталізу.

Етапи ферментативного каталізу



I – етап зближення та орієнтації субстрату відносно активного центру ферменту;

II – утворення фермент-субстратного комплексу (ES) в результаті індукованої відповідності;

III – деформація субстрату і утворення нестабільного комплексу фермент-продукт (EP);

IV – розпад комплексу (EP) з вивільненням продуктів реакції з активного центру ферменту та звільненням ферменту.

Ферментативні реакції по числу учасників поділяються на *односубстратні* і *двусубстратні*. З більшим числом субстратів реакції зустрічаються досить рідко. Найпоширенішим типом ферментативної реакції є двусубстратна реакція з утворенням двох продуктів: $A + B = C + D$. До цього типу ставляться приблизно 60 % всі відомі реакції й насамперед реакції переносу груп.

Рідко зустрічаються односубстратні-однопродуктні реакції, прикладами їх є реакції ізомеризації, зокрема глюкозо-1-фосфат $\xrightarrow{\text{red arrow}}$ глюкозо-6-фосфат.

5. Активатори й інгібітори ферментів

Ферментативні процеси в тканинах можна прискорити або уповільнити додаванням тих або інших речовин. Речовини, що прискорюють ферментативні реакції, одержали назву *активаторів*, а що сповільнюють - *інгібіторів*. Так, наприклад, активатором пепсиногену в шлунковому соку є соляна кислота, та ж соляна кислота є інгібітором для амілази слини.

На активність ферментів впливають і деякі катіони, одні з них прискорюють, інші сповільнюють активність ферментів. Більшість важких металів - Pb, Hg, Си - є інгібіторами ферментів. Активаторами є іони магнію, марганцю, калію, цинку, молібдену й ін. Деякі ферменти виділяються в неактивному стані у вигляді проферментів. Так, наприклад, пепсин шлункового соку виділяється клітинами у вигляді пепсиногену й активується соляною кислотою в шлунку. Трипсин підшлункової залози виділяється в неактивному стані у вигляді трипсиногену й активується в кишечнику під впливом ферменту ентерокинази кишкового соку. Як

виявилося, і втім і в іншому випадку активація полягає у відщепленні від пепсиногену й трипсиногену поліпептидів, після чого ферменти стають активними.

Зокрема, токсичність багатьох отрут для живих організмів, лікувальний ефект ряду лікарських препаратів обумовлені їх інгібуючою дією на ферменти.

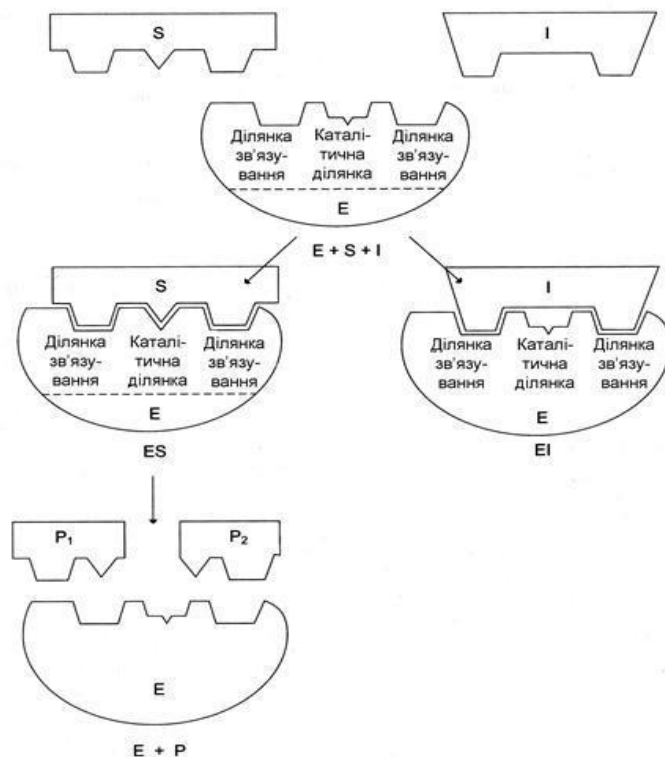
Типи інгібування ферментів

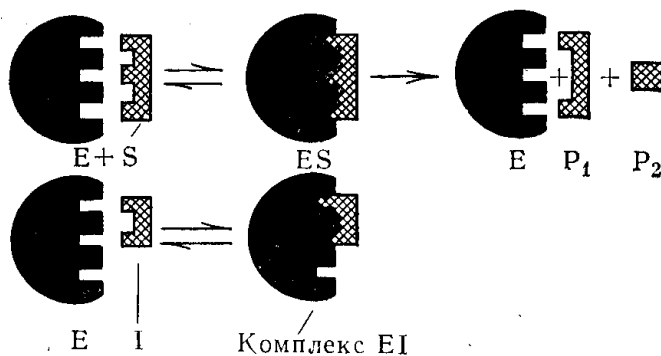
Для інгібіторів характерна специфічність дії. Розрізняють необоротне й оборотне інгібування. **Необоротну (і неспецифічну) денатурацію** ферментів під впливом тепла, сильних кислот або яких-небудь інших факторів звичайно не розглядають як інгібування. До інгібіторів неприродного походження відносять, наприклад, фторид натрію - інгібітор фосфатаз, фенантролін - металовмісних ферментів. Дія таких інгібіторів звичайно незворотне.

У цей час розрізняють два типи оборотного інгібування (гальмування) активності ферментів - субстратне, або конкурентне, і аллостеричне інгібування.

Конкурентна дія інгібітору буває в тому випадку, коли його хімічна будова подібна до будови субстрату і тому він здатний приєднатися до субстратного центру, конкуруючи з субстратом, що пригнічує активність ферменту.

Схема конкурентного інгібування активності ферменту





При субстратному інгібуванні «конкуренція» між субстратом і його аналогом обумовлена тим, що й субстрат і аналог приєднуються до активного центра, тому що їхня структура дуже близька, а розходження досить незначно. «Конкурент» субстрату взаємодіє з активним центром ферменту, і субстрат не може вступити в контакт із ферментом.

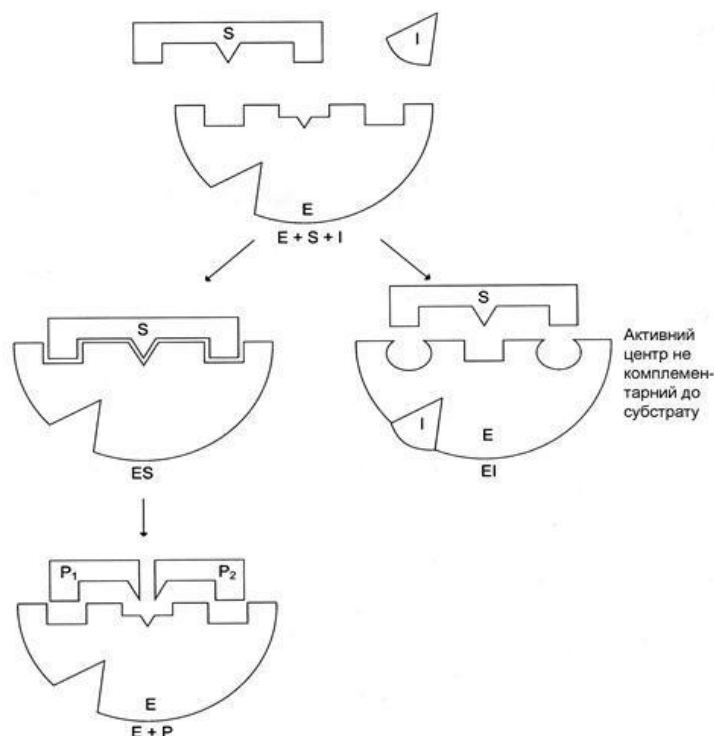
Щоб витиснути «конкурента» необхідно збільшити концентрацію субстрату. Прикладом аналогічної реакції служить фермент сукцинатдегідрогеназа; вона блокується малоновою кислотою, молекула якої дуже близька за структурою бурштиновій кислоті, що є субстратом для СДГ.

Аллостеричне (неконкурентне) інгібування ферментів

Аллостеричне інгібування полягає в тому, що яка-небудь речовина, не будучи гомологом субстрату, приєднується не в активному центрі, а в іншому місці молекули ферменту. Це приєднання не залишається байдужим для ферменту, внаслідок чого відбувається зміна конформації білкової частини ферменту: контакт між субстратом і активним центром ферменту послаблюється, і швидкість розпаду субстрату зменшується. Зміна концентрації субстрату на неконкурентне інгібування не впливає.

Багато фармакологічних активних сполук змінюють активність метаболічних процесів у результаті дії на ферменти. Деякі з них виступають у ролі конкурентних інгібіторів завдяки подібності структури з метаболітами. Такі сполуки називаються антиметаболітами. Наприклад, синтетичні антибактеріальні речовини сульфаніламідні є конкурентами амінобензойної кислоти. Вона використовується бактеріями для синтезу фолієвої кислоти - фактору їхнього росту. Сульфаніламідні препарати гальмують ферментативну стадію на шляху синтезу фолієвої кислоти завдяки конкуренції АБК і синтетичного аналога. Гальмування синтезу фолієвої кислоти в присутності сульфаніламідів обумовлює бактеріостатичний ефект останніх.

Схема неконкурентного (аллостеричного) інгібування активності ферменту



Саморегуляція ферментативних реакцій

Ферментативні процеси можуть протікати як у бік розпаду речовини, так і у бік його синтезу, все залежить від потреби кліток у той або інший відрізок часу.

У нормальному організмі цей процес саморегулюється шляхом зворотного зв'язка. Коли кінцевий продукт реакції нагромаджується в достатній кількості, то він буде гальмувати первісну ферментативну реакцію, і процес дисиміляції сповільниться або припиниться повністю.

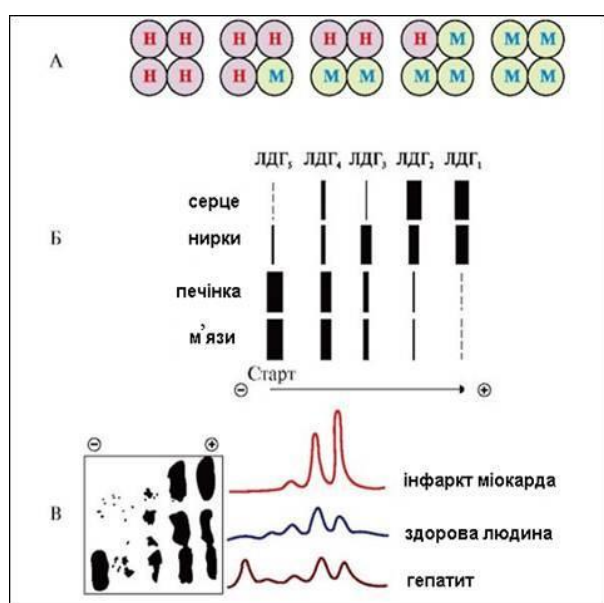
Для прикладу візьмемо вміст глюкози в крові. Якщо рівень її в крові по тим або інших причинах знижується, починає посилено розпадатися глікоген у печінці й поповнювати кров глюкозою; якщо в крові глюкози більше певного рівня, створюються передумови перетворення її в глікоген печінки. Цей процес регулюється відповідними ферментами.

6. Поняття про ізоферменти

У тканинах присутні ферменти у вигляді гетерогенних форм, що володіють однієї й тої ж субстратною специфічністю, але різними фізико-хімічними властивостями. Це обумовлено тим, що амінокислотна сполука їх неоднакова й первинна структура різна. Ізоферменти відрізняються завдяки цьому різної електрофоретичною рухливістю. Цією властивістю користуються для поділу

ізоферментів. У клінічній практиці останнім часом ізоферментним спектром надають великого значення, тому що при ряді захворювань він змінюється. Визначення в крові й тканинах ізоферментів лактатдегідрогенази, що перетворюють пірвіноградну кислоту або в оцтову, або в молочну, знайшло широке застосування в клініці. Відомо 5 ізоферментів ЛДГ. Так, при захворюваннях бруньок у крові й сечі з'являються додаткові фракції ЛДГ₄ і ЛДГ₅, відсутні в крові й сечі здорових людей. При захворюваннях легенів збільшується вміст фракції ЛДГ₃.

Множинні ізоформи ЛДГ



А – будова різних ізоформ ЛДГ (субодиниці типу *H* і типу *M*);

Б – електрофореграма множинних форм ЛДГ;

В – вміст ізоформ ЛДГ в плазмі крові в нормі та при патології (електрофореграми – ліворуч та фотометричне сканування – праворуч).

7. Кінетика ферментативних реакцій

Швидкість хімічних реакцій залежить не тільки від температури, підвищення якої сприяє прискоренню руху молекул, а

виходить, і зіткненню між ними. Як вказувалося вище, швидкість ферментативної реакції залежить від концентрації субстрату, ферменту і його активності.

Одиниця активності ферментів

За рішенням Міжнародного біохімічного союзу рекомендовано за одиницю активності (Е) будь-якого ферменту приймати ту кількість його, що каталізує перетворення 1 мМ субстрату в мінуту при заданих умовах (рекомендується дотримуватися температури 25 °С).

Якщо між ферментом і субстратом є мала спорідненість внаслідок обмеженої розчинності субстрату, то в цих випадках рекомендується визначати константу Міхаеліса K_m . Константа Міхаеліса характеризує спорідненість ферменту до субстрату й виражає концентрацію субстрату при швидкості, удвічі менше максимальної.

8. Класифікація ферментів

Номенклатура ферментів

➤ **Тривіальна.** Наприкінці минулого століття Дюкло запропонував для всіх ферментів будувати назва або із процесу, що вони ведуть, або по субстраті, на який він діє, але з обов'язковим додатком суфікса - аза.

➤ **Назва субстрату** (латинська або інша) + закінчення –**аза**: *амілаза (amilum – крохмаль)*. Якщо процес йде при участі води, варто називати цю групу ферментів гідролазами, якщо гідролізу піддається крохмаль - то називати фермент амілазою (*amylum* - крохмаль), якщо гідролізу піддається жир - ліпазою, якщо гідролізується білок (протеїн) - протеїназою і т.п. (*пепсин, трипсин, хімотрипсин*);

➤ **Тип реакції** + закінчення –**аза**: *гідролази, оксидоредуктази, дегідрогенази.*

Наукова назва: за допомогою цифр:

- перша цифра – це номер класу;
- друга цифра – це номер підкласу;
- третя цифра – це номер підпідкласу;
- четверта цифра – це номер ферменту за каталогом.

Аланінамінотрансфераза (АлАТ – 2.6.1.2.)

Відповідно до класифікації, розробленою Міжнародною комісією з ферментів і прийнятої в 1961 р., всі ферменти розділяють на шість класів відповідно до характеру ними реакцій, які вони каталізують.

Класи діляться на підкласи, а останні - на підподкласи або групи, всередині яких ферментам привласнений порядковий номер.

Відповідно до цієї класифікації, ферменти підрозділяються на шість головних класів.

Клас 1. Оксидоредуктази - ферменти, які каталізують окислювально-відновні реакції.

Клас 2. Трансферази - ферменти, які каталізують реакції переносу груп.

Клас 3. Гідролази - ферменти, які каталізують реакції гідролізу.

Клас 4. Ліази - ферменти, які каталізують приєднання груп до подвійних зв'язків або, навпаки, відщеплення груп, з утворенням подвійного зв'язку.

Клас 5. Ізомерази - ферменти, які каталізують реакції ізомеризації.

Клас 6. Лігази (синтетази) - ферменти, які каталізують реакції конденсації двох молекул, сполучені з розщепленням пірофосфатного зв'язку в молекулі АТФ або аналогічного трифосфату.

Кожний фермент має свій індивідуальний чотиризначний шифр. Наприклад, шифр ферменту глюкозооксидази КФ. 1.1.3.4.

9. Локалізація ферментів у клітинах, органах і тканинах

Всі організми, окремі органи й тканини багатоклітинних організмів відрізняються друг від друга не тільки по морфологічних і анатомічних ознаках, хімічному складу, але й по характеру метаболічних процесів, що визначається «набором» ферментів і їхньою активністю. Наприклад, ферменти метаболізму зелених пігментів характерні тільки для фотосинтезуючих організмів, а ферменти тромбін і плазмін - для людини й тварин.

У середині клітини індивідуальні ферменти, як правило, утримуються й діють у строго певних її органелах. Внутрішньоклітинна локалізація ферментів безпосередньо пов'язана з тією функцією, що виконує дану ділянку клітини.

У цей час гарне встановлено, що майже всі ферменти гліколізу виявляються в *цитоплазмі*, ферменти циклу трикарбонових кислот (ЦТК), β -окислювання жирних кислот - у *матриці мітохондрій*, ферменти окисного фосфорилування - у *внутрішній мембрані мітохондрій*.

У *ядрах* зосереджене невелике число ферментів, в основному це ферменти синтезу нуклеїнових кислот, типовими представниками їх є α - і β -ДНК-полімерази, РНК-полімераза.

Мембранні структури *мікосом* багаті цитохромом Р-450, який каталізує ряд реакцій біологічного гідроксилювання й інших окисних процесів. У *стромі хлоропластів* утримуються рибулозобісфосфаткарбоксілаза й інші ферменти, що беруть участь у синтезі вуглеводів. У мембрани *хлоропластів* вбудовані АТФ-ази й переносники електронів, що функціонують у процесі фотосинтезу.

Багато біологічних каталізаторів завдяки їхньому строгому розташуванню в клітці використовують як маркери тих або інших внутрішньоклітинних структур. Наприклад, при дослідженні печінки пацюків показано, що *кисла фосфатаза* локалізована в лізосомах, *каталаза*, *оксидаза D-Амінокислот* - у пероксисомах, *глюкозо-6-фосфатаза*, *цитохром-3-редуктаза* - в ендоплазматичному ретикулюмі, *лактатдегідрогеназа* - у цитоплазмі.

Окремі тканини й органи тварин і рослин відрізняються не тільки по набору ферментів, але й по їхній активності. Так, майже у всіх тканинах ссавців утримуються ферменти гліколізу, ЦТК, але активності їх істотно відрізняються в різні по специфічності клітинах. Найбільша активність ферментів гліколізу характерна для кістякових м'язів, ферментів орнітинового циклу - для печінки, РНК-ази - для підшлункової залози, глутамінази - для мозку, α -глюкуронідази - для селезінки. Таку особливість тканин використовують у клініці при діагностиці деяких захворювань. Зокрема, зростання активності креатінкінази в сироватці крові є одним з показників ушкодження м'язової тканини.

Існують також вікові зміни в активності й наборі ферментів у тканинах, які найбільше чітко помітні в період ембріонального розвитку при диференціюванні тканин. Так, у незаплідненого курячого яйця виявляються лише сліди

лактатдегідрогеназної активності; вона істотно зростає з початком розвитку ембріона.

Лабораторна робота № 3

ЗАГАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ ФЕРМЕНТІВ

Мета: перевірити теоретичні знання з розділу «Ферменти». Ознайомити з методами, що дозволяють визначити активність деяких ферментів, і вивчити їх загальні властивості.

Завдання: навчити визначати активність ферментів і охарактеризувати вплив на активність ферментів умов зовнішнього середовища.

Основні теоретичні відомості.

Ферменти – біологічні каталізатори білкової природи, які мають спільні риси з неорганічними каталізаторами, а також специфічні властивості. Наявність ферменту в біологічній рідині можна довести за його активністю. Ферменти прискорюють хімічні реакції, у яких субстрат тим чи іншим чином перетворюється на продукт реакції. Тому якщо фермент виявляє активність, субстрату стає менше, а продукту реакції – більше. За зменшенням кількості субстрату і збільшенням кількості продукту реакції можна оцінити активність будь якого ферменту.

До специфічних властивостей ферментів належить залежність їх дії від температури, рН середовища, від наявності модуляторів (або ефекторів), які можуть або посилювати активність ферменту (активатори), або зменшувати її (інгібітори). Активність ферменту залежить також від концентрації субстрату. Крім того, ферменти є високоспецифічними відносно субстрату, перетворення якого каталізується.

Зі зниженням температури активність ферментів знижується, досягаючи мінімального значення за температури 0 °С. Під час підвищення температури на кожні 10 градусів активність ферменту зростає в 2–4 рази, доки не досягне максимальної. Температура, за якої спостерігається максимальна швидкість ферментативної реакції, називається оптимальною. Під час подальшого нагрівання, для більшості ферментів до 50–70 °С, фермент втрачає властивості біологічного каталізатора через теплову денатурацію білкової молекули.

Кожен фермент має своє значення рН середовища, за якого його активність максимальна – оптимальне рН. Для більшості ферментів людського організму це значення становить 6,8–7,4. Крива залежності активності ферменту від рН середовища на відміну від температурної залежності симетрична.

Активатори ферментів – це, як правило, іони металів, але іноді й аніони (для α -амілази – аніони хлору). Переважний механізм дії – зв'язування з аллостеричним

центром ферменту, унаслідок чого змінюються конформація молекули ферменту і просторова відповідність молекул ферменту та субстрату. За таким самим механізмом можуть діяти і специфічні неконкурентні інгібітори ферментів. Конкурентні інгібітори конкурують з істинним субстратом за місця зв'язування в активному центрі ферменту. Підвищенням концентрації істинного субстрату можна позбавитись впливу конкурентного інгібітору, бо він витісняється з активного центру. Інгібування може бути неспецифічним, його зумовлює будь-який чинник, що руйнує структуру ферменту, денатурує його.

Із підвищенням концентрації субстрату швидкість ферментативної реакції зростає. Але з досягненням певної концентрації субстрату – концентрації насичення – всі місця зв'язування субстрату в активному центрі ферменту виявляються зайнятими, і подальше підвищення концентрації субстрату не пришвидшує перебіг реакції.

Питання для самопідготовки:

1. Ферменти: визначення, поширення, хімічна природа, відмінність від мінеральних каталізаторів.
2. В чому суть впливу ферментів на субстрати?
3. Теорії каталітичної дії ферментів (адсорбційна і утворення фермент-субстратних комплексів).
4. Будова ферментів – апоферменти, коферменти, холоферменти.
5. Які вам відомі коферменти, їх хімічна будова?
6. Загальні властивості ферментів – термолабільність, чутливість до рН, специфічність та її види.
7. Інгібітори та активатори ферментів.
8. Чому зі зміною температури і рН середовища ферменти втрачають активність?
9. Аллостеричні центри та їх призначення.
10. Ізоферменти (дати визначення), їх біологічна роль.
11. Номенклатура ферментів.
12. Принцип класифікації ферментів. Основні класи ферментів.

1. Вплив температури на активність ферментів (термолабільність амілази слини)

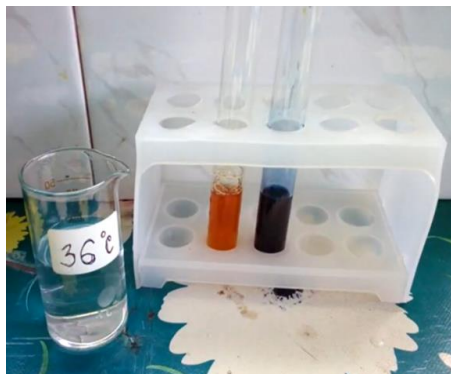
Принцип методу. В оптимальних умовах амілаза слини гідролізує крохмаль до мальтози, в результаті чого він не виявляється в розчині за реакцією з йодом. При зміні температури амілаза або знижує свою активність, що призводить лише до часткового гідролізу крохмалю до декстринів, що дають з йодом фіолетове або буро-червоне забарвлення, або втрачає свою активність зовсім, і тоді в розчині можна за синім забарвленням з йодом виявити негідролізований крохмаль.

Вплив температури на активність амілази слини проявляється у зміні інтенсивності розщеплення крохмалю цим ферментом за різних температурних умов зберігання ферменту. У дві пробірки додають по 1 мл розведеної у 2 рази слини, в інші дві – по 1 мл розведеної так само слини після попереднього кип'ятіння (протягом 2 хв). В усі чотири пробірки додають по 2 мл 0,2 %-го розчину крохмалю і ставлять у термостат за $t^{\circ} = 37^{\circ}\text{C}$ на 15 хв.

Ступінь розщеплення крохмалю визначають за допомогою реакції з йодом (за зменшенням кількості субстрату) або реакції Фелінга (за збільшенням кількості продукту реакції). Для цього після інкубації проводять реакцію з йодом (0,1 %-м розчином йоду в 0,2 %-у розчині йодиду калію), додаючи по 1–2 краплі у дві пробірки (з не кип'яченою слиною і зі слиною після кип'ятіння), та з реактивом Фелінга (додають по 2 мл реактиву Фелінга так само в дві пробірки, з не кип'яченою слиною і зі слиною після кип'ятіння, перемішують і нагрівають до кипіння). Спостерігають забарвлення при реакції з йодом і утворення осаду в реакції Фелінга.

Хід роботи.

1. Пронумерувати 4 пробірки.
2. У всі пробірки наливають по 1 мл розбавленої слини, що містить активну амілазу.
3. 2-у пробірку поміщають у киплячу водяну баню на 2-3 хвилини.
4. Вміст 4-ї пробірки охолоджують у склянці з льодом.
5. У всі пробірки наливають по 4-5 мл крохмалю.
6. Перемішують і інкубують при різних температурах:
 - 1-у та 2-у – на водяній бані при 37°C ;
 - 3-ю – залишають у штативі при кімнатній температурі;
 - 4-у – у склянці з льодом (0°C).
7. Через 5-6 хвилин у кожену пробірку додають по 1-2 краплі реактиву Люголя, перемішують.



Спостереження, результати досліду і висновки записують у таблицю

№	Температура інкубації	Забарвлення з йодом	Продукти гідролізу
1	37 °С		
2	100 °С		
3	20 °С		
4	0 °С		

Спостереження та висновки:

2. Вплив рН середовища на активність ферментів (амілази)

Принцип методу. При оптимальному для дії амілази значенні рН середовища крохмаль повністю гідролізується і не виявляється в реакції з йодом.

Хід роботи.

1. У три пронумеровані пробірки наливають по 2-3 мл буферних розчинів з різним значенням рН (відповідно до таблиці).
2. У кожену доливають по 1 мл розбавленої слини і по 4-5 мл розчину крохмалю.
3. Перемішують та інкубують протягом 5-6 хвилин на водяній бані при температурі 37 °С.
4. В кожену пробірку додають по 1-2 краплі реактиву Люголя.

Результати досліджень записують у таблицю:

№ пробірки	рН середовища	Забарвлення з йодом	Продукти гідролізу
1.	5,0		
2.	6,8		
3.	8,0		

Спостереження та висновки:

3. Специфічність дії ферментів

Ферменти мають високу специфічність дії і цим забезпечують перебіг з великою швидкістю лише певних реакцій з величезного різноманіття можливих перетворень в мікропросторі клітин і цілісному організмі, регулюючи тим самим інтенсивність обміну речовин. Розрізняють ферменти з *відносною (груповою) та абсолютною специфічністю*. Доведено наявність *стереоспецифічності*,

обумовленої існуванням оптично ізомерних L- і D-форм або геометричних (цис- і транс-) ізомерів хімічних речовин.

Принцип методу. У разі дії на субстрат ферменту (крохмаль і сахарозу) в середовищі виявляються кінцеві продукти гідролізу. Сам же субстрат не виявляється.

3.1. Дія амілази і слини на крохмаль

Хід роботи.

1. Беруть 2 пробірки, наливають в них по 4-5 мл крохмалю.
2. У 1-у пробірку доливають 2 мл розбавленої слини, у 2-у – 2 мл суспензії дріжджів.
3. Вміст пробірок перемішують і інкубують на водяній бані при температурі 37 °С протягом 8-10 хвилин.
4. В кожен пробірку додають по 1-2 краплі розчину Люголя.

Спостереження та висновки:

3.2. Дія амілази і слини на сахарозу

Хід роботи.

1. У 2 пробірки наливають по 2 мл сахарози.
2. В одну з них доливають 2 мл слини, а в другу – 2 мл суспензії дріжджів.
3. Перемішують, інкубують 8-10 хвилин.
4. В кожен пробірку наливають 2-3 мл реактиву Фелінга.
5. Нагрівають до початку закипання.

Спостереження та висновки:

№	Фермент	Субстрат	Забарвлення	Продукти гідролізу
1.	Амілаза	Крохмаль		
2.	Сахараза	Крохмаль		
3.	Амілаза	Сахароза		
4.	Сахараза	Сахароза		

4. Вплив інгібіторів і активаторів на активність амілази слини

Принцип методу. Відомо, що одні речовини збільшують активність ферменту (активатори), а інші – зменшують або пригнічують її зовсім (інгібітори).

Про активність амілази судять за повнотою гідролізу крохмалю за рівний проміжок часу (за реакцією з реактивом Люголя).

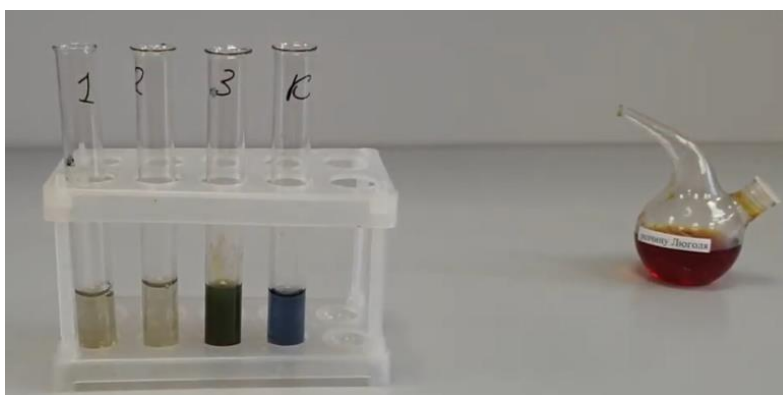
Хід роботи.

Готують три пробірки. В першу наливають 2,5 мл води, у другу – 2 мл води та 0,5 мл розчину NaCl, у третю – 2 мл води та 0,5 мл розчину CuSO₄. У всі пробірки

додають по 2,5 мл розчину слини, перемішують, вносять по 2,5 мл розчину крохмалю, потім знову перемішують і ставлять у термостат за температури 38 °С. Активатором амілази є NaCl, а інгібітором – CuSO₄. Вплив цих речовин на активність амілази визначають за ступенем гідролізу крохмалю під впливом ферменту за наявності NaCl і CuSO₄.

Через 5 хв додають по п'ять крапель розчину йоду. Рідина в першій пробірці забарвлюється у фіолетовий або червоний колір, у другій – у червоний або жовтий, у третій – у синій.

Спостереження та висновки:



Контрольні запитання та завдання

1. Назвіть основні способи виявлення ферментів у біологічних рідинах, проілюструйте відповідь способами визначення активності амілази слини.

2. Назвіть спільні властивості ферментів і неорганічних каталізаторів, специфічні властивості ферментів.

3. Назвіть функціонально активні ділянки молекули ферменту.

4. Які ферменти називають аллостеричними?

5. Побудуйте графіки залежності активності амілази слини від температури, від рН середовища.

6. Як швидкість ферментативної реакції залежить від концентрації ферменту, від концентрації субстрату? Побудуйте відповідні графіки.

7. Чому активатори підвищують ферментативну активність?

8. Як класифікують інгібітори ферментів? Поясніть механізм їх дії.

9. Внаслідок чого відбувається неспецифічне інгібування ферменту?

10. Поясніть механізм інгібуючої дії сульфату міді на активність ферменту. До якого типу інгібіторів він належить?

11. Поясніть механізм впливу кип'ятіння на активність ферменту. Запропонуйте інші методи інактивації амілази.

ТЕСТИ ПО РОЗДІЛУ «ФЕРМЕНТИ»

1. Доказом білкової природи ферментів є:
 - А. Здатність до осадження;
 - Б. Взаємодія з кислотами;
 - В. Висока молекулярна маса;
 - Г. Здатність до окиснення.
2. Доказами білкової природи ферментів є фізико-хімічні властивості, за винятком:
 - А. Амфотерність
 - Б. Термолабільність;
 - В. Залежність активності від рН середовища;
 - Д. Денатурація при дії кислот і лугів;
 - Г. Здатність до діалізу.
3. Спільними властивостями ферментів і неорганічних каталізаторів є:
 - А. Термолабільність;
 - Б. Залежність від ефекторів;
 - В. Специфічність дії;
 - Г. Каталіз лише термодинамічно можливих реакцій;
 - Д. Залежність від кількості субстрату.
4. Як називається ділянка молекули ферменту, яка відповідає за приєднання субстрату та його перетворення у продукт реакції?
 - А. Активний центр;
 - Б. Аллостеричний центр;
 - В. Адсорбційний центр;
 - Г. Гідрофобний центр;
 - Е. Контактний центр.
5. Які основні зв'язки беруть участь в утворенні фермент-субстратного комплексу?
 - А. Складноєфірні;
 - Б. Дисульфідні;
 - В. Глікозидні;
 - Г. Пептидні;
 - Д. Водневі, електростатичні, гідрофобні.
6. Що сприяє утворенню фермент-субстратного комплексу?
 - А. Просторова відповідність активного центру до субстрату;
 - Б. Відповідність аллостеричного центру до субстрату;
 - В. Наявність іонів металів в субстраті;

Г. Наявність іонів металів в аллостеричному центрі;

Д. Хімічний склад субстрату.

7. При якій температурі відбувається денатурація більшості ферментів ?

А. 10-0 °С;

Б. 10-20 °С;

В. 20-30 °С;

Г. 30-40 °С;

Д. 50-60 °С.

8. Стереохімічна специфічність ферменту це здатність:

А. каталізувати перетворення одного виду хімічних зв'язків;

В. каталізувати перетворення одного структурного ізомеру в інший;

С. каталізувати перетворення лише одного субстрату;

Д. каталізувати перетворення сполук D- або L-ряду;

Е. всі відповіді вірні.

9. Чи впливає концентрація субстрату і ферменту на швидкість ферментативних реакцій?

А. Не впливає;

В. Впливає при оптимальних умовах дії;

С. Впливає лише на початкову фазу реакції;

Д. Впливає на термінальну фазу реакції;

Е. Впливає тільки при $t = 25^{\circ}\text{C}$.

10. Які механізми зниження енергетичного бар'єру під час ферментативних реакцій?

А. Утворення додаткових ковалентних зв'язків між апо- і коферментом;

В. Утворення проміжного фермент- субстратного (ES) комплексу;

С. Участь макроергічних сполук (АТФ) у ферментативному каталізі;

Д. Зменшення площі контактної ділянки між ферментом і субстратом;

Е. Зміна конформації ферменту при дії аллостеричних ефекторів;

11. Прості ферменти складаються із:

А. Простетичної групи;

Б. Кофактора;

В. Поліпептидного ланцюга;

Г. Коферменту.

12. Який фермент володіє абсолютною специфічністю до субстрату:

А. Хімотрипсин;

Б. Папаїн;

В. Уреаза;

- Г. Аргіназа;
- Д Лізоцим.

13. Початковою стадією розщеплення білків у травному тракті людини є перетравлення білків у шлунку. Які ферменти беруть участь в цьому процесі?

- А. Пепсин;
- Б. Карбоксипептидаза та амінопептидаза;
- В. Ентеропептидаза та еластаза;
- Г. Трипсин та катепсини;
- Д. Хімотрипсин та лізоцим.

14. При якому значенні рН більшість ферментів виявляє максимальну активність:

- А. Кислому, рН...1,5-2;
- Б. Лужному, рН...8-9;
- В. Близькому до нейтрального;
- Г. При рН...7.

15. Оптимум рН для дії пепсину:

- А. 2-3;
- Б. 3-4;
- В. 1-2;
- Г. 4-5;
- Д. 6-8.

16. Яка температура є оптимальною для дії більшості ферментів:

- А. 50-60 °С;
- Б. 15-20 °С;
- В. 80-100 °С;
- Г. 35-40 °С.

17. Відомо, що при захворюваннях підшлункової залози порушується утворення та секреція трипсину. Травлення яких речовин порушене за даних умов?

- А. Білків;
- Б. Вуглеводів;
- В. Ліпідів;
- Г. Нуклеїнових кислот;
- Д. Фосфоліпідів.

18. У слині є фермент, якому притаманна сильна бактерицидна дія, обумовлена здатністю руйнувати глікозидні зв'язки пептидогліканів бактеріальної стінки. Назвіть його.

- А. Лізоцим (мурамідаза);
- Б. α -Амілаза;

- В. Рибонуклеаза;
- Г. Трипсин;
- Д. Фосфатаза.

19. В організмі безпосередньо знешкоджує токсичний пероксид водню:

- А. Каталаза;
- Б. Глутатіонпероксидаза;
- В. Супероксиддисмутаза;
- Г. Глутатіонредуктаза;
- Д. Ксантиноксидаза.

20. Яким ферментам властива абсолютна специфічність:

- А. Сахаразі, уреазі;
- Б. Амілазі;
- В. Пепсину, трипсину;
- Г. Алкогольдегідрогеназі;
- Д. Фосфатазі.

21. Як діють інгібітори під час конкурентного гальмування?

- А. Інгібітор з'єднується з контактною ділянкою активного центру ферменту;
- Б. Інгібітор приєднується до фермент-субстратного комплексу;
- В. Інгібітор зв'язується з коферментом;
- Г. Інгібітор з'єднується з ферментом в аллостеричному центрі;
- Д. Інгібітор з'єднується з субстратом.

22. Активатором трипсиногену виступає:

- А. Соляна кислота;
- Б. Ентерокіназа;
- В. Хімотрипсиноген;
- Г. Карбоксипептидаза;
- Д. Амілаза.

23. Ціаніди блокують дію цитохромоксидази, сполучаючись з іонами заліза, які входять до активного центру ферменту. Який вид гальмування (інгібування) має місце?

- А. Конкурентне;
- Б. Аллостеричне;
- В. Неконкурентне;
- Г. Зворотне;
- Д. Безконкурентне.

24. У новонародженого спостерігається диспепсія після годування молоком. При заміні молока розчином глюкози симптоми диспепсії зникають.

Недостатня активність якого ферменту спостерігається у новонародженого?

- А. Лактаза;
- Б. Сахараза;
- В. Мальтаза;
- Г. Амілаза;
- Д. Ізомальтаза.

25. Важливим ферментом слини є лужна фосфатаза. До якого класу ферментів вона належить?

- А. Гідролаз;
- Б. Трансфераз;
- В. Оксидоредуктаз;
- Г. Ліаз;
- Д. Лігаз.

26. Хімотрипсин, який синтезується підшлунковою залозою, у порожнині кишечника піддається обмеженому протеолізу з перетворенням в активний хімотрипсин. Під дією якого ферменту це відбувається?

- А. Трипсину;
- Б. Ентерокінази;
- В. Карбоксипептидази;
- Г. Пепсину;
- Д. Амінопептидази.

27. З віком знижується секреторна активність привушних слинних залоз. Активність якого ферменту слини буде різко зменшуватись?

- А. Амілази;
- Б. Гексокінази;
- В. Реніну;
- Г. Мальтази;
- Д. Фосфатази.

28. α -Амілаза слини має здатність розщеплювати поживні речовини. На які субстрати вона може діяти?

- А. Вуглеводи;
- Б. Ліпіди;
- В. Прості білки;
- Г. Нуклеопротейди;
- Д. Хромопротейди.

29. У слині є фермент, який здатний руйнувати α -1,4-глікозидні зв'язки в молекулі крохмалю. Вкажіть його.

- А. β -Галактозидаза;
- Б. α -Амілаза;

- В. Фосфатаза;
- Г. Фруктофуранозидаза;
- Д. Лізоцим.

30. В анаеробних умовах можуть жити лише ті організми, які в процесі еволюції не створили захисту від H_2O_2 . Які з перелічених ферментів можуть руйнувати цю токсичну сполуку?

- А. Пероксидаза і каталаза;
- Б. Оксигенази та гідроксилази;
- В. Оксигеназа та каталаза;
- Г. Цитохромоксидаза, цитохром В.

31. Необхідно оцінити перетравлюючі властивості слини. З яким субстратом для цього її треба змішати?

- А. Казеїном;
- Б. РНК;
- В. Жиром;
- Г. Крохмалем;
- Д. ДНК.

32. Структурною особливістю регуляторних ферментів є наявність аллостеричного центру. Вкажіть його роль.

- А. Зв'язує кофермент;
- Б. Зв'язує субстрат;
- В. Змінює структуру субстрата;
- Г. Сприяє дисоціації кофермента;
- Д. Зв'язує регуляторний ефектор.

33. Фермент здійснює перенос функціональної групи від одного субстрата до другого. Вкажіть клас цього ферменту.

- А. Трансфераза;
- Б. Ізомераза;
- В. Оксидоредуктаза;
- Г. Лігаза;
- Д. Гідролаза.

34. Фермент оксидаза D-амінокислот каталізує дезамінування тільки D-амінокислот. Яка властивість ферментів виявляється при цьому?

- А. Стереохімічна специфічність;
- Б. Термолабільність;
- В. Відносна специфічність;
- Г. Залежність від рН;
- Д. Абсолютна специфічність.

35. Ферменти є каталізаторами органічної природи. Вкажіть спільні

властивості для ферментів і неорганічних каталізаторів.

- А. Специфічність дії;
- Б. Залежність від рН середовища;
- В. Каталіз лише термодинамічно можливих реакцій;
- Г. Залежність від кількості субстрату;
- Е. Залежність від дії ефектору.

36. В ферментативних процесах основна роль належить активному центру. Активний центр ферменту представляє собою:

- А. Частину молекули, яка легко відщеплюється від апоферменту;
- Б. Частину молекули ферменту, яка зв'язується з субстратом і забезпечує подальше його перетворення;
- В. Місце приєднання аллостеричного ефектора;
- Г. Небілковий компонент;
- Е. Будь-яку частину поліпептидної структури ферменту.

37. Як називаються ферменти, що каталізують одну й ту саму реакцію, але відрізняються первинною структурою, фізико-хімічними властивостями?

- А. Холоферменти;
- Б. Апоферменти;
- В. Коферменти;
- Г. Ізоферменти;
- Е. Проферменти.

38. Швидкість ферментативних процесів залежить від ряду факторів. Концентрація субстрату впливає на швидкість ферментативних процесів шляхом:

- А. Підвищення температури середовища;
- Б. Денатурації ферменту;
- В. Насичення аллостеричних центрів;
- Г. Блокування аллостеричного центра;
- Д. Насичення активного центру.

РОЗДІЛ 4

ВУГЛЕВОДИ

ПЛАН

1. Функції й класифікація вуглеводів.
2. Обмін вуглеводів (перетравлення, гліколіз, баланс енергії в реакціях гліколізу, поняття про глікогенез).

1. Функції й класифікація вуглеводів

Вуглеводи поряд з білками й ліпідами є найважливішими хімічними сполуками живих організмів. Підраховано, що в природі вуглеводів більше, ніж всіх узятих разом органічних сполук. В організмі тварин і людини вуглеводи виконують досить важливі функції:

1) Насамперед **енергетичну** (головний вид клітинного палива), **структурну** (обов'язковий компонент більшості внутрішньоклітинних структур).

2) **Захисну й опорну**, це основні компоненти оболонки рослинних і тваринних клітин, беруть участь у побудові зовнішнього скелету комах і ракоподібних, велике значення полісахаридів у підтримці імунітету, а також при стресі – рослинні цукри зв'язують воду, утримуючи її в клітині, та з'єднуються з білками і нуклеїновими кислотами, стабілізуючі їхні молекули у несприятливих умовах.

3) **Пластичну** - вуглеводи також використовуються для синтезу нуклеїнових кислот (рибоза, дезоксирибоза), вони є складними компонентами нуклеотидних коферментів, що грають винятково важливу роль у метаболізмі живих істот.

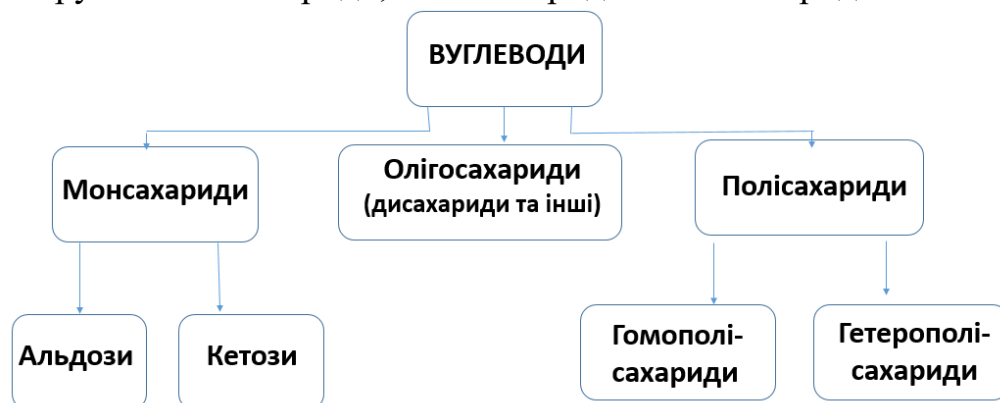
4) Виконують функцію **запасних живильних речовин** (глікоген, цукри, крохмаль, фруктозани).

5) Вуглеводи виконують також **осмотичну** (цукри, розчинені у клітинному соку), **регуляторну** (активність фітогормонів) та **сигнальну** (беруть участь у розпізнаванні патогенів, які потрапляють у клітину).

У складі тіла людини й тварин вуглеводів присутні в меншій кількості (не більше 2 % від сухої маси тіла), чим білки й ліпіди. У рослинних організмах на частку вуглеводів доводиться до 80 % сухої маси, тому в цілому в біосфері вуглеводів більше, ніж усіх інших органічних сполук, разом узятих.

Органічним сполукам, які відносяться до вуглеводів, дають назву залежно від кількості атомів вуглецю, що входить у молекулу, з додаванням закінчення «оза». Якщо частка містить 3 атоми вуглецю, то її називають триозою, якщо 4 атоми - тетрозною, якщо в молекулі є 5 атомів вуглецю, то це буде пентоза, 6 атомів - гексоза, 7 атомів - гептоза і т.п.

Відповідно до прийнятої в цей час класифікації, вуглеводи підрозділяються на три основні групи: моносахариди, олігосахариди й полісахариди.



ТРИОЗИ (C₃H₆O₃)

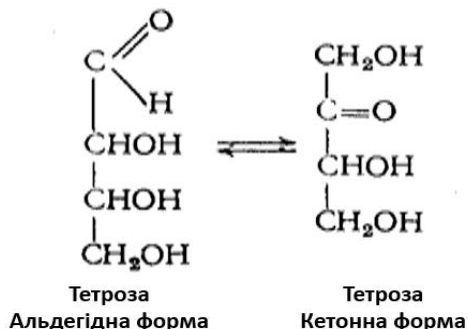
Триози є представниками найпростіших моносахаридів, які утворюються в організмі людини, тварин і рослин як проміжні продукти розпаду в основному складних вуглеводів. До них відносяться гліцериновий альдегід (I), діоксиацетон (II) і ін.



ТЕТРОЗИ (C₄H₈O₄)

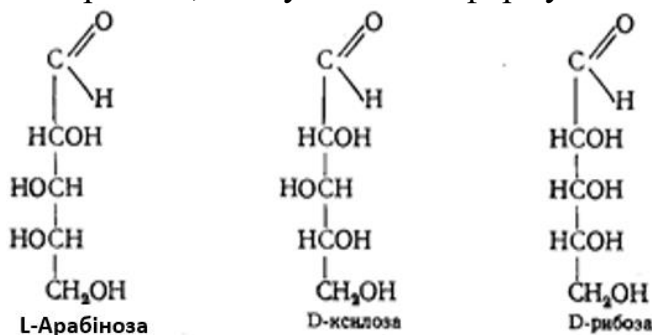
У групу моносахаридів - тетроз входять речовини, які утворюються в організмі при розпаді більш складних вуглеводів. Представником тетроз є еритроза, що в альдегідній формі зустрічається в пентозному циклі розпаду вуглеводів.

Формула тетрози:

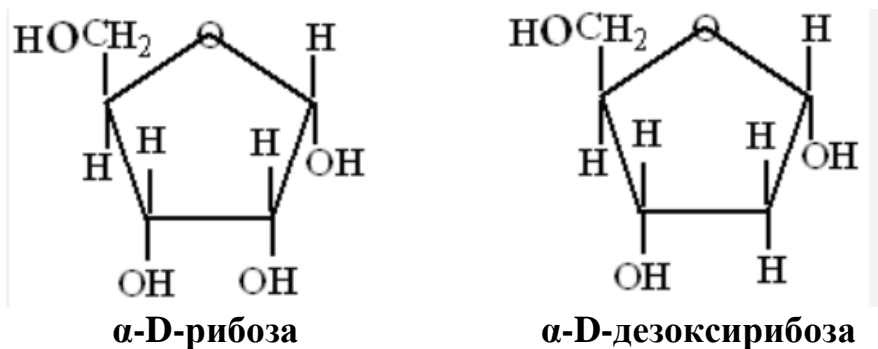


ПЕНТОЗИ ($C_5H_{10}O_5$)

Пентози у вільному виді не зустрічаються, але вони широко поширені в природі в складі складних сполук - пентозанів. Представниками пентоз є арабіноза, ксилоза, рибоза й дезоксирибоза. Їхні формули:

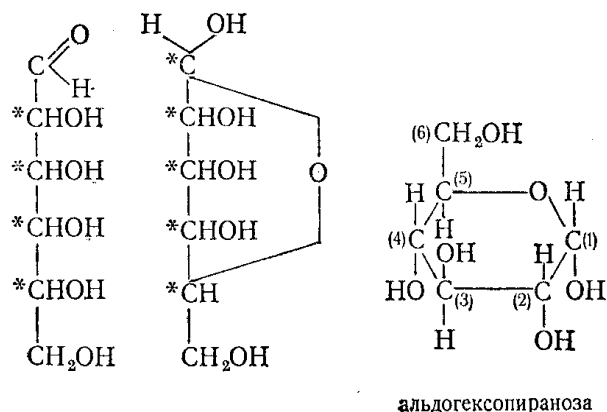


У звичайних умовах в організмі пентози зустрічаються не лінійної структури, а циклічної, за рахунок чого виникає додатковий асиметричний атом вуглецю, тому з'являються α - і β - форми моносахаридів.



ГЕКСОЗИ ($C_6H_{12}O_6$)

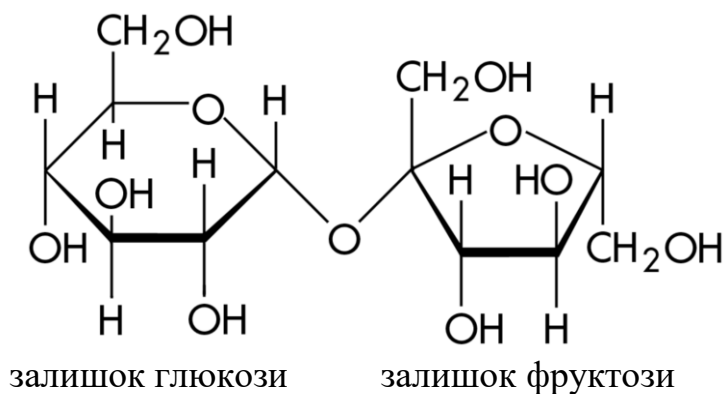
Гексози зустрічаються також у двох таутомерних формах - відкритій й циклічній



ОЛІГОСАХАРИДИ

Основна маса олігоцукрів представлена дисахаридами, серед яких важливу роль для організму тварин грають сахароза, мальтоза й лактоза. Дисахарид целлобіоза має важливе значення для життя рослин.

Сахароза складається із глюкози й фруктози, з'єднаних між собою по типу простого ефіру за рахунок полуацетальних гідроксилів, пов'язаних із C₁ глюкози й C₂ фруктози. Її будова:



Полісахариди, що зустрічаються у тваринних і рослинних організмах, розділяються на гомо- і гетеро полісахариди. При гідролізі гомополісахаридів утворюються моносахариди одного типу - тільки глюкоза (наприклад, крохмаль, глікоген) або тільки фруктоза (інулін). При гідролізі гетерополісахаридів поряд з різними моносахаридами утворюються і їхні похідні - гексозаміни, а також глюкуронова, оцтова, сірчана й нейрамінова кислоти.

2. Обмін вуглеводів (перетравлення, гліколіз, баланс енергії в реакціях гліколізу, поняття про глікогенез).

Вуглеводний обмін в організмі людини складається в основному з наступних процесів.

1. Розщеплення в шлунково-кишковому тракті до моносахаридів, які потрапляють з їжею полісахаридів і дисахаридів. Всмоктування моносахаридів з кишечника в кров.

2. Синтез і розпад глікогену в тканинах, насамперед у печінці.

3. Анаеробне й аеробне розщеплення глюкози. У тканинах існують два основних шляхи розпаду глюкози: анаеробний шлях гліколізу (*термін «гліколіз» означає розщеплення цукрів*), що йде без споживання кисню, і аеробний шлях прямого окиснення глюкози, або ще його називають, пентозофосфатний шлях.

4. Взаємоперетворення гексоз.

5. Нарешті, досить важливим є процес глюконеогенезу, або утворення вуглеводів з неуглеводних продуктів. Такими продуктами є в першу чергу піровиноградна й молочна кислоти, гліцерин, амінокислоти й ряд інших сполук.

Перетравлення вуглеводів.

Находячи в порожнину рота, їжа піддається дії ферменту - **α -амілази** слини, у результаті чого полісахарид частково розпадається на дисахарид - мальтозу (несолодкий шматочок білого хліба здобуває в роті солодкий смак). У порожнині шлунку вуглеводи не можуть розщеплюватися, тому що там немає відповідного ферменту, а амілаза слини, що потрапила з їжею, не може виявити своєї дії, тому що шлунковий сік у нормі має кислу реакцію - рН 1,6-2,2 (оптимум же рН для амілази 6,8 -7,2).

Основне перетравлення вуглеводів відбувається у дванадцятипалій кишці й у наступних відділах тонкого кишечника. Панкреатична **α -амілаза** розщеплює крохмаль (розриваючи 1-4 зв'язки) на ряд проміжних продуктів, названих декстринами. Схематично процес можна зобразити в такий спосіб:



У декстринів 1-4 зв'язки розриває фермент, що одержав назву **β -амілаза** (ендоамілаза), тому що утвориться дисахарид мальтоза, що розщеплюється **мальтазою** на 2 молекули D-глюкози.

Недавно відкритий фермент **γ -амілаза**, називана глюкоамілазою, вона розриває також зв'язки 1-4 у молекулі крохмалю з утворенням глюкози.

Таким чином, під впливом трьох зазначених вище ферментів у травному тракті будуть перебувати й декстрини, і мальтоза, і глюкоза.

Аналогічно крохмалю гідролізується й інші полісахариди за винятком клітковини, тому що в людини немає ферменту, що розщеплює цей полісахарид, у якому є β -глюкозидний зв'язок.

У кишковому соку містяться ферменти, які розщеплюють олігосахариди - сахарозу, лактозу й трегалозу на моносахариди. Ці ферменти мають абсолютну специфічність, що проявляється в тім, що сахараза не буде розщеплювати лактозу, а лактаза не буде розщеплювати сахарозу, тому що характер зв'язку між молекулами неоднаковий.

Гліколіз. Гліколіз - це анаеробний процес, що призводить до розпаду однієї молекули глюкози на дві молекули молочної кислоти. При цьому звільняється

енергія, яку організм акумулює у формі АТФ. Реакції гліколізу протікають у цитозолі, без споживання кисню. В анаеробних умовах гліколіз - єдиний процес в організмі тварин, рослин і багатьох бактерій, що поставляє енергію.

Сумарна реакція гліколізу може бути представлена в такий спосіб:



При аеробному розщепленні глюкози один з кінцевих продуктів гліколізу — піровиноградна кислота окислюється до CO_2 і H_2O в циклі трикарбонових кислот. Реакція цього циклу здійснюється в мітохондріях за участі кисню.

Сам гліколіз протікає у дві стадії.

Перша стадія - підготовча. На цій стадії різні гексози вступають в реакції гліколізу. Хоча в реакціях гліколізу окислюється головним чином глюкоза, поряд з нею можуть вступити в цей процес інші різні гексози, наприклад фруктоза, манноза. При цьому інертні молекули гексоз активуються, фосфорилуються за рахунок АТФ, перетворюються в глюкозо-6-фосфат. Цей етап закінчується утворенням гліцеральдегід-3-фосфата.

Друга стадія - окисна. Гліцеральдегід-3-фосфат окислюється до піровиноградної кислоти (пірувату) або молочної кислоти (лактату). Енергія окислювання накопичується в АТФ, крім того утворюється НАДН.

Гліколіз по суті незворотній процес, для якого стан рівноваги зміщений майже повністю убік утворення лактату. Процес гліколізу каталізується 11 ферментами.

1. Ланцюг реакцій гліколізу починається з фосфорилування D-глюкози за рахунок АТФ. Це перша пускова реакція гліколізу, вона є однією з ключових у цьому процесі.



Цю реакцію каталізують ферменти двох типів, що розрізняються по своїй специфічності відносно цукрів – *гексокінази й глюкокінази*. Гексокіназа відіграє основну роль, саме вона функціонує в більшості кліток. Гексокіназа здатна каталізувати фосфорилування не тільки D-глюкози, але також і багатьох інших гексоз, наприклад D-фруктози, D-маннози й D-глюкозаміну.

Глюкокіназа фосфорилує тільки D-глюкозу. Вона вступає в дію тільки в тому випадку, коли концентрація глюкози в крові дуже висока.

2. Друга реакція - ізомеризація глюкозо-6-фосфату у фруктозо-6-фосфат:



3. Третя реакція - фосфорилування фруктозо-6-фосфату з утворенням фруктозо-1,6-дифосфата. Це друга пускова реакція гліколізу, у ній використовується друга молекула АТФ:

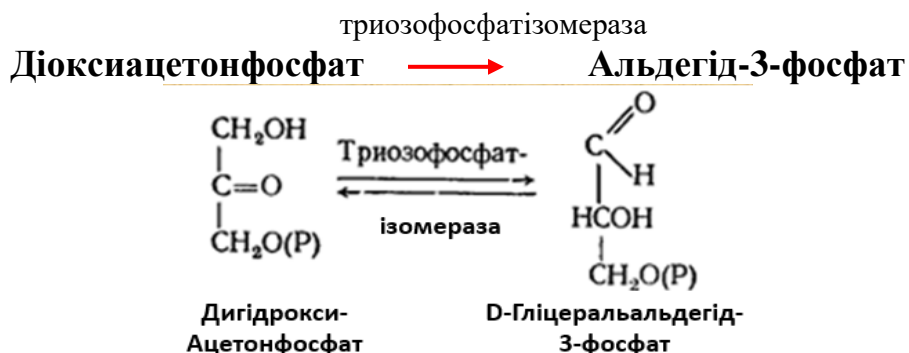


Реакція необоротна. Вона протікає при участі ферменту **фосфофруктокінази** в присутності іонів Mg^{2+} .

4. Четверта реакція - розщеплення фруктозо-1, 6-дифосфата.



5. П'ята реакція - ізомеризація триозофосфатів. Із триозофосфатів, що утворилися у наступні реакції гліколізу безпосередньо включається тільки один - глицеральдегід-3-фосфат. У нього перетворюється дигідроксиацетонфосфат в оборотній реакції:

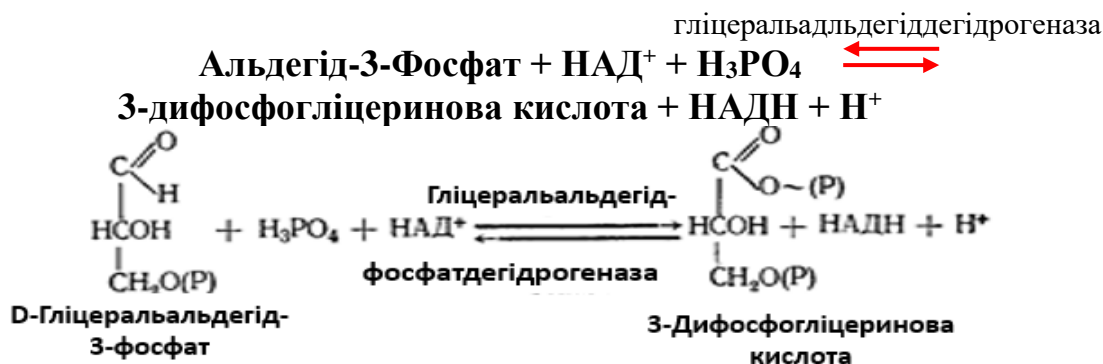


Каталізує реакцію фермент *триозофосфатізомераза*.

Утворенням фосфотріоз завершується перша стадія гліколізу. Молекула глюкози шляхом двох фосфорилувань і розщеплення перетворилася у 2 молекули фосфотріоз.

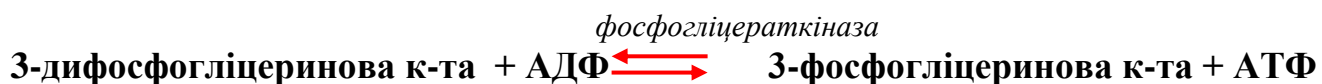
Друга стадія гліколізу включає окислювально-відновні реакції й реакції фосфорилування, у процесі яких генерується АТФ. На цій стадії окислюються обидві молекули фосфотріоз, тобто дві половини молекули глюкози. Тому у всіх інших реакціях поперед формули субстрату варто поставити коефіцієнт 2.

6. Шоста реакція - центральний етап гліколізу - являє собою окислювально-відновний процес. Альдегідна група глицеральдегід-3-фосфату окислюється в COOH -групу 1, 3-дифосфогліцеринової кислоти, НАД^+ відновлюється в НАДН . Сумарне рівняння реакції наступне:

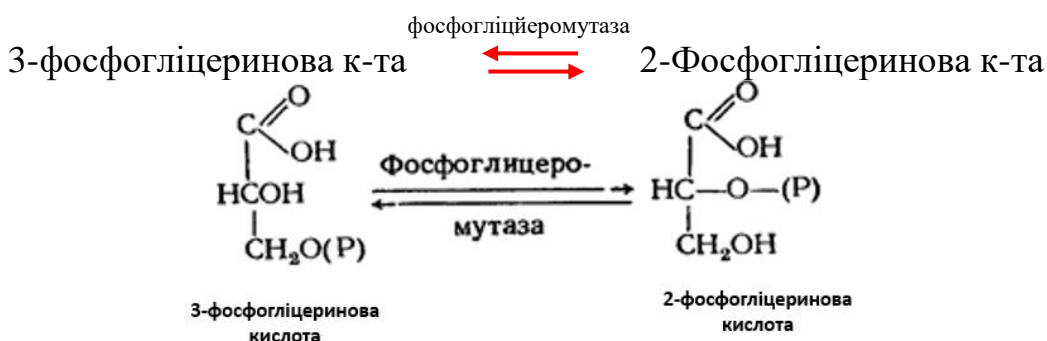


Звільняється енергія, за рахунок якої утворюється високоенергетичний зв'язок 1,3-дифосфогліцеринової кислоти. Таким чином, у цій реакції відбувається субстратне фосфорилування.

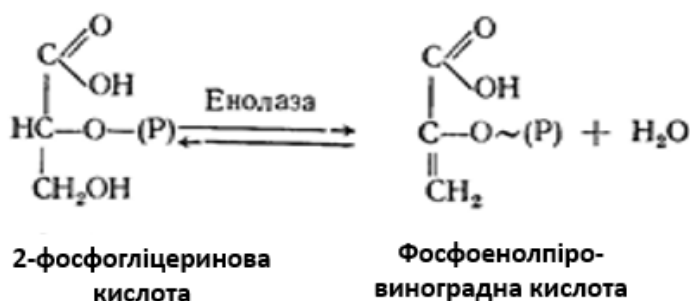
7. Сьома реакція - багата енергією фосфорильна група 1,3-дифосфогліцеринової кислоти переноситься на АДФ із утворенням АТФ:



8. Восьма реакція — фосфатна група 3-фосфогліцеринової кислоти переноситься з положення 3 у положення 2:



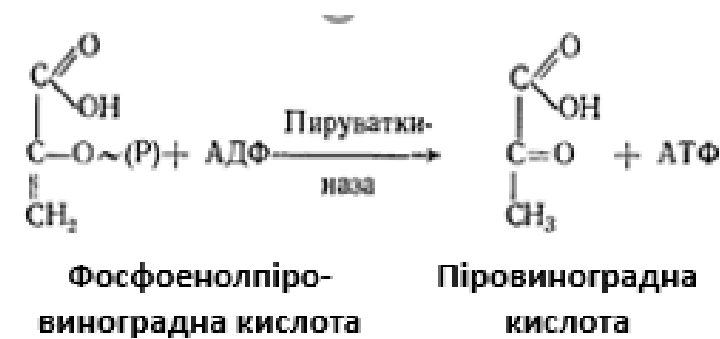
9. Дев'ята реакція. У результаті її протікання утворюється високоенергетична сполука фосфоенолпірвіиноградної кислоти. Таким чином, при цьому також відбувається субстратне фосфорилування. Формально реакція являє собою відщиплення молекули води:



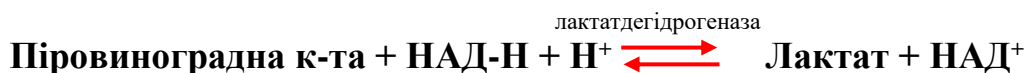
10. Десята реакція - перенос фосфорильної групи разом з високоенергетичним зв'язком від фосфоенолпірвіиноградної кислоти на АДФ:



Ця реакція незворотня.



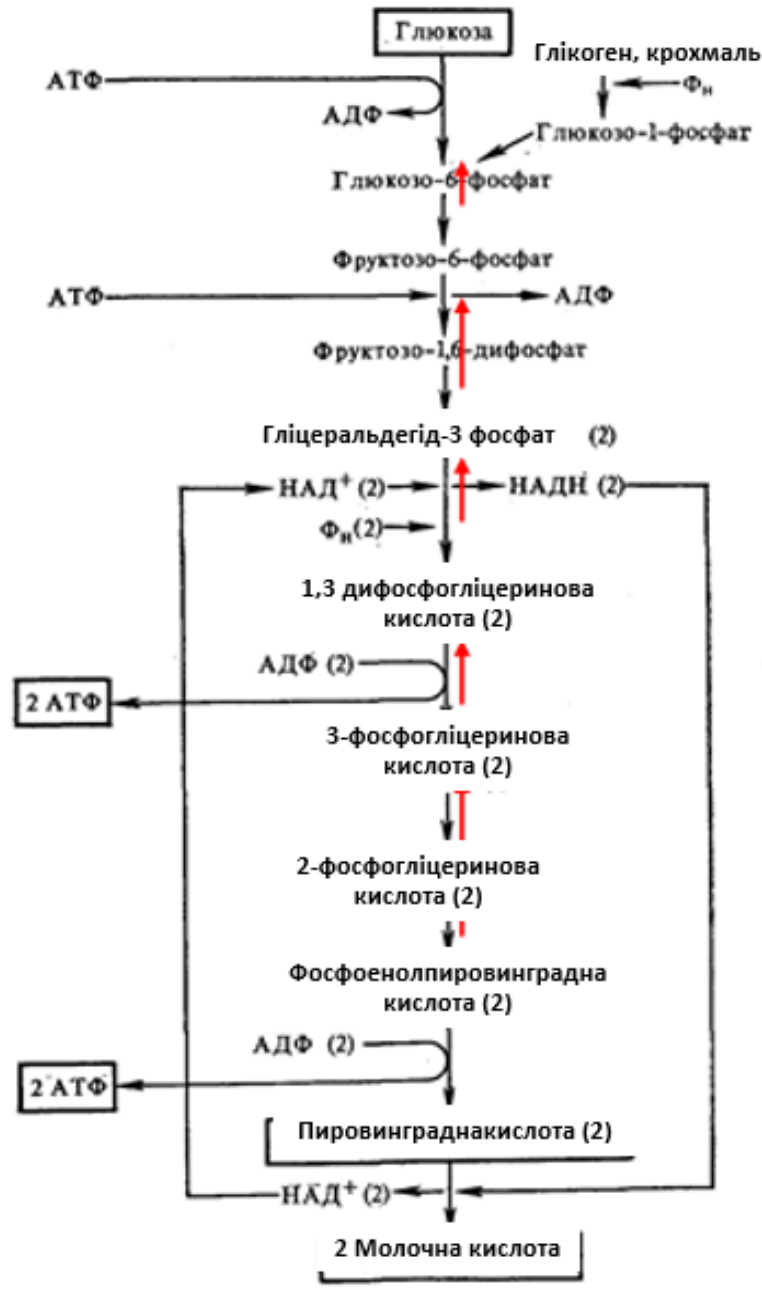
11. В одинадцятій реакції відбувається відновлення піровиноградної кислоти (ПВК) до молочної за участю НАДН:



Одинадцята реакція завершує процес гліколізу. На її рівні здійснюється регуляція гліколізу за допомогою ізоферментів лактатдегідрогенази. **Молочна кислота - це своєрідний тупик у метаболізмі.** В аеробних умовах вона може перетворюватися тільки у ПВК шляхом обігу лактатдегідрогеназною реакції. В анаеробних умовах молочна кислота - кінцевий продукт гліколізу, наприклад у м'язах при значних фізичних навантаженнях. Тоді з м'язів у кров надходить велика кількість молочної кислоти. У печінці, а частково й у самих м'язах приблизно однієї п'ята кількості молочної кислоти окислюється до O_2 і H_2O в аеробній фазі подиху. Останні 4/5 лактату ресинтезуються в глікоген.

Баланс енергії в реакціях гліколізу. У ході гліколізу кожна шестивуглецева молекула D-глюкози перетворюється у дві тривуглецеві молекули молочної кислоти. При цьому в першу стадію гліколізу витрачаються дві молекули АТФ для активування субстрату (у гексокиназної і фосфофруктокиназної реакціях). У другу стадію гліколізу АТФ утворюється у двох реакціях: при дії фосфоглицераткинази й пируваткинази. Оскільки кожна молекула глюкози дає дві молекули гліцеральдегід-3-фосфати, усього виходить чотири молекули АТФ. Але тому що дві з них витрачаються в першій стадії, у результаті гліколізу утворюються тільки дві молекули АТФ на одну молекулу глюкози.

Таким чином, енергетична ефективність гліколізу, його КПД становить ~35 %. Отже, лише 1/3 енергії, що виділяється при окисному розщепленні глюкози до молочної кислоти, запасється організмом у високоенергетичних зв'язках АТФ.



Крім того, у ході реакцій гліколізу утвориться багато високо реакційних сполук. Вони використовуються в різноманітних метаболічних реакціях. Значення гліколізу особливо велике в тканинах і органах, де обмежений доступ кисню або можливо раптове й різке зростання швидкості споживання АТФ. Наприклад, у серцевому м'язі швидкість споживання АТФ може зрости в 10 разів, а в працюючому кістяковому м'язі - більш ніж в 100 разів. У цих випадках потреба в АТФ якоюсь мірою задовольняється за рахунок аеробної фази подиху, але вона

обмежена припливом кисню. У таких обставинах кістякові м'язи (у меншій мері - серцеві) отримують додаткову кількість АТФ за рахунок гліколізу.

Анаеробному розщепленню можуть піддаватися глюкозні залишки глікогену, цей процес називається **глікогенолізом**. Включення глікогену в процес анаеробного розпаду здійснюється трьома ферментами.

1. Глікоген-фосфорилаза й аміло-1,6-глюкозидаза (ізоамілаза) розщеплюють глікоген до глюкозо-1-фосфата.

2. Далі фосфоглюкомутаза перетворює останній у глюкозо-6-фосфат, що включається у звичайні реакції гліколізу. Оскільки при глікогенолізі на утворення глюкозо-6-фосфату АТФ не витрачається, у процесі глікогенолізу накопичуються не дві, а три молекули АТФ на молекулу глюкози. Однак це не означає, що глікогеноліз енергетично більше вигідно, чим гліколіз, тому що на синтез глікогену із глюкози АТФ витрачається у кількості 3 молекул.

Лабораторна робота № 4

ЯКІСНІ РЕАКЦІЇ НА ВУГЛЕВОДИ

Мета: Перевірити теоретичні знання з теми «Вуглеводи», познайомити з методами, що дозволяють визначити наявність вуглеводів у розчинах.

Завдання: навчити проводити якісні реакції на вуглеводи.

Основні теоретичні відомості

Прості вуглеводи (моносахариди, або монози, або прості цукри) – це полігідроксиальдегіди або полігідроксикетони. Вони класифікуються на альдози та кетози залежно від наявності альдегідної або кетогрупи. Інша класифікація залежить від кількості атомів карбону (триози, тетрози, пентози, гексози, гептози і так далі). Ці дві класифікації зручно поєднувати. Найпоширенішими моносахаридами є альдогексози, альдопентози, кетогексози. Альдози можуть окислюватися до відповідних кислот, одночасно відновлюючи солі металів. Ця властивість використовується для проведення якісних та кількісних реакцій для їх виявлення.

Складні вуглеводи у процесі гідролізу розпадаються на прості (прості вуглеводи не гідролізуються). Дисахариди – це найпростіші складні цукри. Вони складаються з двох моносахаридів, з'єднаних глікозидним зв'язком. Дисахариди поділяються на відновлювальні та невідновлювальні (редуючі та нередуючі). Відновлювальні дисахариди (наприклад лактоза, целобіоза чи мальтоза) можуть окислюватися до відповідних кислот, відновлюючи солі металів. Таким чином, ці дисахариди беруть участь у реакціях, характерних для моносахаридів-альдоз. Але

нередукуючі дисахариди (наприклад сахароза) в подібні реакції не вступають. Для їх виявлення найчастіше використовують методи, що ґрунтуються на гідролізі дисахаридів до моносахаридів із наступним виявленням продуктів гідролізу – моносахаридів.

Полісахариди розрізняються за довжиною ланцюга, хімічною природою мономерних одиниць, що повторюються (якщо мономери однакові, це гомополісахариди, якщо різні – гетерополісахариди), ступенем розгалуження (нерозгалужені, або лінійні, полісахариди мають однакові зв'язки між монозами; у розгалужених полісахаридах монози з'єднані різними зв'язками). Полісахариди не містять вільних редукуючих груп, тому вони не мають відновлювальної здатності. Продуктами повного гідролізу полісахаридів за наявності кислот чи специфічних ферментів є моносахариди, які мають редукуючі властивості.

Крохмаль – основний резервний вуглевод рослин. Він складається з двох гомополісахаридів – амілози та амілопектину, мономерними ланками яких є глюкоза. Амілоза має лінійну структуру, залишки глюкози з'єднані між собою *α -1,4-глікозидними* зв'язками. Вторинна структура амілози має вигляд спіралі, внутрішній діаметр якої відповідає розміру молекули йоду (0,5 нм). Тому за наявності молекулярного йоду в розчині він вбудовується в спіраль амілози з утворенням нестійких комплексів, що зумовлює синє забарвлення. Амілопектин має значно більшу молекулярну масу, ніж амілоза, він не дає позитивної йод-крохмальної реакції, під час нагрівання утворює клейстер. Основний тип зв'язку між залишками глюкози – α -1,4- глікозидний, так само, як і в молекулі амілози. Але через кожні 25–30 моноз зв'язок між ними – *α -1,6-глікозидний*, це місця або точки розгалуження ланцюга.

Аналог рослинного крохмалю у тварин – глікоген. Він також є гомополісахаридом. Будова глікогену нагадує будову амілопектину – залишки глюкози з'єднані між собою такими самими зв'язками, але місця розгалуження частіші – через кожні 5–6 моноз. Кінцевим продуктом гідролізу як крохмалю, так і глікогену є глюкоза.

Питання для самопідготовки:

1. Визначення, класифікація та біологічна роль вуглеводів.
2. Моносахариди, їх класифікація (триози, пентози, гексози).
3. Триози: будова і біологічна роль (гліцериновий альдегід, діоксиацетон, фосфорні ефіри триоз).
4. Пентози: будова і біологічна роль рибози, дезоксирибози і рибулози. Фосфорні ефіри пентоз: рибозо-1-фосфат; рибозо-5-фосфат.
5. Гексози: глюкоза, галактоза і фруктоза.

6. Дисахариди: визначення, будова, глікозидний зв'язок між залишками моносахаридів, значення окремих дисахаридів у тваринництві (сахароза, трегалоза, мальтоза, лактоза, целобіоза).

7. Полісахариди: визначення, класифікація, відмінності у складі і будові гомо- і гетерополісахаридів.

8. Гомополісахариди: крохмаль, глікоген, клітковина, агар-агар. Їх склад, будова, властивості, біологічна роль. Продукти гідролізу крохмалю і клітковини.

9. Кислі та нейтральні гетерополісахариди. Склад, структура і біологічна роль гіалуронової, хондроїтинсульфатної кислоти і гепарину.

1. Реакція крохмалю з йодом

Матеріали та реактиви: реактив Люголя (1 г йоду та 2 г йодистого калію розчиняють у 15 мл води й потім розводять водою до об'єму 300 мл); 0,1 %-й розчин крохмалю, 10 %-й розчин гідроксиду натрію чи калію.

Хід роботи.

У пробірку наливають 2 мл розчину крохмалю, додають одну-дві краплі розчину Люголя. Вміст пробірки перемішують. Унаслідок взаємодії крохмалю з йодом утворюється комплексна адсорбційна сполука синього кольору. Переносять 1 мл рідини в іншу пробірку, куди додають 1 мл розчину гідроксиду натрію чи калію. Спостерігають знебарвлення вмісту пробірки, що свідчить про взаємодію молекулярного йоду з лугом.

Суміш, що залишиться в пробірці, нагрівають на водяній бані. Спостерігають зникнення синього забарвлення (розчин стає жовтим через вміст йоду). Синій колір знову з'являється під час охолодження. Зникнення забарвлення внаслідок нагрівання зумовлене руйнуванням вторинної структури амілози і вивільненням йоду, з охолодженням вторинна структура відновлюється, нестійкі комплекси крохмалю з йодом також відновлюються, тому колір знову стає синім.



2. Реакція з α -нафтолом і тимолом (Реакція Моліша)

Принцип методу. У сильноокислому середовищі вуглеводи утворюють з α -нафтолом і тимолом комплекси фіолетового і червоного кольору, відповідно.

Повідомлення про відкриття їм реакцію опублікував 1886 року австрійський ботанік Ганс Моліш. Це дуже чутливий тест на вуглеводи, заснований на дегідратації вуглеводу сірчаною кислотою з перетворенням його на альдегід, який реагує з двома молекулами фенолу - α -нафтолу, резорцину або тимолу - з утворенням червоної або фіолетової сполуки.

Хід роботи.

1. Пронумерувати 4 пробірки.
2. В 1-у і 3-ю налити по 2 мл води.
3. У 2-у і 4-у – по 2 мл розчину сахарози.
4. В 1-у і 2-у пробірки додати по 10 крапель α -нафтолу.
5. У 3-ю і 4-у – по 2-3 краплі тимолу.
6. У всі пробірки підливають по стінці (не перемішуючи) 1-2 мл концентрованої сульфатної кислоти (**обережно!**).

Спостереження внести в таблицю.

Спостереження і висновки:



№ пробірки	Компоненти	Діюча речовина	Забарвлення розчину
1	2 мл H ₂ O	α -нафтол	
2	2 мл розчину сахарози	α -нафтол	
3	2 мл H ₂ O	тимол	
4	2 мл розчину сахарози	тимол	

3. Реакція Троммера

Реакція Троммера — якісна реакція для визначення наявності моносахаридів-альдоз, що ґрунтується на окисненні альдоз гідроксидом міді (II) із випадінням червоного осаду оксиду міді Cu_2O .

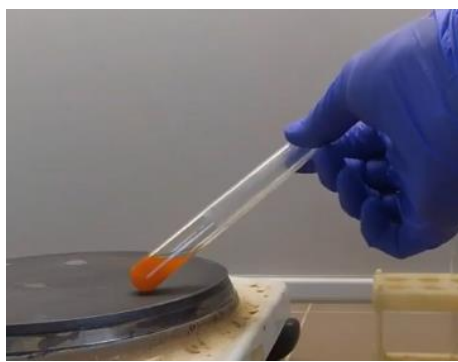
Матеріали та реактиви: розчини глюкози, гідроксиду натрію, сульфату міді (всі 0,5 %-і).

Хід роботи.

Розчини альдоз (наприклад, глюкози) у лужному середовищі відновлюють під час нагрівання оксиду міді (II) у геміоксид міді, а самі окислюються до альдонових кислот.

У пробірку до 0,5 мл розчину гідроксиду натрію додають дві краплі розчину сульфату міді. Випадає осад гідроксиду міді(II) блакитного кольору. Додають 1 мл розчину глюкози, вміст пробірки перемішують. Осад розчиняється, а розчин набуває синього забарвлення. Під час його обережного нагрівання в полум'ї пальника до кипіння і спостерігається випадіння жовтого осаду гідроксиду міді (I) або червоного осаду геміоксиду міді.

Спостереження і висновки:



4. Реакція з реактивом Фелінга

Реактив Фелінга — аналітичний реактив, що застосовується для якісного визначення наявності альдегідної групи у деяких органічних сполуках, зокрема вуглеводах (головним чином у моносахаридах). Реактив був запропонований у 1849 році Германом Фелінгом.

Принцип методу. Моносахариди (альдози) та відновлюючі дисахариди в лужному середовищі відновлюють гідроксид міді (II), що міститься в реактиві Фелінга, в оксид міді (I) червоного кольору, та за його утворенням судять про наявність у пробі відновлюючих вуглеводів.

У пробірку додають 1 мл розчину глюкози та 1 мл реактиву Фелінга. В реактиві Фелінга іони міді (II) перебувають у вигляді комплексної сполуки з

тартратами. Механізм реакції всіх редукуючих вуглеводів із реактивом Фелінга такий самий, як і в реакції Троммера. Перевагою реактиву Фелінга є те, що мідь у разі надлишку реактиву не випадає у вигляді оксиду міді (II).

Хід роботи.

1. Взяти дві пробірки.
2. В одну налити 2-3 мл розчину глюкози.
3. У другу – 2-3 мл дистильованої води.
4. В обидві пробірки додати по 2-3 мл реактиву Фелінга.
5. Пробірки нагріти до кипіння.

Спостереження та висновки:

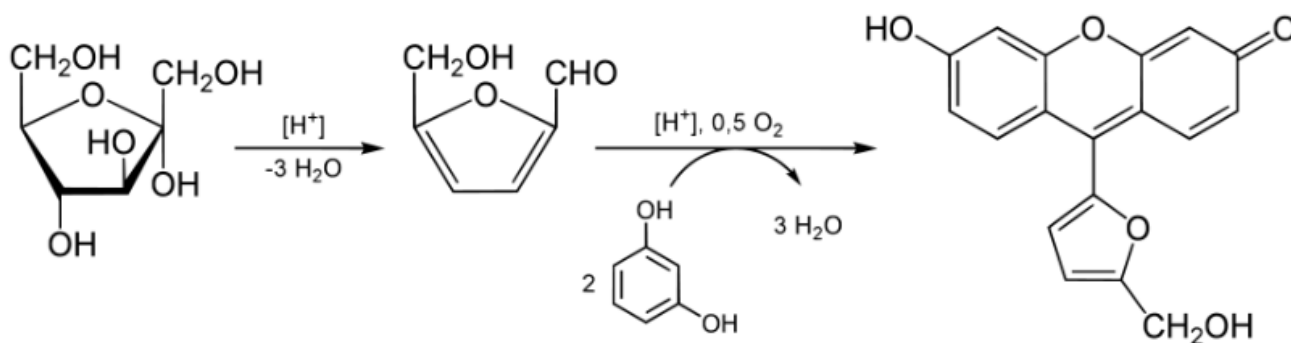


5. Виявлення фруктози в розчині (реакція А. Ф. Селіванова на кетози)

Реакція Селіванова — якісна реакція, що використовується для визначення у речовині вуглеводів-кетоз (зокрема, фруктози). Реакція була відкрита у 1887.

Матеріали та реактиви: кристалічний резорцин, 5 %-й розчин фруктози, 25 %-й розчин соляної кислоти.

Принцип методу. При нагріванні фруктози і речовин, які її містять, з кислотами відбувається дегідратація фруктози з утворенням 5-оксиметил-фурфуролу, який з резорцином утворює комплекс рожево-червоного кольору.



Хід роботи.

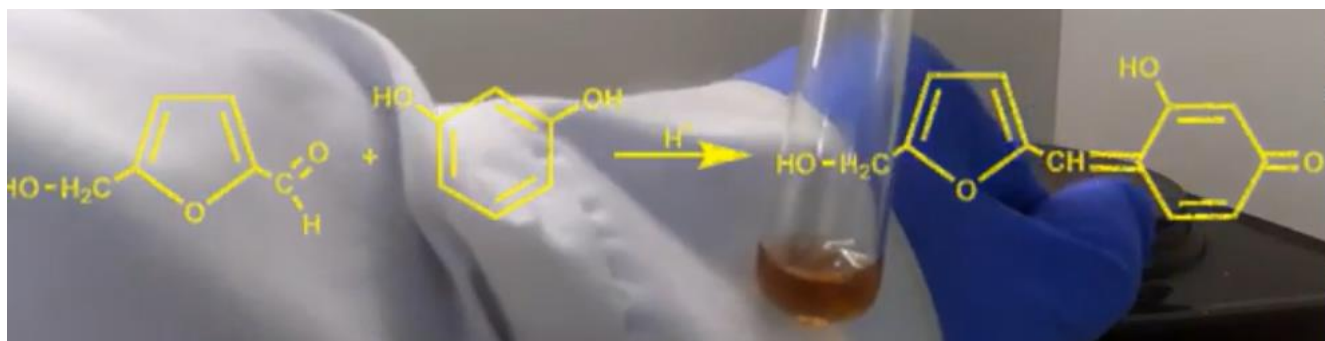
1. Пронумерувати три пробірки.
2. У першу наливають 2-3 мл розчину фруктози.
3. У другу – стільки ж розчину глюкози.
4. У третю – 2-3 мл дистильованої води.
5. У всі пробірки додають по 1-2 мл реактиву Селіванова.
6. Вміст пробірок доводять до кипіння. Кип'ять не більше 20-30 секунд.

У пробірку наливають 1 мл розчину фруктози, 0,5 мл розчину соляної кислоти та додають кілька кристалів резорцину. Суміш нагрівають на водяній бані протягом 5–10 хв за температури 80 °С до появи вишнево-червоного кольору.

Під час нагрівання фруктози чи інших кетоз із соляною кислотою утворюється оксиметилфурфурол. Сполука, що утворюється під час конденсації оксиметилфурфуролу із резорцином, забарвлена у вишнево-червоний колір.

Спостерігають появу забарвлення.

Спостереження та висновки:

**6. Кислотний ступінчастий гідроліз крохмалю**

Принцип методу. При нагріванні крохмалю з концентрованою сульфатною кислотою відбувається поступовий його гідроліз з утворенням проміжних (декстрини, мальтоза) та кінцевих (глюкоза) продуктів, які виявляються за кольоровою реакцією з йодом та реактивом Фелінга.

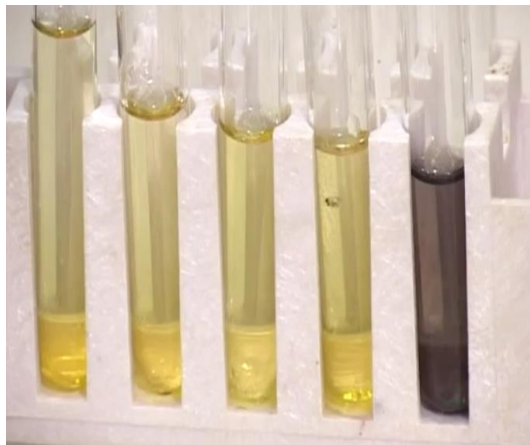
Хід роботи.

1. У пробірку наливають 5-6 мл розчину крохмалю.
2. Додають 3-4 краплі концентрованої сульфатної кислоти.
3. Поміщають пробірку в киплячу водяну баню.
4. Через 3-5 хвилин, а потім через кожні 3 хвилини, з пробірки відбирають по 1 мл гідролізату в чотири чисті пробірки (попередньо їх пронумерувати).
5. Залишок гідролізату ділять на дві рівні частини. Одну з них використовують для постановки реакції з йодом, а іншу – для реакції з реактивом Фелінга, попередньо її вміст нейтралізують розчином гідроксиду натрію.

6. У всі пробірки (крім останньої) приливають приблизно 2 мл дистильованої води, 1-2 краплі розчину Люголя.

7. Перемішують і спостерігають специфічне забарвлення отриманих гідролізатів.

Спостереження і висновки:



Контрольні запитання та завдання.

1. Яка біологічна роль вуглеводів?
2. Класифікація, номенклатура, ізомерія вуглеводів.
3. Хімічні властивості вуглеводів: реакції окислення і відновлення, утворення озонів, естерифікації, глікозилювання.
4. Моносахариди, будова глюкози, фруктози, галактози, глюкуронової кислоти, рибози.
5. Дисахариди, будова, і біологічна роль, формули сахарози, мальтози, лактози.
6. Полісахариди будова целюлози, крохмалю, глікогену, хондроїтинсірчаної кислоти, гіалуронової кислоти, хітину, гепарину.
7. Чому осад гідроксиду міді (II) розчиняється під час перемішування з розчином глюкози? Запишіть рівняння відповідної реакції. Наявність яких функціональних груп вона підтверджує?
8. Наявність якої функціональної групи доводять позитивні реакції Троммера, Фелінга? Напишіть ці реакції з глюкозою.
9. До яких моносахаридів належить фруктоза (за кількістю атомів карбону та наявністю функціональних груп)?
10. Напишіть таутомерні форми моносахаридів (глюкози, галактози, маннози, фруктози, рибози, дезоксирибози) та редукуючих дисахаридів – мальтози, лактози, целобіози. Дайте їм повні назви.
11. Напишіть реакції Троммера з целобіозою, Фелінга з мальтозою. Назвіть

продукти реакції.

12. Напишіть реакцію гідролізу сахарози, назвіть продукти реакції. Чи будуть позитивними реакції Троммера, Фелінга з негідролізованою сахарозою, з сахарозою після гідролізу?

13. Яку будову має крохмаль? З яких полісахаридів він складається? Який полісахарид зумовлює позитивну йод-крохмальну реакцію, а який – утворення клейстеру?

14. Яку будову має глікоген? Напишіть фрагмент молекули глікогену.

15. Яку будову має клітковина (целюлоза)? Який моносахарид є її мономерною ланкою?

16. Які сполуки називаються гетерополісахаридами? Які біологічні функції вони виконують? Наведіть приклади.

ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ З РОЗДІЛУ «ВУГЛЕВОДИ»

- 1. Вкажіть, на які три групи поділяють вуглеводи:**
 - А. Моносахариди, полісахариди, кетогексози;
 - Б. Дисахариди, альдогексози, моносахариди;
 - В. Моносахариди, олігосахариди, полісахариди;
 - Г. Полісахариди, дисахариди, пентози.
- 2. Яка загальна формула відповідає моносахаридам:**
 - А. $C_nH_{3n}O_n$;
 - Б. $C_nH_{2n}O_{3n}$;
 - В. $C_{2n}H_nO_n$;
 - Г. $C_nH_{2n}O_n$.
- 3. Яка із названих сполук належить до моносахаридів:**
 - А. Глікоген;
 - Б. Лактоза;
 - В. Фруктоза;
 - Г. Сахароза.
- 4. Яка із названих сполук належить до пентоз:**
 - А. Галактоза;
 - Б. Рибоза;
 - В. Манноза;
 - Г. Лактоза.
- 5. Яка із названих сполук належить до гексоз:**
 - А. Ксилоза;
 - Б. Арабіноза;
 - В. Манноза;
 - Г. Глюкоза.
- 6. Яка із названих сполук належить до альдогексоз:**
 - А. Манноза;
 - Б. Фруктоза;
 - В. Рибоза;
 - Г. Ксилоза.
- 7. Яка із названих сполук належить до кетогексоз:**
 - А. Глюкоза;
 - Б. Манноза;
 - В. Галактоза;
 - Г. Фруктоза.
- 8. Вкажіть назву сполуки, яка побудована лише із залишків глюкози:**
 - А. Сахароза;

- Б. Лактоза;
В. Мальтоза;
Г. Хітин.
9. **Вкажіть назву сполуки, до складу якої входить фруктоза:**
А. Лактоза;
Б. Мальтоза;
В. Сахароза;
Г. Крохмаль.
10. **Вкажіть групу вуглеводів, яку відносять до дисахаридів:**
А. Манноза, крохмаль, фруктоза;
Б. Глікоген, клітковина, рибоза;
В. Лактоза, мальтоза, сахароза;
Г. Галактоза, рибоза, дезоксирибоза.
11. **Які моносахариди утворюються при гідролізі сахарози?**
А. Глюкоза і галактоза;
Б. Фруктоза і манноза;
В. Дві молекули глюкози;
Г. Глюкоза і фруктоза.
12. **Вкажіть групу вуглеводів, яка належать до полісахаридів:**
А. Крохмаль, сахароза, лактоза;
Б. Мальтоза, фруктоза, клітковина;
В. Целобіоза, клітковина, сахароза;
Г. Клітковина, крохмаль, глікоген.
13. **Вкажіть групу полісахаридів, мономером яких є лише глюкоза:**
А. Крохмаль, гіалуронова кислота, гепарин;
Б. Хондроїтинсірчана кислота, клітковина, гіалуронова кислота;
В. Клітковина, крохмаль, глікоген;
Г. Гепарин, клітковина, гіалуронова кислота.
14. **Який із перерахованих полісахаридів має розгалужену будову:**
А. Целюлоза;
Б. Амілопектин;
В. Амілоза;
Г. Глікоген.
15. **Які із вказаних вуглеводів є гетерополісахаридами:**
А. Глікоген;
Б. Гепарин;
В. Клітковина;
Г. Крохмаль.
16. **Найбільша кількість глікогену депонується в:**

- А. мозку, серці;
- Б. печінці, скелетних м'язях;
- В. нирках, легенях;
- Г. серці, сполучній тканині селезінці, нервовій тканині.

17. До якої речовини розщеплюється глікоген в м'язях?

- А. Глюкози;
- Б. Рибозо-5-фосфату;
- В. Фруктозо-6-фосфату;
- Г. Фосфогліцеринового альдегіду;
- Д. глюкозо-6-фосфату.

18. Біологічне значення синтезу глікогену полягає:

- А. Створенні попередника гетерополісахаридів;
- Б. Побудові біомембран клітин;
- В. Створенні запасу вуглеводів в організмі;
- Г. Участі в анаеробному окисленні;
- Д. Створенні вуглеводного скелету для синтезу замісних амінокислот.

19. У раціоні людини велика кількість вуглеводів. Кількість яких структур збільшиться у цитоплазмі гепатоцитів?

- А. Гранули глікогену;
- Б. Краплини жиру;
- В. Лізосоми;
- Г. Вільні рибосоми;
- Д. Включення ліпофусцину.

20. Постійний вміст глюкози в крові є дуже важливим для функціонування органу:

- А. Нирок;
- Б. М'язового волокна;
- В. Головного мозку;
- Г. Міокарду;
- Д. печінки.

21. Виберіть вірне твердження:

- А. Головний мозок містить значні запаси глікогену як джерела енергії;
- Б. Глюкоза синтезується в головному мозку шляхом глюконеогенезу;
- В. Енергетичні потреби головного мозку можуть бути забезпечені жирами;
- Г. В якості джерела енергії в мозкових клітинах можуть бути використані медіатори;
- Д. Головним енергетичним паливом нервових клітин є глюкоза, яка надходить з кров'ю.

РОЗДІЛ 5

ЛІПІДИ

ПЛАН

1. Загальна характеристика й класифікація ліпідів.
2. Перетворення ліпідів у процесі травлення й всмоктування.

1. Загальна характеристика й класифікація ліпідів

Ліпідами називаються неоднорідні в хімічному відношенні речовини, загальною властивістю яких є гарна розчинність у неполярних органічних розчинниках: ефірі, ацетоні, хлороформі, чотирьох хлористому вуглеці, бензолі й т.п. За своїм хімізмом ліпіди, у більшості випадків, являють собою складні ефіри вищих жирних кислот з гліцерином або деякими іншими спиртами специфічної будови.

Функції ліпідів.

1. Насамперед, ліпіди у комплексі з білками є **структурними** елементами мембран клітин і клітинних органел. У зв'язку із цим вони беруть участь у ряді процесів, пов'язаних з функціонуванням мембран.

2. Ліпіди служать також **енергетичним** матеріалом для організму. При окислюванні 1 г жиру виділяється 39 кДж енергії, що в 2 рази більше, ніж при розщепленні 1 г вуглеводів.

3. Одночасно ліпіди є **запасними** речовинами, у формі яких депонується метаболічне паливо. Певне виключення щодо цього становлять бактерії: у більшості з них накопичення енергії здійснюється у не ліпідній формі, а у вигляді глікогену.

4. У зв'язку з добре вираженими термоізоляційними властивостями ліпіди зберігають тепло в організмі, особливо у морських і полярних тварин, виконуючи тим самим **захисну** функцію. У вигляді жирової прокладки охороняють тіло й органи тварин від механічного ушкодження, служать жировим змащенням для шкіри. Восковий наліт на листках і плодах рослин захищає від надлишкового випару й проникнення мікроорганізмів. Ліпідні компоненти бактерій значною мірою визначають їх чутливість або резистентність до антибіотиків. Деякі з ліпідів мають відношення до імунітету (гліколіпіди).

5. Регуляторною активністю володіють простагландіни. Від властивостей і структури мембранних ліпідів багато в чому залежить активність мембранозв'язаних ферментів, особливості протікання процесів окисного фосфорильовання.

6. Будучи найважливішими компонентами нервових тканин, гліколіпіди впливають на функціонування нервової системи.

Класифікація ліпідів.

Ліпіди можуть бути класифіковані в такий спосіб:

- 1) гліцериди (нейтральні жири й вільні жирні кислоти);
- 2) фосфоліпіди;
- 3) гліколіпіди;
- 4) стероїди;
- 5) віск;
- 6) терпени.

Розрізняють прості й складні ліпіди. Прості ліпіди включають речовини, молекули яких складаються тільки із залишків жирних кислот (або їх альдегідів) і спиртів. До них відносять *жири* або *гліцериди* (тригліцериди й інші нейтральні гліцериди) і *віск*.

Складні ліпіди включають похідні ортофосфорної кислоти (*фосфоліпіди*) і ліпіди, що містять залишки цукрів (*гліколіпіди*). До складних ліпідів відносять також стероїди - *стерини* й *стериди*.

Прості ліпіди побудовані лише зі спирту та вищих жирних кислот (ВЖК). Складні ліпіди містять ще додаткові компоненти – фосфат, вуглеводи, аміноспирти, амінокислоти тощо.

Жирними кислотами називаються карбонові кислоти з вуглеводневим ланцюгом не менше 4 атомів вуглецю. Вони присутні в організмах всіх видів у вигляді складних ефірів (наприклад, з гліцерином та холестерином) та служать структурними елементами жирів та мембранних ліпідів. Вільні жирні кислоти є в організмі в невеликих кількостях, наприклад у крові.

У вищих рослинах і тваринах містяться головним чином жирні кислоти з довгим і нерозгалуженим ланцюгом з 16 і 18 вуглецевих атомів, а саме пальмітинова і стеаринова. Усі довголанцюгові природні жирні кислоти складаються з парного числа вуглецевих атомів, що зумовлено біосинтезом цих сполук із C_2 -попередників.

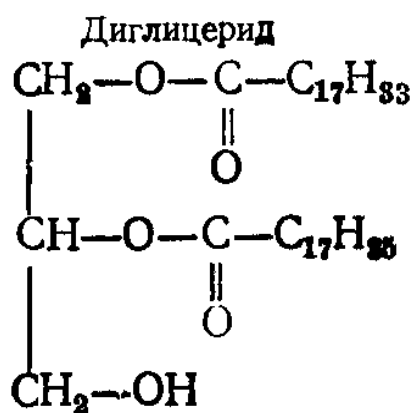
Багато жирних кислот мають один або кілька подвійних зв'язків. До найбільш поширених ненасичених кислот відносяться олеїнова та лінолева. З двох можливих *цис*-і *транс*-конфігурації подвійного зв'язку у природних ліпідах присутня лише *цис*-форма. Розгалужені жирні кислоти зустрічаються лише у бактеріях.

До незамінних жирних кислот відносяться ті з них, які не синтезуються в організмі та повинні надходити з їжею. Йдеться про сильно ненасичені кислоти, зокрема арахідонову (20:4;5,8,11,14), лінолеву (18:2;9,12) і ліноленову (18:3;9,12,15). Арахідонова кислота є попередником ейкозаноїдів (простагландинів та лейкотрієнів) і тому обов'язково має бути присутнім у харчовому раціоні.

Лінолева і ліноленова кислоти, що мають більш короткий вуглецевий ланцюг, можуть перетворюватися на арахідонову за рахунок нарощування ланцюга, і, отже, є його заміниками.

Тривіальна назва	Число С-атомів ;	Число подвійних зв'язків	Становище подвійних зв'язків
Мурашина	1: 0	0	У ліпідах не зустрічається
Оцтова	2: 0	0	
Пропіонова	3: 0	0	
Масляна	4: 0	0	
Валеріанова	5: 0	0	
Капронова	6: 0	0	
Каприлова	8: 0	0	
Капринова	10: 0	0	
Лауринова	12: 0	0	
Миристинова	14: 0	0	
Пальмітинова	16: 0	0	
Стеаринова	18: 0	0	
Олеїнова	18: 1; 9	1	
Лінолева	18: 2; 9,12	2	
Ліноленова	18: 3; 9,12,15	3	
Арахідова	20: 0	0	
Діахілдонова	20: 4; 5,8,11,14	4	
Бегенова	22: 0	0	
Еркова	22: 1; 13	1	
Лигноцерінова	24: 0	0	
Нервонова	24: 1; 15	1	

1. ГЛІЦЕРИДИ

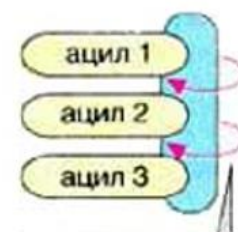


Тригліцериди, дигліцериди й моногліцериди являють собою складні ефіри трьохатомного спирту гліцерину й високомолекулярних жирних кислот. У природних жирах зустрічаються жирні кислоти з різним числом вуглецевих атомів - від 4 до 24. Рослинні жири - масла льняне, соняшникове, конопельне, бавовняне, касторове внаслідок великого вмісту в них ненасичених кислот перебувають у рідкому виді. Тваринні жири містять менше ненасичених кислот у порівнянні з рослинними, тому вони перебувають у напіврідкому стані.

Вандервальсівська
модель молекули
триацилгліцерин



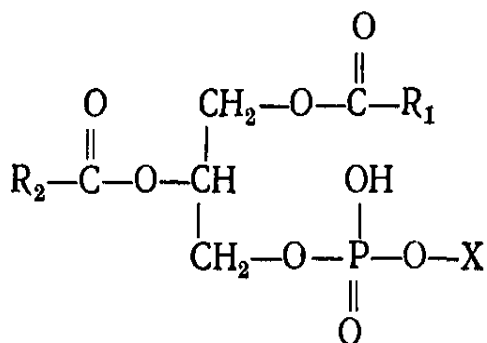
Структура жирів



Обертання
з'язку C-C

2. ФОСФОЛІПІДИ

Молекула фосфоліпідів утворена залишками гліцерину (або спирту, що його заміняє, сфінгозину), жирних кислот, фосфорної кислоти, з'єднаної складноєфірним зв'язком з яким-небудь полярним угрупованням (частіше азотовмісним).



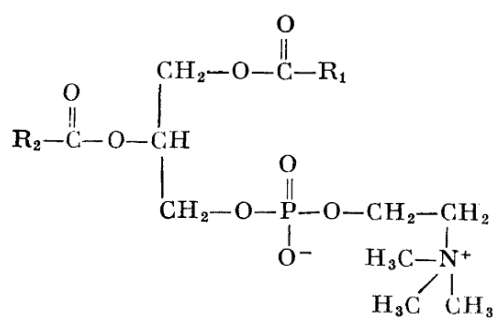
Фосфоліпіді широко поширені в рослинній і тваринній тканинах, у мікроорганізмах вони є переважною формою ліпідів. На відміну від нейтральних жирів фосфоліпіді практично містяться тільки в клітинних мембранах і дуже рідко в невеликих кількостях виявляються в складі запасних відкладень. Фосфоліпіді легко утворюють комплекси з білками, чим і пояснюється переважна участь їх у формуванні

клітинних оболонок і внутрішньоклітинних мембран (становлять до 50 % всіх ліпідів біологічних мембран). Відповідно до правил Міжнародної номенклатури клас фосфоліпідів може бути розділений на гліцерофосфоліпідів й сфінгофосфоліпідів.

Гліцерофосфоліпідів. Загальна схема будови гліцерофосфоліпідів має такий вигляд. В основі молекули гліцерофосфоліпідів лежить фосфатидна кислота, що представляє собою гліцерин, у якого дві спиртові групи естерифіковані жирними кислотами, а одна, в 3-му положенні, фосфорною кислотою. У більшості природних гліцерофосфоліпідів насичених жирних кислот (з 16-18 вуглецевими атомами) перебувають у положенні C₁, а ненасичені (16-20 вуглецевих атомів) - як правило, у положенні C₂.

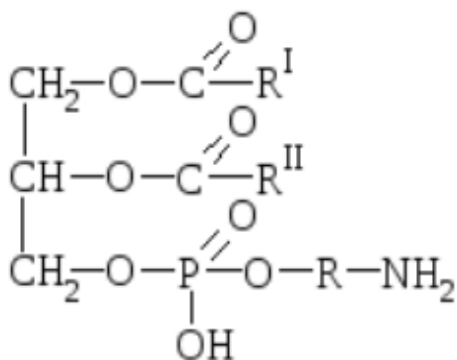
Залежно від будови полярної групи гліцерофосфоліпідів поділяються в такий спосіб: 1) фосфатиділхоліні (стара назва лецитини); 2) фосфатиділетаноламіні (стара назва — кефаліні); 3) фосфатиділсеріні; 4) фосфатиділінозити; 5) фосфатиділцукри; 6) фосфатиділгліцеріні; 7) плазмалогени.

Фосфатиділхолін (лецитин)



Лецитин одержав свою назву тому, що був виділений з жовтка курячого яйця (грець. *lecitos* - жовток). Лецитини досить широко поширені в природі, особливо багато їх у мозковій тканині тварин і людини. До складу фосфатиділхоліну (лецитину) входить гліцерин, фосфорна кислота, два залишки жирної кислоти й азотиста основа - холін.

Фосфатиділетаноламін (кефалін)



Крім лецитинів, до числа фосфатидів відносяться й кефаліни, які відрізняються від лецитинів азотистими основами. До складу кефаліну входить етаноламін. У формулі, наведеній нижче, видна спільність будови кефаліну з лецитином:

У тваринних тканинах кефалін утримується разом з лецитином і грає також важливу роль у житті клітин. У клітинах кефаліни містяться не у вільному стані, а пов'язані з білками, утворюючи комплекси,

які мають назву ліпопротеїди. Цим сполукам надають важливе біологічне значення у зв'язку з тим, що вони входять до складу мембран мітохондрій.

Плазмалогени

Крім лецитину й кефаліну, у тканинах містяться фосфатиди, що одержали назву плазмалогенів, які відрізняються від кефаліну й лецитину тим, що до складу їх замість однієї жирної кислоти входить її альдегід. Зустрічаються плазмалогени переважно в складі нервової й м'язової тканин разом з кефалінами.

3. ГЛІКОЛІПІДИ (ЦЕРЕБРОЗІДИ)

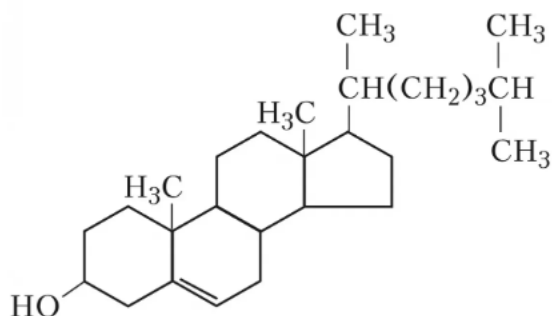
До гліколіпідів (*cegebrum* - мозок) відносяться сполуки, що складаються зі спирту сфінгозину, галактози й вищих жирних кислот - церебронової, нервонової і лігноцеринової.

4. СТЕРОЇДИ

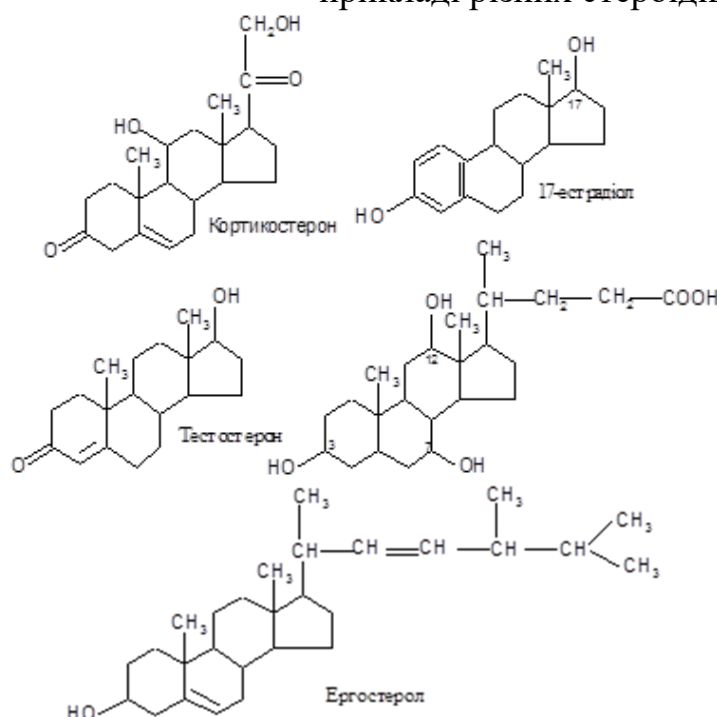
Особливу групу ліпідів становлять стероїди. Відрізняються вони від інших ліпідів тим, що в їхню сполуку у якості спирту входить холестерол (холестерин), а з жирних кислот найчастіше зустрічається пальмітинова кислота. Уперше холестерол був виділений з жовчних каменів (*hollo* - жовч).

До стероїдів відносяться стероли (або стерини), стериди, жовчні кислоти, чоловічі й жіночі статеві гормони, гормони наднирників, вітаміни групи В, серцеві глікозиди, деякі отрути.

Стериди являють собою ефіри стеринів (стеролів) і вищих жирних кислот. З жирних кислот у складі стеридів виявлені в основному пальмітинова, стеаринова й олеїнова.



Всі стериди, так само як і стероли - тверді безбарвні речовини (від лат. *steros* - твердий). У природі, особливо у тварин, вони зустрічаються звичайно у формі комплексів з білками. Нижче наведено прикладі різних стероїдів.



5. ВОСКИ

Воски являють собою складні ефіри вищих моноатомних спиртів жирного (рідше ароматичного) ряду й вищих жирних кислот. Виявлені воски як у тварин, так і в рослин і навіть у деяких мікроорганізмів.

Воски виконують в організмі в основному захисну функцію. Вони утворюють захисне змащення на шкірі, вовні й пір'ях, покривають листя, стебла, плоди, насіння, а також кутикулу зовнішнього кістяка в багатьох комах.

Серед тваринних восків найбільше значення мають спермацет, ланолін і бджолиний віск.

Спермацет добувається з голови кашалота й служить кашалотові звукопередавачем при ехолокації.

Спермацет використовують у парфумерії як основу при виготовленні кремів, мазей, парфумів тому що він дуже добре всмоктується через шкіру, як і ланолін - мастильна речовина, що покриває вовну овець.

6. ТЕРПЕНИ

До терпенів відносяться ефірні масла (камфора, ментол), смоляні кислоти й каучук, різні рослинні пігменти (каротини, лікопін і ін.), а також вітамін А і сквален із тваринних тканин.

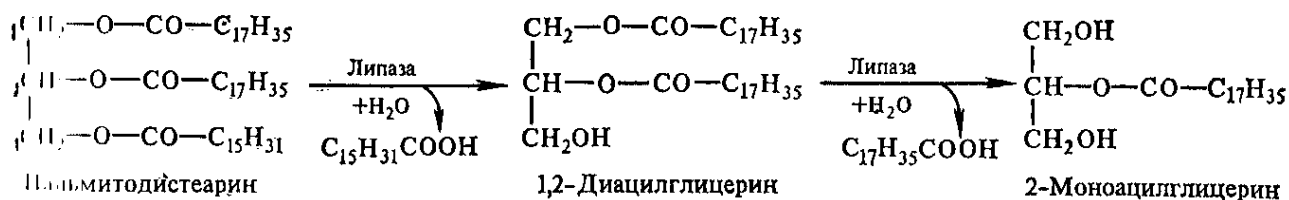
2. Перетворення ліпідів у процесі травлення й всмоктування.

Ліпіди - важлива складова частина їжі. Дорослій людині потрібно від 70 до 145 г жиру на добу залежно від трудової діяльності, статі, кліматичних умов. Причому необхідні як тваринні, так і рослинні жири. Ліпіди є високоенергетичними речовинами, тому за їхній рахунок задовольняється 25-30 % потреби організму людини в енергетичному матеріалі.

Перетравлення жиру починається в шлунку, де діє фермент ліпаза. Але вона розщеплює тільки емульгований жир, яким є жир молока, і тому цей процес має значення головним чином у дітей грудного віку.

Основне розщеплення ліпідів відбувається в кишечнику, у першу чергу у дванадцятипалій кишці. У цей відділ кишечника надходить сік підшлункової залози, що містить дуже активну ліпазу. Сюди ж надходить із жовчного міхура жовч, складні компоненти якої (жовчні кислоти) необхідні для перетравлення ліпідів. Це пов'язано з тим, що жовчні кислоти - холева (переважає в жовчі людини), дезоксихолева, літохолева й інші - являють собою поверхнево-активні речовини, що сприяють емульгуванню жирів, що є найважливішою умовою їх наступного ферментативного розщеплення.

Основна маса ліпідів їжі представлена триацилгліцеридами, менша - фосфоліпідами й стероїдами. Гідроліз триацилгліцеринів іде поступово. Спочатку розщеплюються ефірні зв'язки в 1-м і 3-м положеннях, тобто зовнішні складноефірні зв'язки:



Ці реакції здійснюють *ліпази*, специфічні у відношенні 1, 3-ефірних зв'язків триацилгліцерину. Зв'язки в 2-му положенні гідролізують інші ліпази. Зв'язки 1 і 3 гідролізуються швидко, а потім іде повільний гідроліз 2-моногліцериду.

Крім ліпаз у соку підшлункової залози присутні естерази, які гідролізують переважно ефіри жирних кислот з коротким ланцюгом і ефіри холестерину. Ці естерази теж активні тільки в присутності жовчних кислот.

Розщеплення фосфоліпідів відбувається при участі ряду ферментів: *фосфоліпаз A₁, A₂, C, D* і *ізофосфоліпази*. Фосфоліпаза A₁ гідролізує зв'язок в 1-му положенні. Фосфоліпаза A₂, що утворюється в підшлунковій залозі у вигляді проферменту, який потім активується трипсином, відщеплює жирну кислоту в 2-му положенні. Фосфоліпаза C викликає гідроліз зв'язку між фосфорною кислотою й гліцерином, а фосфоліпаза D відщеплює полярну X-групу.

Стериди, піддаючись дії гідролітичних ферментів типу холестераз, розщеплюються в кишечнику з утворенням спирту холестеролу або ергостеролу й відповідної жирної кислоти. Холестерази продукуються підшлунковою залозою й активні тільки в присутності солей жовчних кислот.

Близько 40 % жирів їжі гідролізується повністю до гліцерину й жирних кислот, 3-10 % всмоктуються без гідролізу у формі триацилгліцеринів, а інші гідролізуються частково, головним чином до 2-моноацилгліцеринів.

Лабораторна робота № 5

ЯКІСНІ РЕАКЦІЇ НА ЛІПІДИ

Мета: перевірити теоретичні знання з теми «Ліпіди», дослідити розчинність ліпідів, опанувати методи виявлення ліпідів, доведення їх ненасиченості, виділення складових компонентів простих ліпідів.

Завдання: навчити методам, що дозволяють в лабораторних умовах перевірити ряд фізико-хімічних властивостей жирів.

Основні теоретичні відомості

Ліпіди – біоорганічні молекули, які різняться за своєю будовою, функціями, всі є нерозчинними в полярних розчинниках, наприклад у воді, але розчиняються в неполярних органічних розчинниках (ацетон, хлороформ, діетиловий ефір тощо). Під час змішування жирів із водою утворюються емульсії, стійкість яких залежить від середовища, у якому вони створюються. Наявність у воді речовин-емульгаторів (мила, жовчні кислоти, карбонати тощо) збільшує стійкість емульсій. Утворення емульсій зумовлене тим, що в поверхневий водяний шар, який оточує жирові краплинки, спрямовуються поверхнево-активні частинки жовчних кислот, мила, карбонату, котрі обволікають краплинки жиру і перешкоджають їх злиттю.

Ліпіди переважно є складними ефірами спиртів та вищих жирних кислот (ВЖК). Вищі жирні кислоти містять понад 10 атомів карбону, можуть бути насиченими або мати у своєму складі подвійні зв'язки. Природні ВЖК мають парну

кількість атомів карбону, зигзагоподібну конформацію радикала, для ненасичених подвійні зв'язки є метиленрозділеними. Вітамін F є комплексом поліненасичених ВЖК. Арахідонова кислота – поліненасичена ВЖК, з якої в організмі синтезуються тканинні гормони.

Прості ліпіди побудовані лише зі спирту та ВЖК. Складні ліпіди містять ще додаткові компоненти – фосфат, вуглеводи, аміноспирти, амінокислоти тощо. Фосфоліпіди є основними молекулами, з яких побудовані біологічні мембрани. Ліпіди є важливим джерелом енергії, вони нагромаджуються в організмі. Резервними ліпідами є нейтральні ліпіди (тригліцериди, триацилгліцероли). Вони побудовані з трьохатомного спирту гліцерину та ВЖК.

Числом омилення (ЧО) називають кількість гідроксиду калію в 1 мг, яка потрібна для нейтралізації всіх жирних кислот (вільних і тих, що входять до складу триацилгліцеролів), що містяться в 1 г жиру.

Кислотністю жиру, або кислотним числом (КЧ), називають кількість КОН, мг, яка потрібна для нейтралізації вільних жирних кислот, що містяться в 1 г жиру.

Ефірним числом (ЕЧ) називають кількість КОН (мг), яка потрібна для нейтралізації всіх утворених під час омилення триацилгліцеролів жирних кислот, що містяться в 1 г жиру. ЕЧ визначають за різницею між ЧО жиру та його КЧ.

Йодним числом (ЙЧ) називають кількість йоду (г), яка може прореагувати зі 100 г жиру. Це число відповідає кількості подвійних зв'язків ненасичених жирних кислот у жирі.

Пероксидним числом називають кількість 0,005 М розчину $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (мл), витрачену на титрування вільного йоду, що виділився під час окиснення КІ пероксидним угрупованням одного граму жиру. Також пероксидним числом називають:

➤ кількість грамів йоду, що виділяється з йодиду калію під впливом перекисів, які містяться в 100 г жиру;

➤ кількість грамів йоду, яка може прореагувати з активним воднем перекисів, які містяться в 100 г жиру;

➤ кількість йоду, еквівалентна кількості HI , що прореагувала за стандартних умов з перекисними або гідроперекисними угрупованнями жиру, виражена у відсотках.

Питання для самопідготовки:

1. Ліпіди: визначення, поширення в природі, біологічна роль.
2. Класифікація: прості ліпіди (тригліцериди, воски, стероли і стериди) і складні ліпіди (фосфоліпіди, гліколіпіди, сульфоліпіди).
3. Вищі карбонові кислоти (насичені і ненасичені), що зустрічаються у складі ліпідів.

4. Жири (тригліцериди): визначення, хімічна будова, фізичні (розчинність, температура плавлення) і хімічні (омилення, прогоркання) властивості.
5. Кислотне та йодне числа жиру, їх практичне значення.
6. Біологічна роль жирів.
7. Воски: хімічний склад, будова, біологічна роль.
8. Стероли та стериди: хімічна будова, біологічна роль (на прикладі холестеролу, 7-дегідрохолестеролу та ергостеролу).
9. Фосфоліпіди (фосфатиди):
 - гліцерофосфатиди: хімічна будова, біологічна роль фосфатидної кислоти, лецитинів, кефалінів, серинфосфатидів, ацетальфосфатидів;
 - сфінгофосфатиди: хімічний склад, будова, біологічна роль.
10. Сфінгозин як складова частина сфінгофосфатидів.
11. Гліколіпіди (цереброзиди, гангліозиди): хімічний склад, особливості будови, поширення у природі, біологічна роль.

1. Розчинність ліпідів у різних розчинниках і утворення емульсії

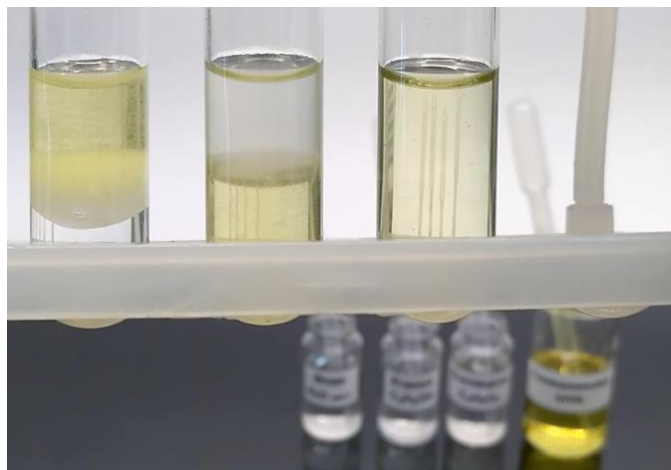
Принцип методу. Лабораторна робота базується на властивості жирів розчинятися в різних розчинниках.

Хід роботи.

У чотири пробірки наливають по 0,2–0,3 мл олії, потім у першу додають 5 мл води, у другу – 5 мл спирту, у третю – 5 мл бензолу, у четверту – 5 мл хлороформу. Вміст усіх пробірок енергійно струшують. У першій пробірці олія та вода швидко діляться на два шари, у другій пробірці утворюється каламутний розчин внаслідок недостатньої розчинності олії в спирті, у третій і четвертій – розчини прозорі.

У дві пробірки вносять по кілька крапель олії. В одну з них додають 2 мл води, у другу – 2 мл розчину Na_2CO_3 . вміст пробірок інтенсивно струшують і спостерігають утворення емульсії. Відзначають різну стійкість емульсій у двох пробірках.

Спостереження записати в таблицю.



№ пробірки	Розчинник	Результат
1	Вода	
2	Спирт	
3	Хлороформ	
4	Бензол	

Спостереження і висновки:

2. Отримання жирової емульсії

Принцип методу. Жир у воді утворює нестійку емульсію. Для її стабілізації використовують детергенти (поверхнево-активні речовини – *емульгатори*).

Хід роботи.

1. Взяти 6 пробірок (1-а з них – контрольна).
2. У кожен внести по 2-3 краплі олії та по 3 мл води.
3. У 2-у пробірку додати 1 мл розчину мила.
4. У 3-ю – 1 мл розчину білка.
5. В 4-у – 1 мл розчину гідрокарбонату натрію.
6. В 5-у – 3-5 крапель жовчі.
7. У 6-у – 1 мл розчину хлоридної кислоти.
8. Вміст пробірок ретельно перемішати і залишити на 5 хвилин.

Спостереження і висновки:



3. Виявлення ненасиченості ліпідів

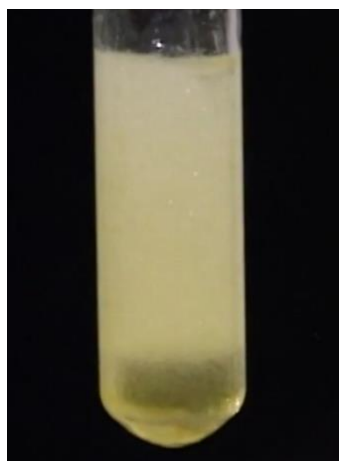
Матеріали та реактиви: розчин вершкового масла в хлороформі (0,2 – 0,25 г масла в 1 мл хлороформу), розчин олії в хлороформі (така сама кількість олії в 1 мл хлороформу), насичена бромна вода (5 г бромну з 100 мл води в колбі з притертою пробкою струшують під витяжкою, іноді відкриваючи пробку для вивільнення парів бромну).

Хід роботи

Жири рослинного походження містять більшу кількість залишків ненасичених жирних кислот, ніж жири тваринного походження. Різний ступінь ненасиченості ліпідів можна виявити на прикладі насичення бромом вершкового масла або олії.

В одну пробірку вносять 1 мл розчину олії в хлороформі, у другу – 1 мл розчину вершкової олії в хлороформі. Потім у кожен пробірку краплями додають бромну воду до припинення знебарвлення. Фіксують кількість бромної води, унесеної в кожен пробірку.

Спостереження і висновки:



4. Якісні реакції на лецитин

Матеріали та реактиви: сушений яєчний жовток, спирт, ацетон, насичений розчин хлориду кадмію CdCl_2 в етанолі, 5 %-й спиртовий розчин ваніліну, концентрована сульфатна кислота, фільтр.

Хід роботи.

Лецитин (фосфатидилхолін) є одним із представників фосфоацилгліцеролів, які входять до складу біологічних мембран. Лецитин не розчиняється в ацетоні й утворює стійку емульсію з водою. Якісними реакціями на лецитин є реакції з хлоридом кадмію, з ваніліном та сульфатною кислотою.

У стакан, який містить 200-300 мг розтертого яєчного жовтка, додають 15 мл гарячого спирту і перемішують. Через 10–15 хв суміш охолоджують і фільтрують у суху пробірку. В іншу суху пробірку наливають 2–3 мл ацетону й по краплинах додають одержаний фільтрат. Спостерігають появу каламуті, а потім випадіння осаду лецитину, що свідчить про нерозчинність лецитину в ацетоні.

До 2–3 мл фільтрату додають по краплинах дистильовану воду, утворюється стійка емульсія.

До 2–3 мл фільтрату додають таку саму кількість насиченого спиртового розчину хлориду кадмію. Утворюється осад жовтувато-білого кольору.

До 2 мл фільтрату додають 2 краплі 5 %-го спиртового розчину ваніліну, по стінці нашаровують 1 мл концентрованої сульфатної кислоти. Утворюється кільце червоного кольору.

Спостереження і висновки:

5. Визначення йодного числа жиру

Принцип методу. Метод заснований на здатності ненасичених карбонових кислот, що містяться в жири, приєднувати йод за місцем розриву подвійного зв'язку. Надлишок йоду визначається йодометрично. **Йодне число** показує ступінь ненасиченості жиру.

У нормі йодне число жиру становить:

ВРХ – 27-47; ДРХ – 31-46; свині – 46-66;

Соняшникова олія – 129-136; конопляна олія – 145-162.

Хід роботи.

1. У колбу додати 1 г жиру.
2. Додати 5 мл хлороформу (із бюретки).
3. Додати точно 5 мл спиртового розчину йоду.
4. Закрити пробкою, ретельно перемішати і поставити у темне місце.
5. Через 30 хвилин додати 1 мл крохмалю.
6. Титрувати з бюретки розчином натрію тіосульфату до зникнення синього забарвлення.

7. Результат титрування записати в зошит і зробити розрахунок йодного числа за формулою:

$$X = \frac{0,127 \times K \times (A - B) \times 100}{m}, \text{ де}$$

X – йодне число (кількість грамів йоду на 100 г жиру);

$0,127$ – еквівалент одного мл розчину грамам металевого йоду;

A – кількість розчину йоду (5 мл), доданого до проби;

B – кількість розчину йоду (еквівалентне об'єму натрію тіосульфату), що залишився після реакції з жиром;

K – коефіцієнт поправки на титр (1);

m – наважка (г) жиру, взятого для постановки реакції (1,0);

100 – коефіцієнт для перерахунку на 100 г.

Спостереження і висновки:

6. Визначення кислотного числа жиру

Принцип методу. Метод заснований на титрометричному визначенні вільних карбонових кислот, що містяться в жирі. **Кислотне число** – це кількість мг КОН, яка йде на нейтралізацію вільних карбонових кислот, що містяться в 1 г жиру. Жир – це складний ефір гліцерину та вищих карбонових кислот; при зберіганні він гідролізується з утворенням вільних карбонових кислот. Чим «старіше» жир, тим більше його кислотне число. Тобто кислотне число показує ступінь свіжості жиру.

Хід роботи.

1. В одну колбу вносять 1,0 г свіжого жиру.
2. В іншу – 1,0 г старого жиру.
3. Розчиняють жир. Для цього додають у колби по 5 мл спиртово-ефірної суміші (суміш вливати з бюретки).
4. Додають по 2-3 краплі фенолфталеїну.
5. Титрують вміст колб розчином калію гідроксиду (обережно) до появи рожевого забарвлення.

Результати титрування першої та другої проб (роздільно) записують у зошит і на їх основі роблять розрахунок за формулою:

$$X = \frac{Y \times 5,6 \times K}{m};$$

де:

X – кількість (мг) КОН, що витрачається на титрування 1 грама жиру (кислотне число);

5,6– кількість (мг) КОН в 1 мл 0,1 н розчину калію гідроксиду;

V – об'єм розчину КОН, який пішов на титрування проби;

K – коефіцієнт поправки на титр (1);

m – наважка жиру, г (1).

У нормі кислотне число дорівнює 1,2–2,5 мг КОН на 1 г жиру.

На основі виконаного досліду роблять висновок про якість жиру в першій і другій пробах; при цьому виходять з того, що кислотне число свіжого жиру не повинно перевищувати 2,5.

Спостереження і висновки:

Контрольні питання та завдання

1. Як класифікуються ліпіди? Які ліпіди відкладаються в жирових депо? Напишіть загальну структурну формулу таких ліпідів. Які ліпіди є головним структурним компонентом біологічних мембран? Напишіть формулу будь-якого з них.

2. Які реакції є спільними в біосинтезі нейтральних ліпідів та фосфоацилгліцеролів? За яких умов синтез фосfolіпідів переважає?

3. Які ви знаєте транспортні форми ліпідів? Із яких структурних компонентів вони складаються? Яке значення має кожна з них?

4. Що називається милом? Які мила рідкі, а які тверді? Які мила добре розчиняються у воді, а які є нерозчинними? Із яких речовин можна одержати мило? Напишіть рівняння реакцій. Чому рідкі або розчинні тверді мила не використовуються для прання в морській воді?

5. Напишіть реакції анаеробного та аеробного окиснення гліцерину, розрахуйте його енергетику.

6. Які вітаміни необхідні для метаболізму ліпідів?

7. Назвіть насичені, мононенасичені, поліненасичені вищі жирні кислоти. Напишіть їх структурні формули. Які вищі жирні кислоти складають вітамін F?

8. Від чого залежить консистенція жиру? Напишіть формулу рідкого жиру, реакцію утворення з нього твердого жиру.

9. Які сполуки нагромаджуються у згріклих жирах? У яких реакціях вони утворюються?

10. Для якого жиру – твердого чи рідкого – йодне число більше? Відповідь обґрунтуйте. Поясніть, чому при зберіганні жирів збільшується їх кислотне число.

11. Що таке прооксиданти та антиоксиданти? Які найважливіші природні антиоксиданти вам відомі?

12. Яка структура є основою холестерину? Напишіть його формулу, загальну формулу ефірів холестеролу. Поясніть біологічну роль холестерину.

ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ З РОЗДІЛУ «ЛІПІДИ»

1. Що являють собою ліпіди (жири і жироподібні речовини):

- А. Високомолекулярні органічні сполуки добре розчинні у воді;
- Б. Високомолекулярні органічні сполуки добре розчинні в органічних розчинниках;
- В. Низькомолекулярні органічні сполуки добре розчинні в органічних розчинниках;
- Г. Низькомолекулярні органічні сполуки добре розчинні у воді.

2. На які три групи поділяють ліпіди:

- А. Прості, складні, похідні ліпідів;
- Б. Складні, жироподібні, воски;
- В. Тригліцериди, фосфоліпіди, стериди;
- Г. Гліколіпіди, фосфоліпіди, жирні кислоти.

3. Гліцериди (нейтральні жири) побудовані з:

- А. Двохатомного спирту етиленгліколю і вищих жирних кислот;
- Б. Трьохатомного спирту гліцерину і вищих жирних кислот;
- В. Трьохатомного спирту гліцерину і фосфорної кислоти;
- Г. Одноатомного спирту етанолу і вищої жирної кислоти.

4. Які із вказаних жирних кислот є ненасиченими:

- А. Пальмітинова, масляна, капронова;
- Б. Арахідонова, олеїнова, лінолева;
- В. Арахісова, пальмітинова, стеаринова;
- Г. Бегенова, капронова, пальмітинова.

5. Що показує йодне число жиру?

- А. Вміст насичених жирних кислот;
- Б. Вміст вільних жирних кислот;
- В. Кислотність жиру;
- Г. Кількість ненасичених жирних кислот.

6. Що показує кислотне число жиру?

- А. Кількість зв'язаних жирних кислот;
- Б. Кількість вільних жирних кислот;
- В. Кількість ненасичених жирних кислот;
- Г. Кількість насичених жирних кислот.

7. Вкажіть назву сполук, які належать до фосфоліпідів:

- А. Лецитини, кефаліни;
- Б. Стерини, стериди;
- В. Цереброзиди, гангліозиди;
- Г. Гліколіпіди, гліцериди.

8. До складу яких ліпідів входять азотисті основи холін і коламін (етаноламін)?
- А. Гліцеридів, стеринів;
 - Б. Лецитинів, кефалінів;
 - В. Гліколіпідів, цереброзидів;
 - Г. Гангліозидів, стеридів.
9. Які тканини організму містять найбільшу кількість фосфоліпідів?
- А. Печінка, мозок;
 - Б. Кров, шкіра;
 - В. Сполучна тканина, лімфа;
 - Г. М'язи, ліквор.
10. Вкажіть, які сполуки відносять до стеридів?
- А. Сполуки гліцерину і фосфорної кислоти;
 - Б. Сполуки стеринів і гліцерину;
 - В. Сполуки стеринів і вищих жирних кислот;
 - Г. Сполуки гліцерину і вищих жирних кислот.
11. Які складні білки утворюються при взаємодії ліпідів з простими білками?
- А. Глікопротеїди;
 - Б. Фосфопротеїди;
 - В. Металопротеїди;
 - Г. Ліпопротеїди.
12. Нейтральні жири (триацилгліцероли) – це складні ефіри:
- А. Вищих спиртів і жирних кислот;
 - Б. Сфінгозину і жирних кислот;
 - В. Фосфатидної кислоти і жирних кислот;
 - Г. Гліцерину і жирних кислот;
 - Д. етанолу і жирних кислот.
13. Існують видоспецифічні особливості складу жирів. Яка ненасичена жирна кислота переважає у складі жирів людини?
- А. Пальмітоолеїнова;
 - Б. Арахідонова;
 - В. Олеїнова;
 - Г. Лінолева;
 - Д. Стеаринова.
14. Гідрофобні “хвостики” молекул ліпідів у складі мембран утворені залишками:
- А. Фосфатів;
 - Б. Азотовмісних сполук;
 - В. Інозитолом;

- Г. Вуглеводів;
- Д. Ацилів жирних кислот.

15. Трьохатомний спирт (складова ліпідів) - це:

- А. Етиленгліколь;
- Б. Етанол;
- В. Сфінгозин;
- Г. Холестерол;
- Д. Гліцерин.

16. Які з наведених речовин, що знаходяться в шлунково-кишечному тракті, є поверхнево активними і беруть участь в емульгації та засвоєнні ліпідів:

- А. Жирні кислоти;
- Б. Бікарбонати;
- В. Глікозаміноглікани;
- Г. Жовчні кислоти;
- Д. Протеази.

РОЗДІЛ 6

НУКЛЕЇНОВІ КИСЛОТИ

ПЛАН

1. Відкриття нуклеїнових кислот і їхня біологічна роль. Хімічний склад.
2. Структура нуклеїнових кислот (правило Чаргаффа, первинна, вторинна, третинна структура)
3. РНК, їхня класифікація.

1. Відкриття НК і їхня біологічна роль. Хімічний склад НК

В 1868 р. швейцарський дослідник Ф. Мішер вперше виділив з ядер лейкоцитів людини сполуки нового типу, раніше невідомі, які він назвав нуклеїнами (від лат. *nucleus* - ядро), а з 1889 р. цей компонент назвали нуклеїновою кислотою. До середини 80-х років XIX ст. нуклеїн був знайдений у складі хромосом, у зв'язку із чим сформувалися перші уявлення про його важливу роль у передачі спадкових ознак.

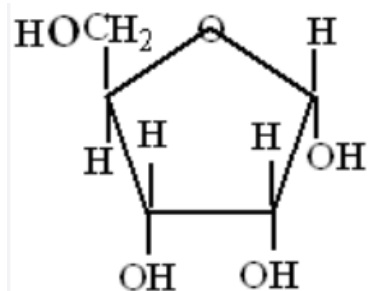
Нуклеїнові кислоти – це найважливіший компонент всіх живих організмів, всіх живих клітин. За участю нуклеїнових кислот відбувається утворення білків, які є матеріальною основою всіх життєвих процесів. Кожний живий організм містить свої специфічні білки, якими він відрізняється від інших організмів. Інформація, що визначає особливості структури білків, «записана» у ДНК і передається в ряді поколінь молекулами ДНК.

Нуклеїнові кислоти іншого типу – рибонуклеїнові кислоти (РНК) - є обов'язковими й першорядними учасниками самого механізму біосинтезу білків.

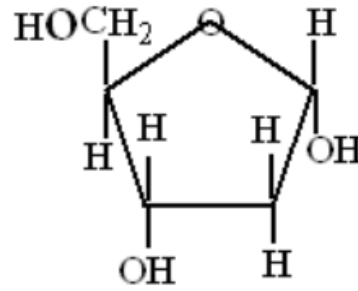
Нуклеїнові кислоти (ДНК і РНК) являють собою складні сполуки; при гідролізі вони розпадаються на мононуклеотиди, які складаються з азотистих основ, пентоз і фосфорної кислоти.

Всі нуклеїнові кислоти діляться на два типи залежно від того, який моносахарид входить у їхню сполуку. Нуклеїнова кислота називається рибонуклеїновою (РНК), якщо в її склад входить моносахарид рибоза, або дезоксирибонуклеїновою (ДНК), якщо в її склад входить моносахариди дезоксирибоза. Обидва моносахариди відносяться до класу пентоз.

Пентози в нуклеїнових кислотах присутні завжди в β -D-фуранозній формі:

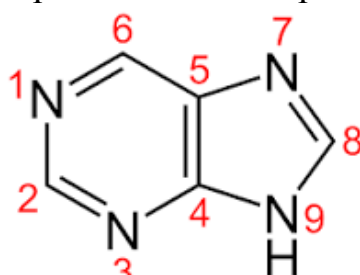


β -D-рибофураноза
(рибоза)

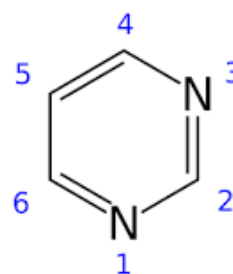


β -D-рибофураноза
(дезоксирибоза)

Пуринові і піримідинові азотисті основи, що входять до складу нуклеїнових кислот, є похідними ароматичних гетероциклічних сполук - пурину і піримідину.

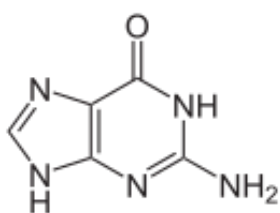


Пурин

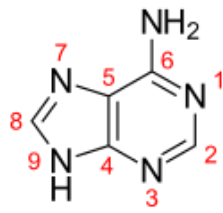


Піримідин

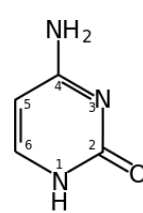
Серед пуринових азотистих основ головну роль відіграють аденін (А) і гуанін, (Г), а серед піримідинових основ – цитозин (Ц), урацил (У), тимін (Т).



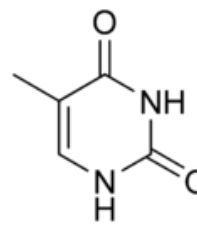
Гуанін



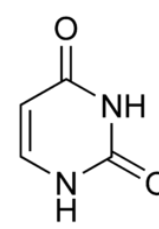
Аденін



Цитозин



Тимін



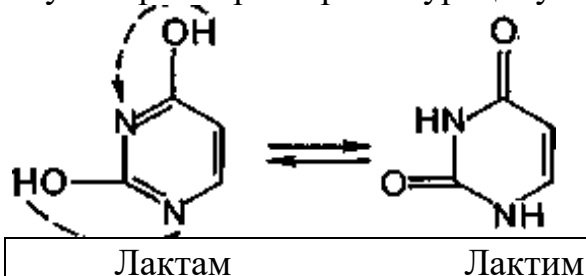
Урацил

До складу ДНК входять аденін, гуанін, цитозин, тимін; у РНК замість тиміну присутній урацил.

Крім головних азотистих основ у нуклеїнових кислотах присутні в невеликих кількостях незвичайні - *мінорні* основи. Так, до складу ДНК вищих організмів входять *6-метиладенін*, *метилцитозин*, роль яких у вищих рослин набагато вища їх ролі у тварин. У ДНК ряду бактерій зустрічаються невеликі кількості *6-метиладеніну* й *5-метилцитозину*. Ці метильовані основи захищають «свої» ДНК від розщеплення ферментами – ДНК-азами. У ДНК фагів *E.coli* цитозин замінений на *5-гідроксиметилцитозин*.

Особливо багато мінорних компонентів міститься в транспортних РНК: (тіоурацил, ксантин, гіпоксантин), усього близько 60. На частку мінорних основ доводиться до 10 % всіх нуклеотидів транспортних РНК, що має, очевидно, важливий фізіологічний зміст (захист молекули РНК від дії гідролітичних ферментів).

Слід також вказати на одну важливу властивість азотистих основ (які містять оксигрупи): можливість їхнього існування у двох таутомерних формах, зокрема лактим- і лактамній формах, залежно від рН середовища. На прикладі урацилу таутомерні перетворення урацилу можна представити в наступному вигляді:

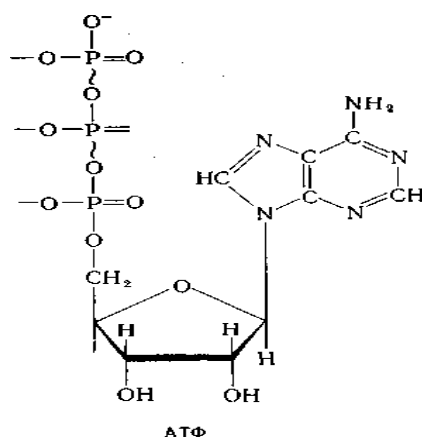
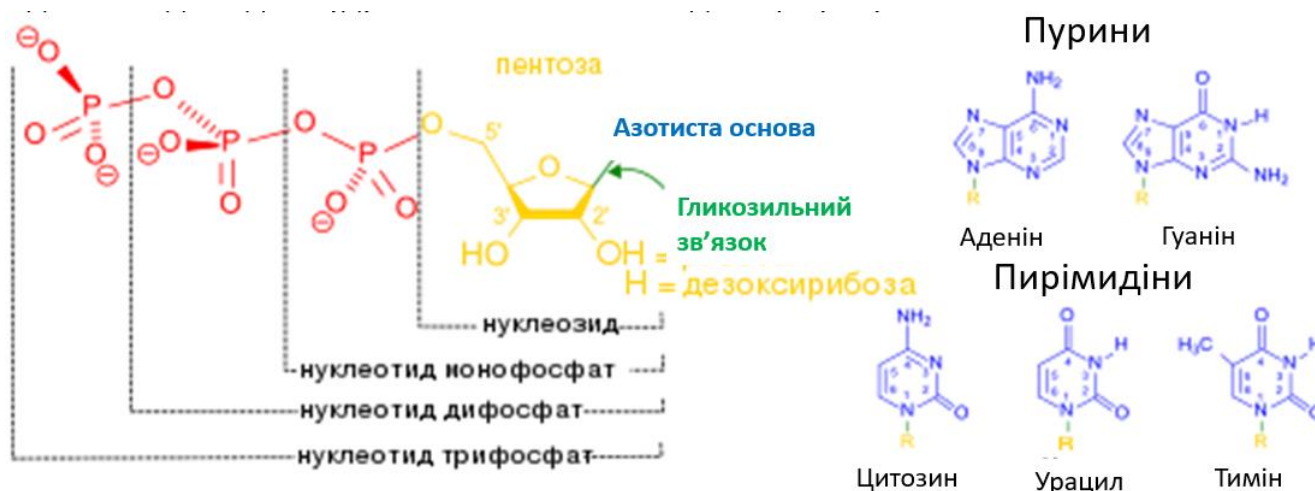


Виявляється, що в складі нуклеїнових кислот всі оксипохідні пуринів і піримідинів перебувають у лактамній формі.

Щодо локалізації й кількісного вмісту нуклеїнових кислот у клітинах отримані певні дані. Доведено, що кількісний вміст ДНК у клітинах одного й того самого організму відрізняється дивною стійкістю й обчислюється декількома пікограмами, однак у клітинах різних видів живих організмів є істотні кількісні розходження у вмісті ДНК. Добре відомо також, що ДНК переважно зосереджено в ядрі, а в мітохондріях і хлоропластах міститься невеликий відсоток клітинної ДНК.

Стосовно РНК немає точних кількісних даних, оскільки вміст їх у різних клітинах у значній мірі визначається інтенсивністю синтезу білка. На частку РНК доводиться близько 5-10 % від загальної маси клітини.

Мононуклеотиди можуть містити один, два і три залишки фосфорної кислоти, і тоді вони відповідно будуть називатися моно-, ди- і трифосфати. Якщо до молекули аденілової кислоти приєднається друга молекула фосфорної кислоти, то вона буде називатися аденозиндифосфатом, якщо три - аденозинтрифосфатом, скорочено АМФ, АДФ, АТФ. Аналогічні назви будуть мати й інші кислоти; так, гуанозинмонофосфорна кислота, гуанозиндифосфорна й гуанозинтрифосфорна - ГМФ, ГДФ, ГТФ, Відповідно й УМФ, УДФ, УТФ, ТМФ ТДФ, ТТФ і ЦМФ, ЦДФ, ЦТФ.

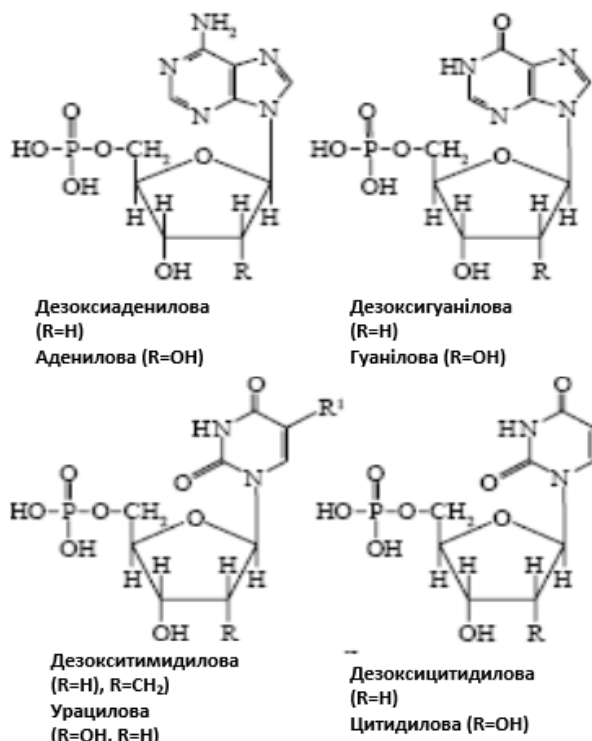


Як видно з представленої вище формули, фосфорна кислота приєднана до пентози через кисень 5-го атома пентози.

Нуклеозиди й нуклеотиди. В утворенні N-глікозидного зв'язку в пуринових нуклеотидів беруть участь N⁹ атом пурину й С¹ пентози, а в піримідинових нуклеотидах — N¹ піримідину й С¹ пентози. Для того щоб відрізнити вуглецеві атоми рибози і дезоксирибози від вуглецевих атомів, що входять до складу пуринових і піримідинових основ, перші прийнято позначати символом «штрих», наприклад атоми в 3-го й 5-го вуглеці позначаються 3' і 5'.

Такі сполуки, у яких азотисті основи пов'язані з рибозою і дезоксирибозою, називаються *нуклеозидами*, а їхні фосфорні ефіри - *нуклеотидами*. Якщо аденін приєднується до рибози, то виходить нуклеозид аденозин. Якщо до аденозину приєднався залишок фосфорної кислоти в 5'-положенні, то утвориться 5'-аденілова кислота, або аденозин-5'-монофосфат.

Нуклеотиди



Кислоти-нуклеотиди, які відтворюються при гідролізі ДНК і РНК

2. Структура нуклеїнових кислот

Для розуміння ряду особливостей структури ДНК важливе значення мають закономірності кількісного вмісту азотистих основ, встановлені вперше Ервіном Чаргаффом в 1949 р. і названі в його честь **правилами Чаргаффа**. При аналізі очищеної ДНК, виділеної з різних джерел, виявилось, що:

- 1) молярна частка пуринів дорівнює молярній частці піримідинів:
 $A + G = C + T$ або $A + G / C + T = 1$
- 2) кількість аденіну й цитозину дорівнює кількості гуаніну й тиміну:
 $A + C = G + T$ або $A + C / G + T$
- 3) кількість аденіну дорівнює кількості тиміну, а кількість гуаніну дорівнює кількості цитозину: $A = T$ і $G = C$; відповідно $A/T = 1$ і $G/C = 1$
- 4) крім того, істотним для характеристики виду (таксономічне значення) виявився так званий коефіцієнт специфічності, що відображає відношення $G + C / A + T$.

Це відношення часто виражають у молярних відсотках ($G + C$), або відсотках ГЦ-пара. Для тварин і більшості рослин цей коефіцієнт нижче одиниці (від 0,54 до 0,94), у мікроорганізмів він коливається в значних межах (від 0,45 до 2,57).

Нуклеозиди

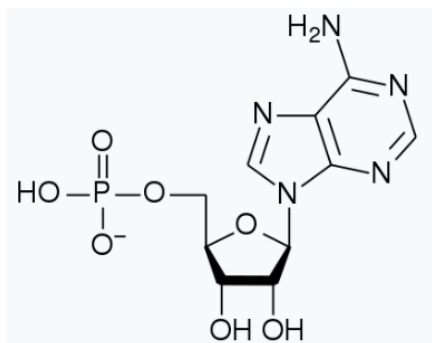
Аденін → **Аденозин (A),**
Дезоксиаденозин (dA)

Гуанін → **Гуанозин (G),**
Дезоксигуанозин (dG)

Цитозин → **Цитидин (C),**
Дезоксицитидин (dC)

Тимін → **Тимідин (T),**
Дезокситимідин (dT)

Урацил → **Уридин (U),**
Дезоксиуридин (dU)

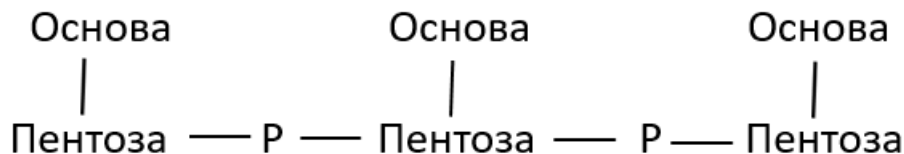


Відомо, що структурною одиницею нуклеїнових кислот є мономерні молекули, що одержали назву мононуклеотидів. Отже, нуклеїнові кислоти являють собою полінуклеотиди. Це продукти полімеризації мононуклеотидів, число й послідовність розташування яких у ланцюгах ДНК і РНК визначаються в відповідності із програмою, закладеною в молекулі матриці. Мононуклеотиди легко утворюються при гідролізі ДНК і РНК у присутності нуклеаз.

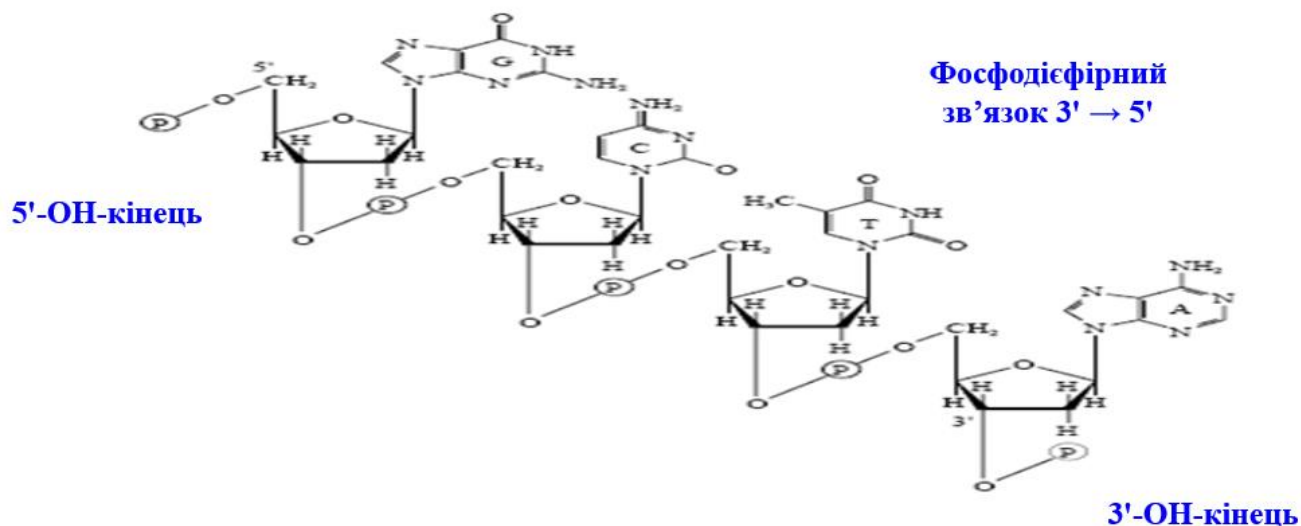
Прикладом може служити формула аденілової кислоти або аденозил-5'-монофосфорної кислоти (АМФ).

Первинна структура нуклеїнових кислот

Під первинною структурою нуклеїнових кислот розуміють порядок, послідовність розташування мононуклеотидів у полінуклеотидному ланцюзі ДНК і РНК. Вона стабілізується 3',5'-фосфодієфірними зв'язками. У всіх нуклеїнових кислотах (точніше, в одноланцюговій нуклеїновій кислоті) є той самий тип зв'язку - 3',5'-фосфодієфірний між сусідніми нуклеотидами. Цю загальну основу структури можна представити в такий спосіб:



Встановлено, що в утворенні міжнуклеотидного зв'язку беруть участь гідроксильні групи в 3'- і 5'-положеннях залишків вуглеводу.





На сьогодні визначено первинну структуру всіх тРНК. Нижче приводиться зразкова схема послідовності нуклеотидів у молекулі РНК. Всі клітинні РНК в основному складаються з одониткового полінуклеотидного ланцюга:

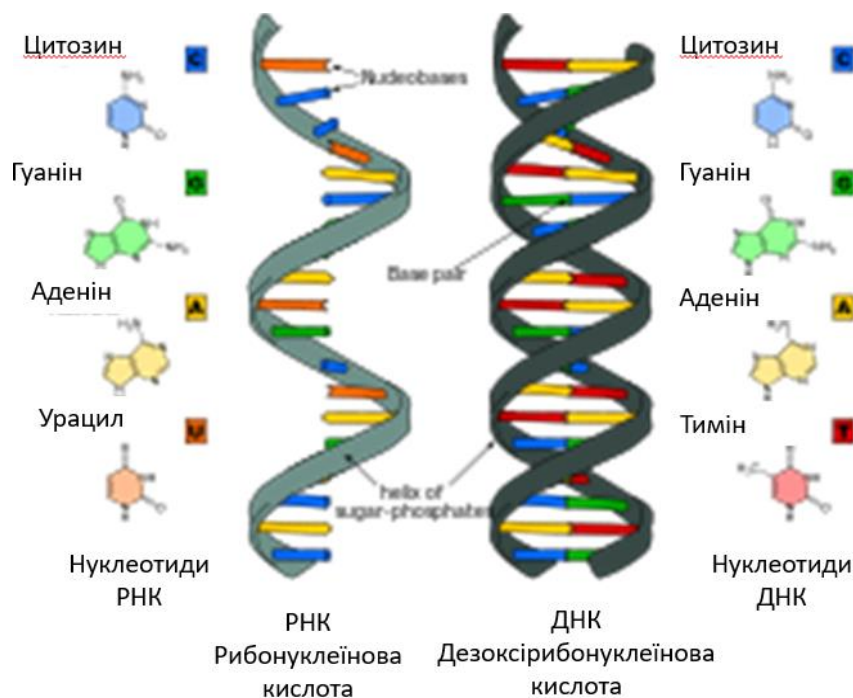


Полінуклеотидний ланцюг молекули РНК має на одному кінці майже завжди вільний монофосфорний ефір, який прийнято позначати як 5'-кінець, а протилежний кінець не має такого фосфату, а містить нуклеотид з вільними 2'- і 3'-гидроксильними групами.

Варто особливо вказати на дві досить істотні особливості первинної структури всіх транспортних РНК. *Перша* з них полягає в тому, що 5'-кінцем завжди є гуанілова (і рідко цитидинова) кислота, що несе вільний залишок фосфату в С^{5'}, а друга особливість пов'язана з наявністю на протилежному кінці молекули залишків трьох мононуклеотидів в однаковій послідовності — ЦЦА, причому залишок аденілової кислоти містить вільну С'-ОН-групу. Між цими структурами в строго певній послідовності розташовуються всі інші нуклеотидні залишки, серед яких на частку мінорних нуклеотидів доводиться до 10 %.

Вторинна структура нуклеїнових кислот

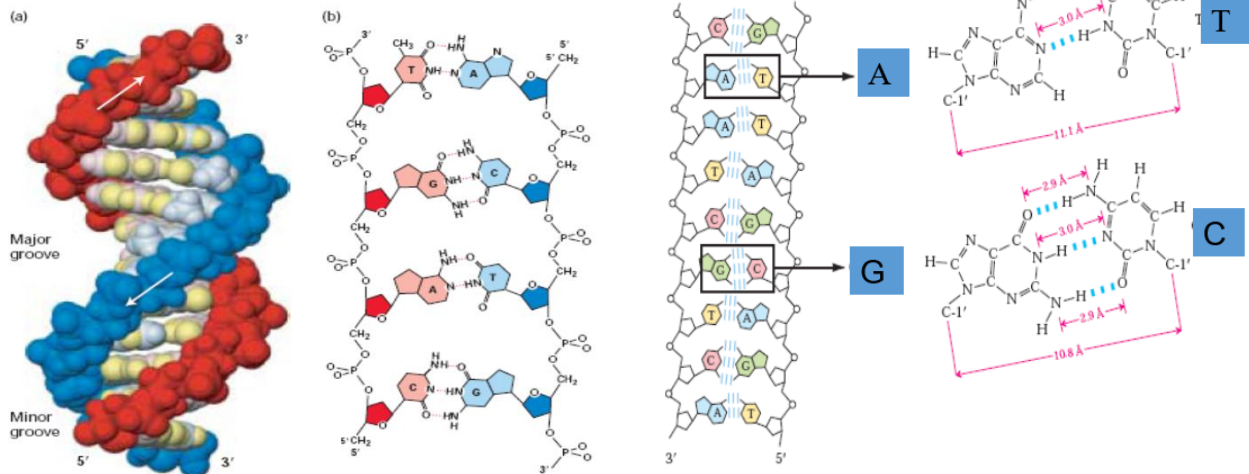
Відповідно до моделі Дж. Уотсона й Ф. Крика, запропонованої в 1953 р. молекула ДНК складається із двох ланцюгів, утворюючи право обертаючу спіраль, у яку обидві полінуклеотидні ланцюги закручені навколо однієї й тієї ж осі. Утримуються ланцюги завдяки водневим зв'язкам, що утворюються між їхніми азотистими основами. Обидва ланцюги полінуклеотидів у біспіральній молекулі ДНК мають суворо певне просторове розташування, при якому азотисті основи перебувають усередині, а фосфорильні й вуглеводні компоненти - зовні.



У біспіральній молекулі ДНК основи розташовані парами: пурин з одного ланцюга й піримідин з іншої. Вони становлять пари *аденін - тимін* і *гуанін — цитозин*. Вибірковість взаємодії А - Т и Г - Ц пар прийнято називати терміном *комплементарність*, а відповідні азотисті основи називають комплементарними. Стабільність А - Т основ забезпечується двома водневими зв'язками, а Г - Ц пари — трьома. Таким чином, комплементарними виявляються не тільки окремі основи, але й дезоксирибонуклеотидні ланцюги ДНК у цілому, сприятливого утворенню досить компактної структури й стабілізації всієї молекули.

Комплементарність основ

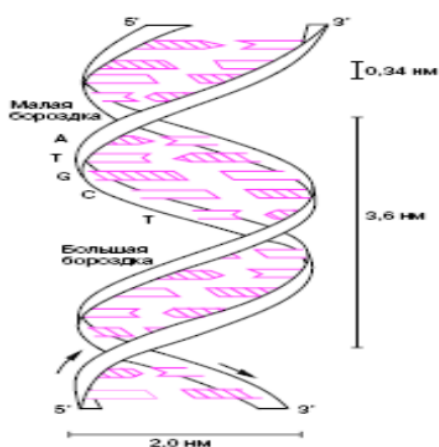
Просторова структура ДНК



Обидва ланцюги в молекулі ДНК мають протилежну полярність. Це означає, що міжнуклеотидний зв'язок в одному ланцюзі має напрямом 5'-3', а в іншому - 3'-5'. Подібна спрямованість ланцюгів має важливе біологічне значення при реплікації й транскрипції молекули ДНК.

З моделі ДНК із подвійною спіраллю видно, що відстань між витками, або інакше крок спіралі, дорівнює 3,4 нм. На цій ділянці укладається 10 нуклеотидних залишків, розмір одного нуклеотиду становить 0,34 нм; діаметр біспіральної молекули дорівнює 1,8 нм.

Подвійна спіраль ДНК



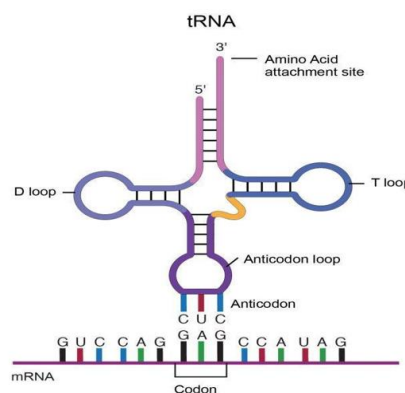
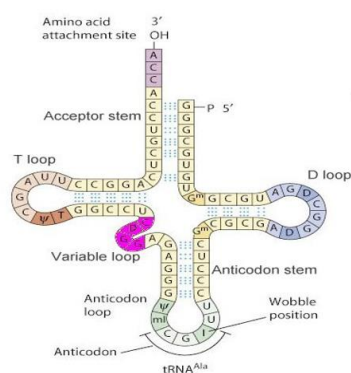
$h = 0,34 \text{ нм}$ -
крок спіралі

$H = 3,4 \text{ нм}$ – 10 п. о.-
виток спіралі

$d = 2,0 \text{ нм}$

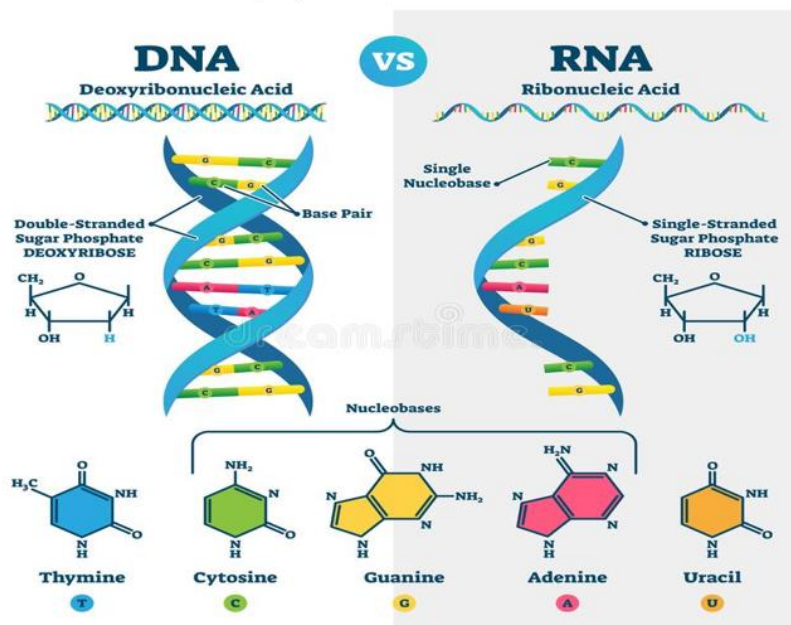
Менш охарактеризована вторинна структура матричних і рибосомних РНК. Щодо вторинної структури тРНК найбільш імовірною представляється модель, запропонована Холлі, пласке зображення якої нагадує конюшиний аркуш. У всіх тРНК є ділянки, взаємодіючі з рибосомами, місця для зв'язування з амінокислотами й з ферментами, а також специфічна послідовність трьох нуклеотидів (триплет), називана антикодоном, яка являється комплементарна тринуклеотидній послідовності мРНК (кодону), що кодує включення в білкову молекулу певної амінокислоти.

Структура т-РНК (листок конюшини)



Всі зовнішні фактори, які руйнують водневі зв'язки викликають денатурацію ДНК. Денатурація ДНК - це будь-які зміни просторового розташування ланцюгів ДНК без розриву ковалентних зв'язків. Звичайно при денатурації відбувається порушення водневих зв'язків. Подвійна спіраль ДНК при цьому повністю або частково розділяється на складові її ланцюга.

Порівняння РНК з ДНК



При нагріванні ДНК поводитья подібно кристалам: дволанцюгова молекула «розплітається» на складові її ланцюга, тому денатурацію ДНК нерідко називають плавленням. Повна денатурація ДНК - це повне розплітання комплементарних ланцюгів.

Третинна структура нуклеїнових кислот

Дослідження цих молекул показали, що подвійна спіраль ДНК на деяких ділянках може піддаватися подальшій спіралізації з утворенням суперспіралі або відкритої кільцевої форми. У деяких вірусах виявлені, крім того, *одноланцюгові* ДНК лінійної й кільцевої форми. Відомо, що суперспіральна структура забезпечує ошадливе пакування величезної молекули ДНК у хромосомі: замість 8 см довжини, що вона могла б мати у витягнутій формі, у хромосомі людини вона настільки щільно упакована, що її довжина укладається в 5 нм.

Суперспіралізація ДНК може бути порушена розривом в одному з ланцюгів або обох ланцюгах подвійної спіралі під дією ДНК-ази або обробкою різними сполуками.

Варто вказати на існування в ряду вірусів природних дволанцюгових РНК, що володіють однотипною із ДНК структурою.

3. Структура ДНК і організація хроматину у еукаріот.

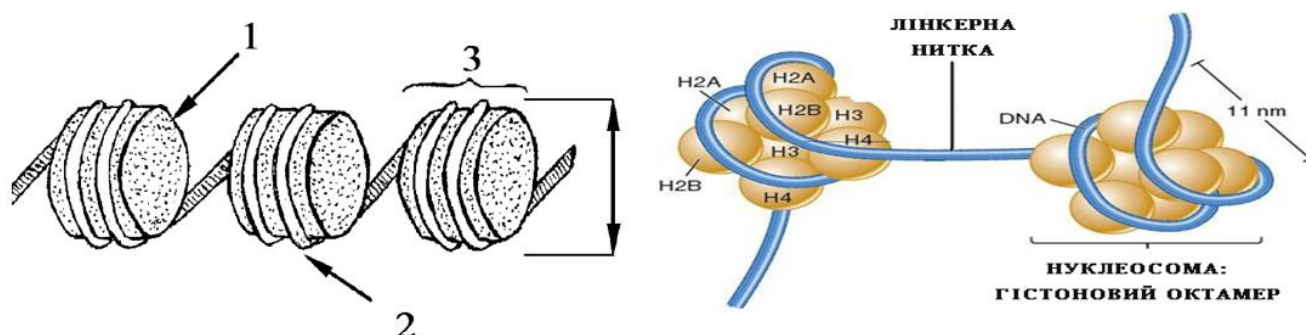
Третинна структура ДНК клітин еукаріот також виражена в багаторазовій суперспіралізації молекули, однак на відміну від прокаріот вона здійснюється у формі комплексів ДНК із білками. ДНК еукаріот майже вся знаходиться в хромосомах ядер, лише невелика кількість її міститься в мітохондріях, а у рослин і в пластидах. Сумарний матеріал хромосом - хроматин - містять ДНК, гістони, негістонові білки, невелику кількість РНК.

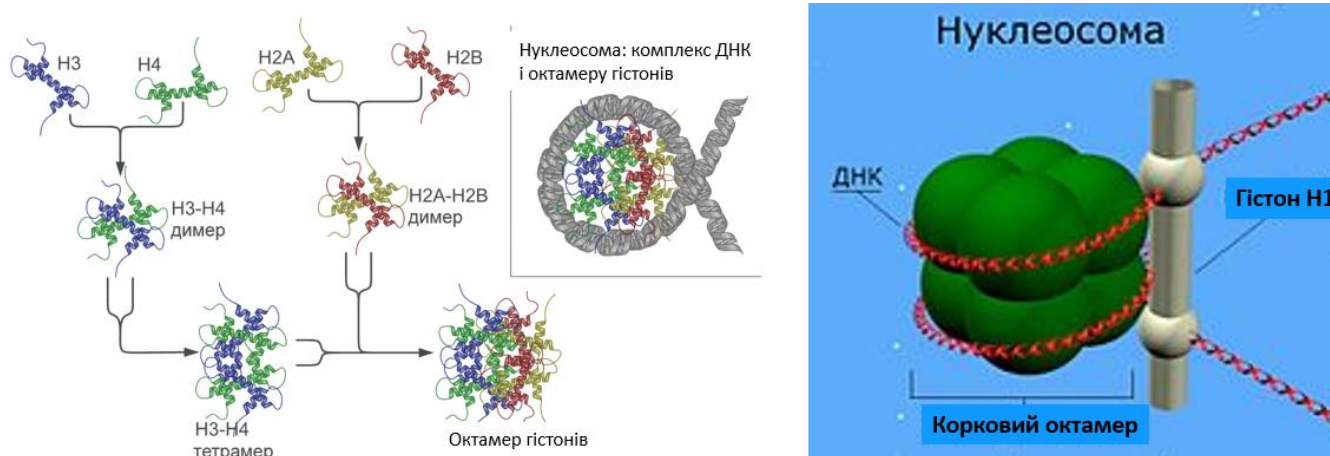
До 50 % хроматину становлять прості білки гістони. Гістони взаємодіють із ДНК в основному через іонні зв'язки (сольові містки), що утворюються між негативно зарядженими фосфатними групами ДНК і позитивно зарядженими лізинними й аргініновими залишками гістонів.

В організації хромосом розрізняють три рівні, які відбивають і рівні третинної структури ДНК. **Перший рівень - нуклеосомний.** Хроматин виглядає в електронному мікроскопі як ланцюжок бусин - нуклеосом. Нуклеосома містить ДНК довжиною 160-240 пар нуклеотидів, одну молекулу гістона Н1 і гістоновий октамер, що містить по 2 молекули чотирьох гістонів Н2А, Н2В, Н3, Н4. Останній складається з 8 молекул - по дві молекули з різних гістонів. З нуклеосом можна виділити нуклеосомне ядро, або нуклеосомний кор.

Нуклеосома – це білкова глобула (октаедр), навколо якої подвійна спіраль ДНК утворює 1,8 витка (200 пар нуклеотидів). Нуклеосомна нитка має діаметр 10-13 нм. **Така структура забезпечує компактизацію ДНК приблизно в 6-7 разів.**

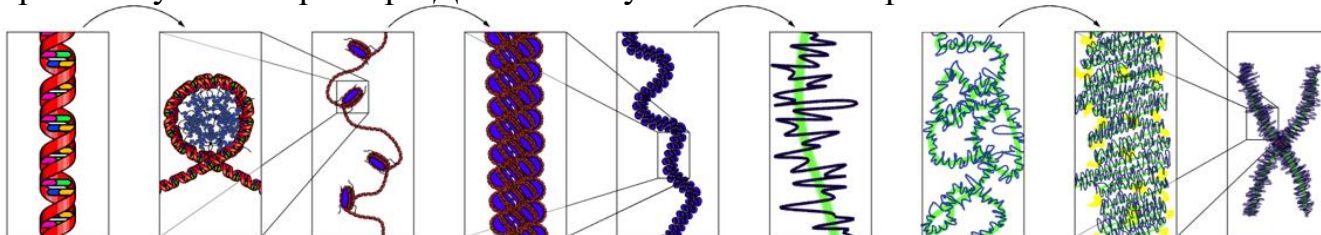
Пакуванню ДНК у нуклеосоми сприяє білок нуклеоплазмин.





Другий рівень організації хромосом — це утворення з нуклеосомної нитки більш товстих фібрил (20-35 нм). Припускають, що фібрили являють собою за формою соленоїди, що утворюються в результаті скручування нуклеосомної нитки. Соленоїдне пакування вважається найбільш імовірним, однак існують і інші моделі організації хроматину, наприклад супербидная. Відповідно до останнього фібрила хроматину діаметром 20-30 нм являє собою ланцюг гранул, кожна з яких складається з восьми нуклеосом. У сумі 1-й і 2-й рівні забезпечують зменшення лінійних розмірів ДНК в 40-50 разів.

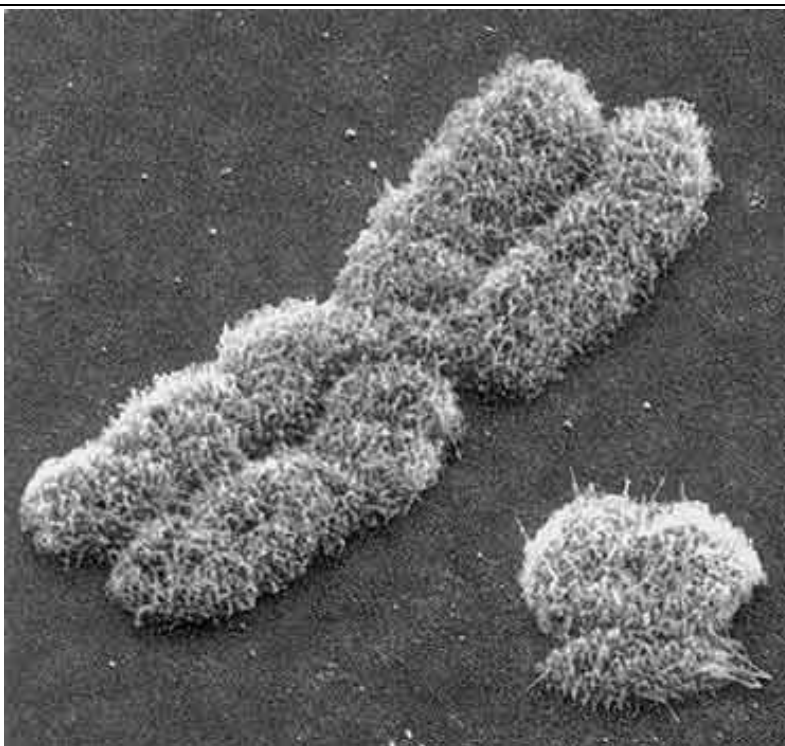
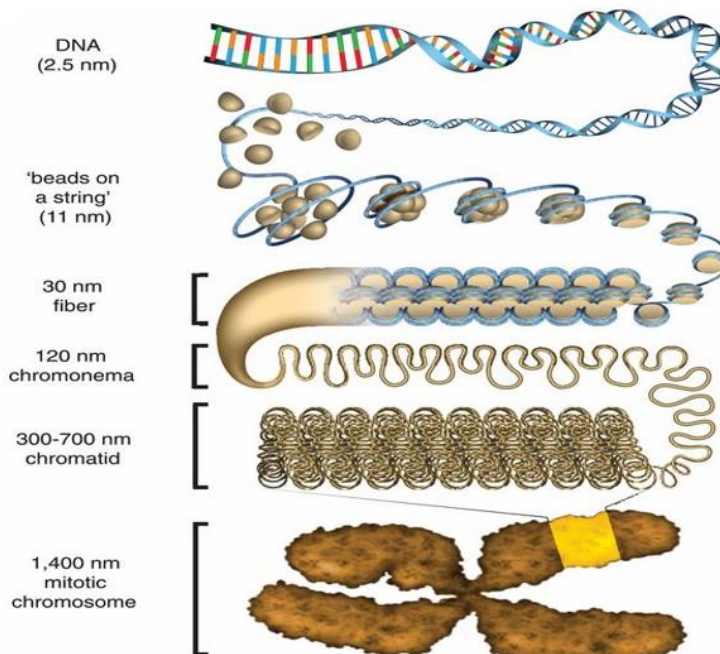
Третій рівень організації хромосом. Фібрила товщиною 25—30 нм утворює петлі, додатково пакується, у результаті чого відбувається зменшення лінійних розмірів ДНК приблизно в 200 разів. Специфічні білки фіксують основи петель і, можливо, якісь їхні внутрішні ділянки. У результаті послідовного пакування хроматину лінійні розміри ДНК зменшуються в 10 000 разів.



Четвертий рівень –
хроматидний.

Утворюються хроматиди,
діаметром приблизно **600-700 нм**

П'ятий рівень – метафазна
хромосома



Електронне фото Х (жіноча) і Y (чоловіча) хромосом людини

Цитоплазматична ДНК. У цитоплазмі еукаріот міститься невелика кількість ДНК (менш 1 % всієї ДНК клітини). Вона одержала назву цитоплазматичної і відрізняється від ядерної ДНК по нуклеотидному складу й молекулярній масі.

Генетична інформація, яка в ній міститься, обумовлює цитоплазматичну спадковість. Цитоплазматичні гени перебувають у мітохондріях і хлоропластах.

Найбільш повно вивчена мітохондріальна ДНК (мтДНК). У клітинах тварин вона представлена дволанцюговими, зазвичай кільцевими молекулами. мтДНК кодує рРНК мітохондріальних рибосом, повний набір тРНК, необхідних для синтезу білка, синтезованого в мітохондріях.

ДНК хлоропластів приблизно в 10 разів більше, ніж мтДНК тварин.

4. Класифікація РНК і їхнє значення

РНК, які містяться в клітині розрізняються розміром, складом, функціями й локалізацією. У цитоплазмі міститься три головних види РНК: транспортна РНК (тРНК) - 10-20 %, матрична або інформаційна РНК (мРНК) становить 2-6 % від всієї клітинної РНК, рибосомна РНК (рРНК) - біля 80-85 %, що відрізняються різним нуклеотидним складом та функцією.

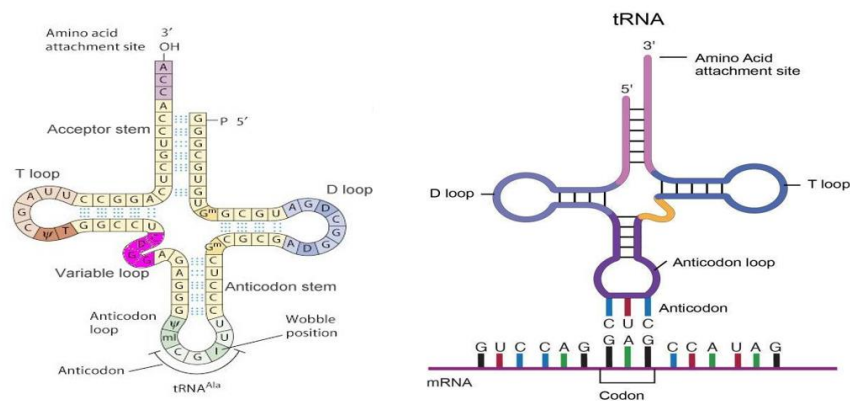
У ядрі локалізована ядерна РНК (яРНК), кількість якої становить від 4 до 10 % від сумарної клітинної РНК.

1. Транспортна РНК. Транспортні РНК - найдрібніші молекули РНК. Вони містять у собі від 75 до 90 нуклеотидних одиниць. Їхня функція полягає в тому, щоб транспортувати амінокислоти в рибосоми й ставити їх у певні ділянки поліпептидного ланцюга при його біосинтезі. Таким чином, тРНК бере участь у процесі *трансляції* й відіграє роль адаптера, тобто своєрідного перекладача: переводить послідовність нуклеотидів у послідовність амінокислотних залишків білкової молекули. Кожній з 20 амінокислот відповідає своя тРНК. Для деяких амінокислот відомо декілька тРНК. У той же час кожний вид тРНК переносить у рибосому тільки один вид амінокислоти, «свою» амінокислоту. У клітині присутні до 60 різних видів тРНК.

Молекула тРНК являє собою одиночний полінуклеотидний ланцюг, закручений «на себе». Вона утворює складну просторову структуру. Всі тРНК побудовані по одному плану, всі вони укладаються в модель «конюшиного листка». Головний принцип, покладений у її основу, - утворення максимальної кількості водневих зв'язків між азотистими основами.

Порівняння первинної структури тРНК, виділених з організмів, що стоять на різних щаблях еволюційного розвитку, свідчить про її велику консервативність. Структура тРНК, які приносять у рибосому перші амінокислоти синтезованого білка, однакова у всіх хребетних тварин. Отже, ці тРНК залишалися незмінними протягом 500 млн. років.

Структура т-РНК (листок конюшини)



2. Матрична (інформаційна) РНК. Матрична РНК утворюється в процесі транскрипції. Вона несе точну копію генетичної інформації, закодованої в певній ділянці ДНК, а саме інформації про послідовність амінокислот у білках. У прокариот матричні РНК (мРНК) утворюється відразу в процесі транскрипції. В еукаріот у процесі транскрипції спочатку утворюються про-мРНК, а потім вони перетворюються в мРНК. Свою назву матрична РНК одержала у зв'язку з тією функцією, що вона виконує в клітині: вона служить матрицею, на якій синтезується поліпептидний ланцюг у рибосомі. Кожній амінокислоті відповідає в мРНК певна трійка (триплет) нуклеотидів, який називається **кодоном** цієї амінокислоти. Послідовність кодонів у ланцюзі мРНК визначає послідовність амінокислот у білку. Оскільки мРНК несе спадкову інформацію про первинну структуру білка, нерідко її називають інформаційною РНК (іРНК).

мРНК складається з ділянок - цистронів, що визначають послідовність амінокислот у білках, які ними кодуються. На кінцях молекули розташовуються нетрансльовані області. Якщо мРНК кодує один білок, то вона називається моноцистронною (моногенною), якщо кілька білків - поліцистронною (полігенною).

Поблизу 5'-кінця мРНК за 3-15 нуклеотидів до першого кодону розташовується послідовність нуклеотидів, необхідна для взаємодії мРНК із рибосоною, вона багата парами АГ. Їй відповідає ділянка рРНК, багата парами ЦУ, він є комплементарним до послідовності мРНК і утворює з нею стабільний комплекс. Після цієї ділянки в мРНК знаходиться ініціюючий кодон АУГ - сигнал початку синтезу білка, а слідом за ним розташовуються кодони, що відповідають амінокислотам. Сигналом закінчення синтезу білка служить кожний з кодонів УАА, УАГ або УГА. Закінчується мРНК звичайно послідовністю полі(А), яка розташована на 3'-Кінці.

мРНК має складну вторинну структуру, що необхідно для зчитування знаків початку (ініціації) і закінчення (термінації) синтезу білка. Існують дані, що мРНК утворює трохи двухспиральних «шпильок», на кінцях яких розташовуються знаки ініціації й термінації.

3. Рибосомна РНК (рРНК) — це та основа, на якій розташовуються білки, утворюючи рибосому. Рибосомні РНК мають V-образну або U-образну форму. Вони утворюють каркас, до якого прикріплюються білки, створюючи щільно упакований рибонуклеопротеїн. Вторинна структура, рРНК створюється за рахунок коротких двоспіральних ділянок молекули - шпильок. Близько 2/3 рРНК організована в шпильки, інша частина молекули представлена одנותяжними «аморфними» ділянками, де зосереджені пуринові основи. З «аморфними» ділянками переважно зв'язані білки рибосом.

При синтезі білка певне число рибосом (від 3 до 80-100) прикріплюється до довгих нитковидних молекул мРНК, утворюючи полісоми. Кожна рибосома в полісомі здатна синтезувати повний поліпептидний ланцюг. Утворення груп рибосом підвищує ефективність використання мРНК, оскільки на ній може одночасно синтезуватися трохи ідентичних поліпептидних ланцюгів. Полісоми перебувають або у вільному стані, або в тісному зв'язку з мембранами ендоплазматичної сітки. мРНК, які кодують внутрішньоклітинні білки, містяться переважно у вільних полісомах, а мРНК, що кодують секреторні білки - в мембранозв'язаних.

ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ З РОЗДІЛУ «НУКЛЕЙНОВІ КИСЛОТИ»

1. Нуклеїнові кислоти — лінійні полімери, в яких нуклеотидні залишки з'єднані між собою з допомогою:

- А. Водневих зв'язків;
- Б. Іонних зв'язків;
- В. 3',5'-фосфодіефірних зв'язків;
- Г. Координаційних зв'язків.

2. У молекулі ДНК число залишків аденіну завжди дорівнює числу залишків:

- А. Тиміну;
- Б. Гуаніну;
- В. Цитозину;
- Г. Ксантину.

3. Один виток подвійної спіралі А-форми ДНК містить таку кількість пар основ:

- А. 5;
Б. 10;
В. 20;
Г. 100;
Д. 200.
- 4. Який з нижчевказаних вуглеводів входить до складу РНК:**
А. β -D-рибофураноза;
Б. Рамноза;
В. β -D-фруктофураноза;
Г. β -D-дезоксирибофураноза.
- 5. Які азотисті основи є мінорними:**
А Аденін;
Б. Гуанін;
В. Тимін;
Г. Пурін;
Д. 6-метиладенін.
- 6. Нуклеозидами з перерахованих нижче сполук є:**
А Аденозин;
Б. 2'-дезокситимідин;
В. Аденінрибонуклеозидмонофосфат;
Г. Аденілова кислота.
- 7. З якою азотистою основою цитозин з'єднується водневими зв'язками?**
А Аденін;
Б. Ксантин;
В. Гуанін;
Г. Гіпоксантин;
Д. Урацил.
- 8. Який вуглеводний компонент входить до складу ДНК:**
А. α -D-дезоксирибофураноза;
Б. Рамноза;
В. β -D-фруктофураноза;
Г. β -D-рибофураноза;
Д. β -D-галактопіраноза.
- 9. Скільки водневих зв'язків утворюється між аденіном і тиміном:**
А. 2
Б. 5
В. 10
Г. 15
Д. 3

10. Скільки водневих зв'язків утворюється між цитозином та гуаніном:
- А. 2
 - Б. 3
 - В. 10
 - Г. 15
 - Д. 5
11. Закономірності чергування мононуклеотидів на структурі ДНК це:
- А. Зворотні повтори;
 - Б. Мінорні чергування;
 - В. Поліндроми;
 - Г. Правила Чаргаффа.
12. Вторинна структура ДНК це:
- А. правостороння спіраль;
 - Б. лівостороння спіраль;
 - В. Подвійна спіраль;
 - Г. L-спіраль.
13. Вторинна структура тРНК має форму:
- А. Спіралі;
 - Б. Клубка;
 - В. Слоїстого листка;
 - Г. Листка конюшини.
14. Дж. Уотсон і Ф. Крик встановили, що подвійна спіраль ДНК стабілізується за рахунок зв'язків між комплементарними азотистими основами. Які це зв'язки?
- А. Водневі;
 - Б. N-Глікозидні;
 - В. Пептидні;
 - Г. Складноефірні.
15. У всіх живих організмів одні й ті ж триплети кодують одні й ті ж амінокислоти, що дозволяє пересадити *E. coli* ген інсуліну людини. Як називається ця властивість генетичного коду?
- А. Універсальність;
 - Б. Виродженість;
 - В. Надлишковість;
 - Г. Триплетність;
 - Д. Безперервність.
16. Відомо, що інформацію про послідовність амінокислот у молекулі білка записано у вигляді послідовності чотирьох видів нуклеотидів у молекулі

ДНК, причому різні амінокислоти кодуються різною кількістю триплетів – від одного до шести. Як називається така особливість генетичного коду?

- А.** Виродженість;
- Б.** Безмістовність;
- В.** Специфічність;
- Г.** Триплетність;
- Д.** Універсальність.

РОЗДІЛ 7

ВІТАМІНИ

ПЛАН

1. Загальна характеристика й класифікація вітамінів.
2. Жиророзчинні вітаміни: будова, функції й потреба
3. Водорозчинні вітаміни: будова, функції й потреба

1. Загальна характеристика й класифікація вітамінів

Вітаміни - низькомолекулярні органічні сполуки, які, будучи присутнім у їжі в невеликих кількостях, є незамінними її компонентами, забезпечують нормальне протікання біохімічних і фізіологічних процесів шляхом участі в регуляції метаболізму. Вітаміни не включаються в структуру тканин людини й тварин і не використовуються як джерело енергії.



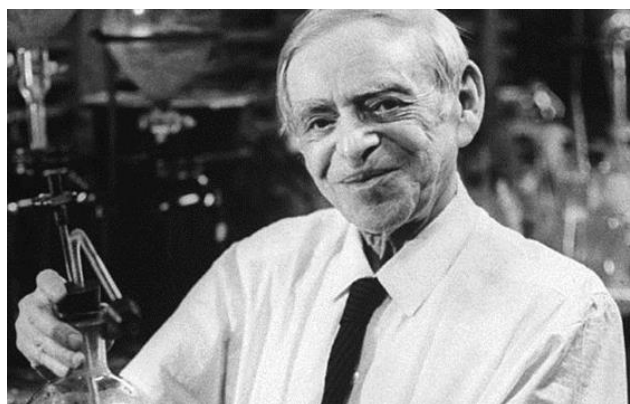
Перші дослідження, що вказали на необхідність присутності в їжі, крім головних компонентів - вуглеводів, білків, жирів, мінеральних речовин і води, ще і якихось інших додаткових речовин, необхідних для життя, були проведені Миколою Луніним (1880).

Оскільки перша речовина, виділена Карлом Функом в 1912 р. у кристалічному виді з екстрактів оболонки рису, що охороняло від розвитку бери-бери, виявилася органічною сполукою, що містить аміногрупу, він запропонував називати ці невідомі речовини вітамінами (від лат. *vita* - життя), тобто амінами життя. Однак, з погляду хімії, назва «вітаміни» у наш час втратило зміст, оскільки

встановлено, що вони не всі містять аміногрупу або азот.

В організмі людини деякі вітаміни не синтезуються взагалі, інші - синтезуються кишковою мікрофлорою й тканинами в недостатніх кількостях, тому вітаміни повинні надходити з їжею.

Багато вітамінів являють собою вихідний матеріал для біосинтезу коферментів і простетичних груп



ферментів. У цьому складається одна з основних причин необхідності вітамінів для нормального протікання обмінних процесів.

У визначенні поняття «вітаміни» дотепер існують розбіжності, оскільки є ряд прикладів, коли вітаміни виявляються незамінними факторами харчування для людини, але не для деяких тварин. Зокрема, відомо, що цинга (*скорбут*) розвивається в людини й у морських свинок, але не виникає в пацюків, кроликів і інших тварин під час відсутності вітаміну С, тобто в останньому випадку вітамін С не є харчовим або незамінним фактором. З іншого боку, деякі амінокислоти, як і ряд рослинних ненасичених жирних кислот (лінолева, ліноленова й ін.) виявилися незамінними для людини, оскільки вони не синтезуються в його організмі. Однак в останньому випадку перераховані речовини не відносять до вітамінів, тому що вітаміни відрізняються від всіх інших органічних харчових речовин двома характерними ознаками: 1) не включаються в структуру тканин (як правило); 2) не використовуються організмом як джерело енергії.

Незважаючи на точне встановлення хімічної будови, вітаміни зберегли назви у вигляді букв латинського алфавіту, що відбивають хронологічну послідовність їхнього відкриття.

КЛАСИФІКАЦІЯ ВІТАМІНІВ

Номенклатура вітамінів

1. Літерами латинського алфавіту – вітамін А, D, В₁ та ін.
2. Від назви захворювання, розвитку якого запобігає вітамін, плюс префікс анти- (вітамін А – антиксерофтальмічний, вітамін D – антирахітичний).
3. За хімічною будовою (вітамін А – ретинол, вітамін D – кальциферол).

Сучасна класифікація вітамінів не є досконалою; вона включає фізико-хімічні властивості (зокрема, розчинність), хімічну природу й літерні позначення. Залежно від розчинності розрізняють жиророзчинні й водорозчинні вітаміни. У наведеній нижче класифікації вітамінів, крім буквеного найменування, у дужках дається позначення основного біологічного ефекту, іноді із приставкою «анти», що вказує на здатність даного вітаміну запобігати або усувати розвиток відповідного захворювання:

I. Жиророзчинні вітаміни:

1. Вітамін А (антиксерофтальмічний).
2. Вітамін Д (антирахітичний).
3. Вітамін Е (вітамін розмноження).
4. Вітамін К (антигеморагічний).

II. Водорозчинні вітаміни:

1. Вітамін В₁ (антиневрічний).
2. Вітамін В₂ (рибофлавін).

3. Вітамін В₃ (пантотенова кислота, антидерматитний).
4. Вітамін В₅ (Вітамін РР, антипеллагричний, ніацин).
5. Вітамін В₆ (антидерматитний, адермін).
6. Вітамін В₁₂ (антианемічний).
7. Вітамін В_с (антианемічний, фактор, фолієва кислота, фолацин)
8. Біотин (вітамін Н, антисеборійний).
9. Вітамін З (антискорбутний).
10. Вітамін Р (вітамін проникності).

За клініко-фізіологічними властивостями:

1. Ті, що підвищують загальну резистентність організму (В₁, В₂, В₅, В₆, С і А)
2. Антигеморагічні (проти виникнення крововиливів) – вітаміни К, Р, С.
3. Антианемічні (покращують процеси кроветворення) – вітаміни В₁₂, В_с, С.
4. Регулятори зору – вітаміни А, В₂, С.
5. Антиінфекційні – вітаміни А, С.

Крім цих двох головних груп вітамінів, розрізняють групу різноманітних хімічних речовин, що частково синтезуються в організмі й мають вітамінні властивості; для людини й ряду тварин ці речовини прийнято поєднувати в групу вітаміноподібних. До них відносять *холін, ліноєву кислоту, вітамін В₁₅ (пангамова кислота), оротову кислоту, інозит, убіхінон, параамінобензойну кислоту, есенціальні поліненасичені жирні кислоти, вітамін U (противиразковий фактор)* і ряд інших.

Для характеристики забезпеченості організму яким-небудь вітаміном прийнято розрізняти три її форми: *авітаміноз, гіповітаміноз, гіпервітаміноз*. Перший термін застосовують відносно комплексу симптомів, що розвиваються в результаті досить тривалого, повного або майже повної відсутності одного з вітамінів. Спільна недостатність декількох вітамінів називається *поліавітамінозом*. Під *гіповітамінозом* розуміють стан, що характеризує часткову, але вже виявилася специфічним образом недостатність вітаміну. Досить поширений розподіл гіповітамінозів на дві групи: *харчовий* гіповітаміноз як наслідок тривалого субнормального забезпечення організму вітаміном, і *ендогенний* гіповітаміноз, коли симптоми вітамінної недостатності виникають на тлі нормального надходження вітаміну, але обмежено використовуюваного внаслідок яких-небудь причин. Практично в людини зустрічається саме ця форма захворювання, тобто стан відносної недостатності вітаміну.

У ряді випадків виявлені антагоністичні взаємини між окремими вітамінами, коли один з них перешкоджає дії або усмоктуванню й асиміляції іншого. Такі стани одні автори схильні відносити до різновиду гіповітамінозів, інші пропонують увести термін – *дисвітаміноз*.

Загальні симптоми гіпо- і авітамінозів:

1. Сповільненість росту і розвитку тварин.
2. Зменшення продуктивності тварин.
3. Зменшення резистентності організму.
4. Зменшення апетиту.
5. Швидка втомлюваність, сонливість.

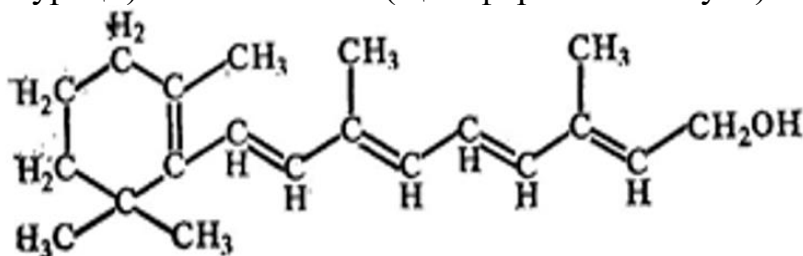
На їх фоні розвиваються специфічні симптоми, характерні для кожного вітаміну.

Якщо в організм попадають схожі структурні аналоги вітамінів, які називають **антивітамінами**, це призводить до стану гіповітамінозу. Антивітаміни звичайно блокують активні центри ферментів, витісняючи відповідне похідне вітамінів з активного центра й викликають конкурентне гальмування.

У літературі описані також патологічні стани, пов'язані з надходженням надмірно більших кількостей вітамінів в організм - **гіпервітамінози**. Ці захворювання зустрічаються рідше, ніж гіповітамінози, однак описані випадки гіпервітамінозів А, Д, К і деяких інших.

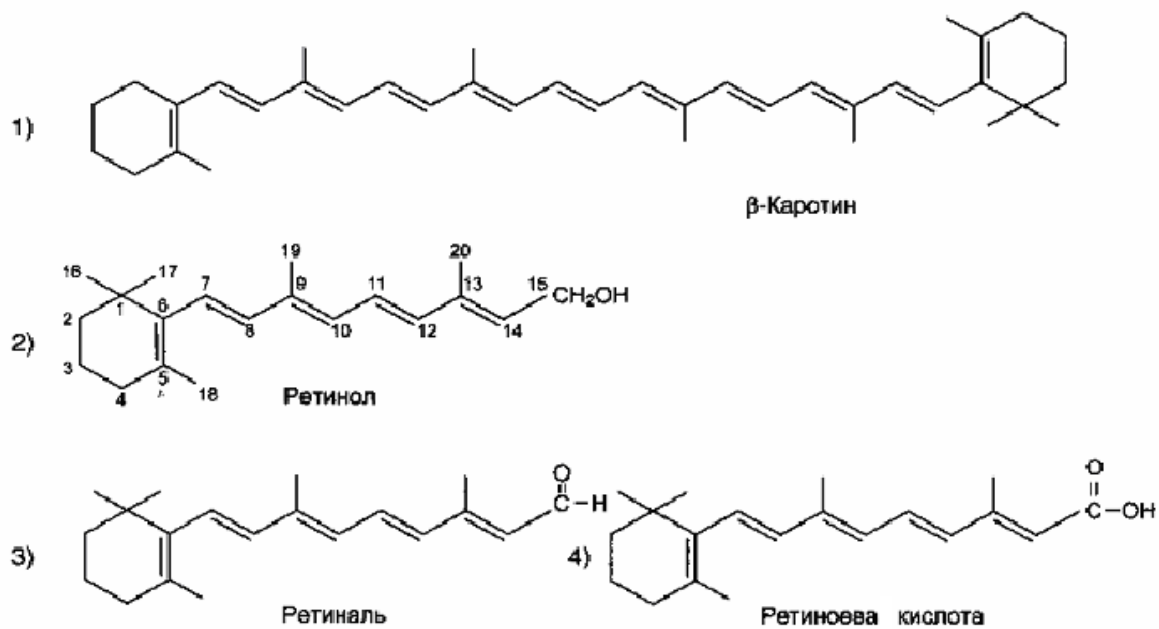
2. Жиророзчинні вітаміни: будова, функції й потреба

Вітамін А (антиксерофтальмічний, ретинол, аксерофтол). Відомі три вітаміни цієї групи: А₁ А₂ (у них всі подвійні зв'язки перебувають у транс-конфігурації) і неовітамін А (цис-форма вітаміну А).



Вітамін А (ретинол)

Раннім симптомом авітамінозу А є ослаблення темної адаптації, аж до повної втрати зору в сутінках - куряча сліпота. Один з основних проявів авітамінозу А полягає в системній поразці епітеліальної тканини. На цій основі, зокрема, відбувається поразка рогової оболонки ока. Порушується будова її захисного епітелію, вона піддається зроговінню, висихає, втрачає прозорість - розвивається **ксерофтальмія** (від греч. *ксерос* - *сухий*, *офтальмос* - *око*), за якого треба **кератомаліяція** (розм'якшення рогівки).

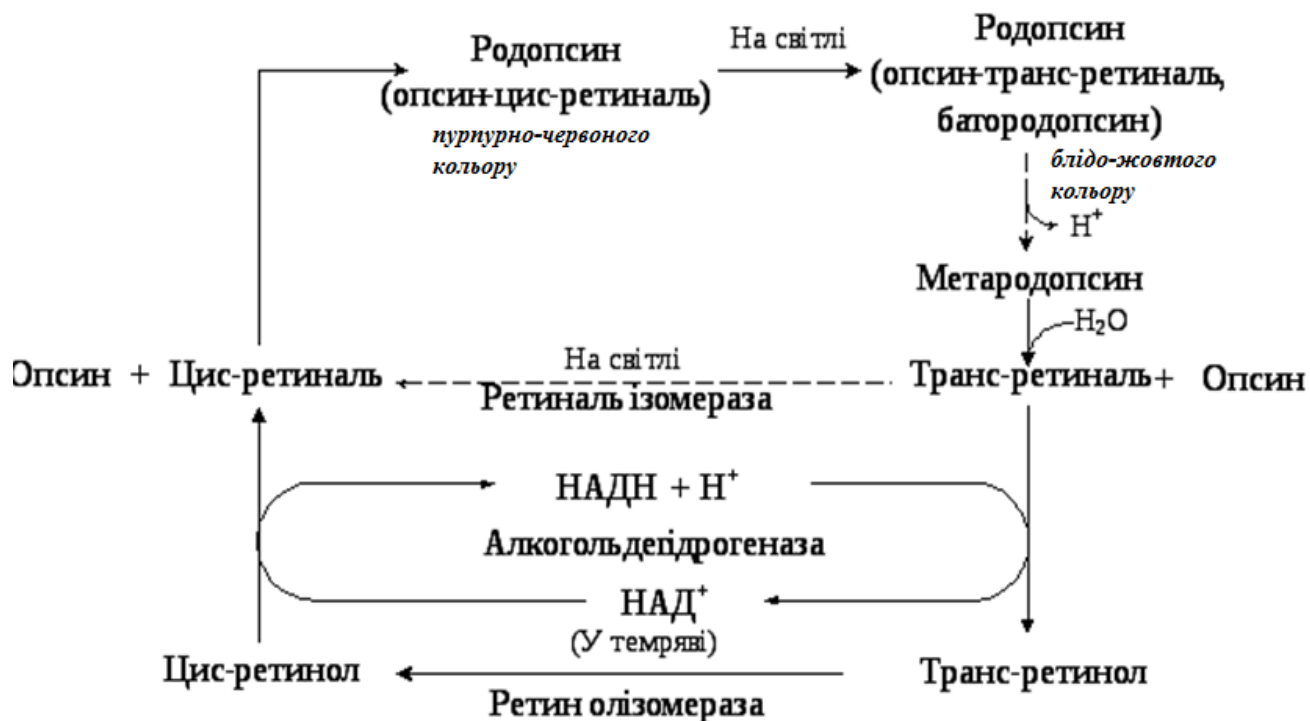


1. "Куряча сліпотя".
2. Ослаблення резистентності.
3. Ксерофтальмія → кератомалія → втрата зору.

4. Кератинізація слизових → катаральне запалення травних, дихальних, сечостатевого шляхів.

Найбільш специфічною функцією вітаміну А є його участь у процесах фоторецепції. Фоточутливий пігмент, що перебуває в зовнішньому сегменті паличок сітківки (відповідальний за сутінковий зір) людини, наземних хребетних і морських риб, - родопсин - є хромопротеїдом, що складається із хромофорної групи - вітаміну А-альдегіду (ретиналь) і білка опсину. Під дією світла **цис**-ретиналь відщеплюється від родопсину й одночасно переходить у **транс**-форму. Знебарвлена в результаті відщиплення ретиналю, молекула родопсину запускає складний ланцюг ферментних реакцій у зоровій клітці - ферментативний каскад посилення слабкого світлового сигналу. Знебарвлення родопсину зв'язане також з підвищенням проникності фоторецепторної мембрани. У результаті всіх цих процесів відбувається порушення зорового нерва.

Синтез **цис**-ретиналю лише частково відбувається в сітківці, основне місце його утворення – печінка.

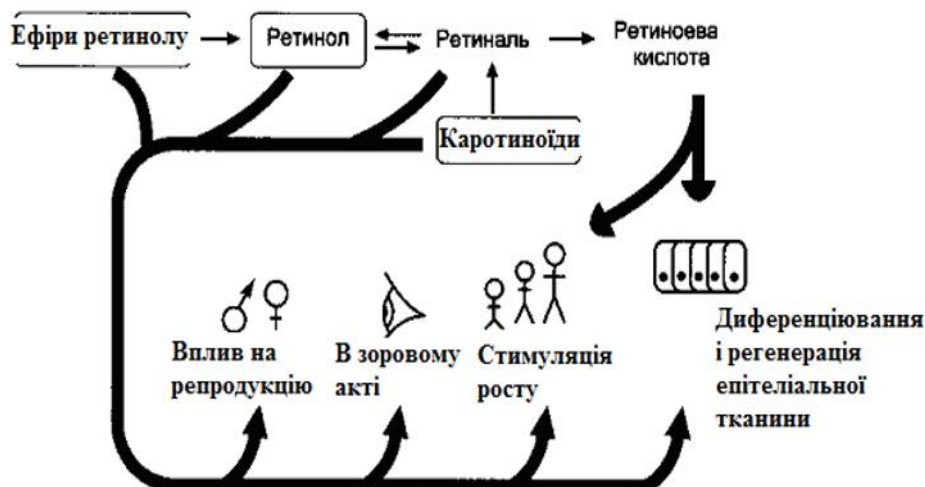


При А-вітамінній недостатності слабшають механізми імунітету. Надлишкове введення вітаміну А може викликати гіпервітаміноз, інтоксикацію. Особливо важко вона протікає в дітей.

Біологічна роль вітаміну А

1. Регуляція синтезу білка.
2. Регуляція обміну сірковмісних амінокислот.

3. Світлосприйняття.
4. Збереженість мембран.
5. Синтез вуглеводів та глікопротеїдів.
6. Синтез нуклеїнових кислот.
7. Активування ендокринних залоз.



Вітамін А широко розповсюджений. Найбільш багаті цим вітаміном наступні продукти тваринного походження: печінка великої рогатої худоби, свиней, курей, яєчний жовток, незбиране молоко, сметана, вершки. Особливо багато вільного вітаміну А в жирах печінки морського окуня, тріски, палтуса; зокрема в жирі печінки морського окуня вміст вітаміну А доходить до 35 %. Добове споживання вітаміну А, що рекомендується, для дорослої людини - 2, 5-3 мг або від 4 до 10 мг β -каротину. Основною тканиною, у якій накопичується вітамін А у тварин і людини, є печінка.

Вітамін А в вищих рослинах і мікроорганізмах не синтезується, але в них утворюються його попередники - каротиноїди. Їх особливо багато в моркві, помідорах, шпинаті, перці.

Вміст β -каротину (мг %) в рослинах

Морква червона.....	9,0	Щавель.....	2,5
Морква жовта.....	1,1	Гарбуз.....	1,5
Перець солод. зел.....	1,0	Диня.....	0,4
Перець солод. черв.....	2,0	Горобина червона.....	9,0
Цибуля зел.....	2,0	Обліпиха (ягода).....	10,0
Горох зелений.....	0,4	Абрикоси.....	1,6
Петрушка (зелень).....	1,7	Персики.....	0,5
Салат листовий.....	1,7	Морошка.....	7,9
Помідори.....	1,2	Шипшина (свіжа).....	2,6
Шпинат.....	4,5	Мандарини.....	0,06

Важливий прояв механізму дії вітаміну А полягає в його участі в регуляції проникності мембран, а також у транспорті моносахаридів, необхідних для біосинтезу глікопротеїдів. Вітамін А впливає на засвоєння білка їжі і його обмін в організмі, а також на деякі сторони обміну ліпідів.

Вітамін Д (антирахітичний, кальциферол). Назва кальциферолу поєднує групу родинних сполук, що володіють антирахітичною активністю. Найважливіші серед них - холекальциферол (вітамін Д₃) і ергокальциферол (вітамін Д₂).

Провітаміном холекальциферолу є 7-дигідрохолестерин, який утворюється з холестерину, провітаміном ергокальциферолу - ергостерин, присутній у рослинах і мікроорганізмах (особливо багато в дріжджах).

Нестача вітаміну Д призводить до виникнення рахіту.

Великі дози вітаміну Д можуть викликати гіпервітаміноз, що проявляється в різкому схудненні, зупинці росту, різких болях у суглобах, судорогах, утрудненні подиху, кальцифікації нирок. Він був відзначений після прийому більше 1 500 000 МЕ вітаміну Д на добу.

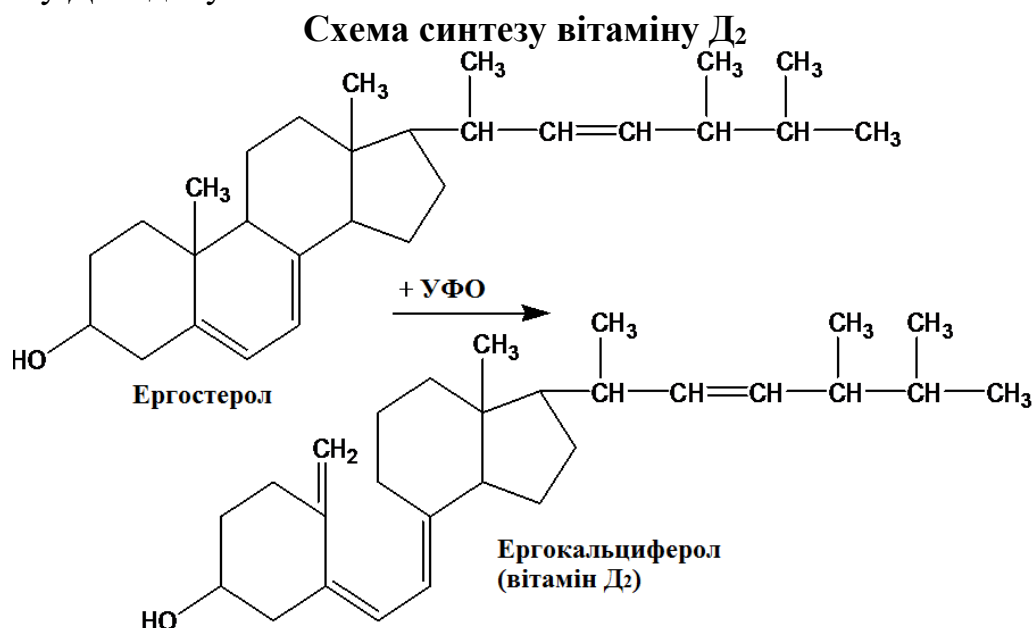
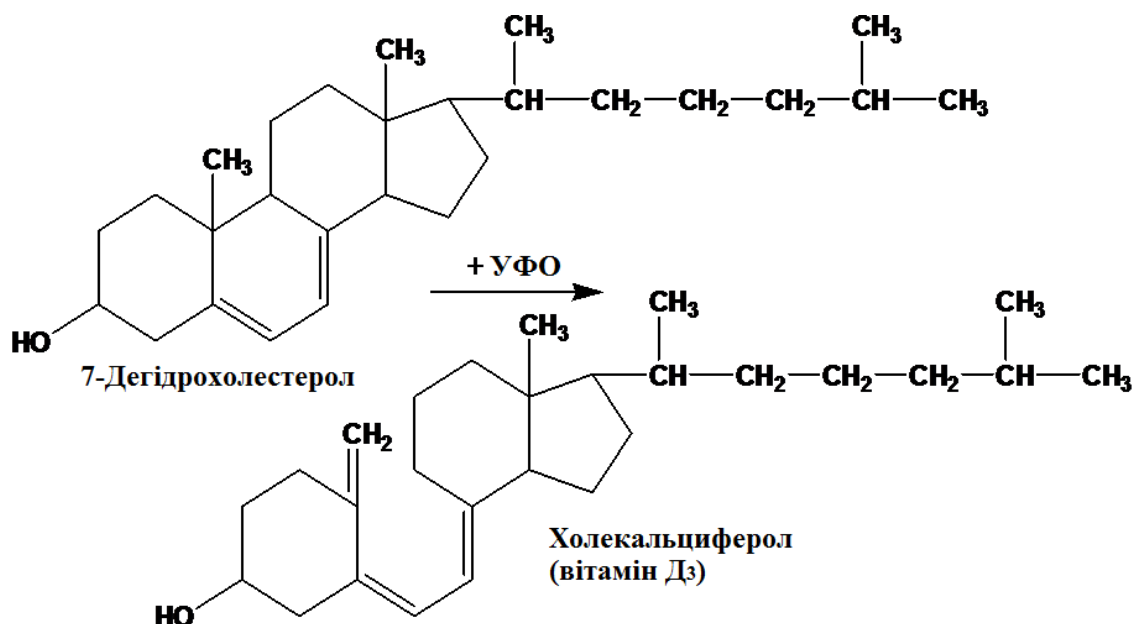


Схема синтезу вітаміну D₃



Джерелами вітаміну в їжі є риб'ячий жир, печінка тріски, ікра, яєчні жовтки, вершкове масло. Вітамін D₃ міститься виключно в продуктах тваринного походження (яєчні жовтки, печінка, ікра, риб'ячий жир).

За природної інсоляції (знаходженні на сонці) синтез вітаміну D₃ відбувається в підшкірній жировій клітковині з провітаміну – 7-дегідрохолестеролу.

В зелених рослинах і дріжджах міститься його провітамін – ергостерол. При сушінні зелених рослин на сонці з провітаміну утворюється вітамін D₂.

Біологічна роль вітаміну D

1. Засвоєння Ca²⁺
2. Реадсорбція P
3. Кальцифікація кісток
4. Синтез лимонної кислоти
5. Інгібування фосфатази

Ознаки авітамінозу D

1. У молодих тварин, які ростуть виникає захворювання *рахіт*. При цьому порушується кальцифікація кісткової тканини. Кістки стають м'якими і під впливом ваги тіла кістки кінцівок викривляються.

Характерним є нерівномірний ріст кісток черепа, а також м'язова дистрофія (відвислий живіт, в'ялість м'язів).

2. У дорослих тварин захворювання – *остеомаліяція*. Воно характеризується вимиванням солей кальцію з кісток та їх подальшим розм'якшенням.

3. У старих тварин захворювання – **остеопороз** – виникнення пустот у кістках внаслідок вимивання солей кальцію. І, як наслідок, механічна їх неміцність (часті переломи).

4. У птиці типовим проявом авітамінозу D є наявність дуже тонкої шкаралупи, а іноді і повна її відсутність.



Добове споживання вітаміну D дітьми до 6 років повинне становити від 500 до 1000 МЕ, а в більше старшому віці в дорослому стані - 100 МЕ. Однак у підтримці необхідного загального вмісту вітаміну D у організмі найважливішу роль грає його ендогенне утворення з 7-дегідрохолестерину під впливом ультрафіолетової частини світла.

Вітамін D виконує свої специфічні функції в обміні речовин не у вигляді холе- або ергокальциферолу, а у формі активних метаболітів, що утворюються з них, найважливішим з яких є 1, 25-дихолекальциферол. Холекальциферол у печінці перетворюється в 25-оксихолекальциферол. Останній гідроксильується в нирках з утворенням 1,25-дихолекальциферолу. Основні функції вітаміну D в організмі пов'язані із забезпеченням транспорту Ca й P через біологічні мембрани.

1. Перенос іонів Ca й P через епітеліальні клітини слизуватої тонкого кишечника в процесі їхнього усмоктування. Вітамін D вступає в комплекс із Ca-зв'язувачим білком у кишечнику. Доведено, що один з білків слизової кишечника під впливом 1-дихолекальциферолу здобуває здатність активно зв'язувати Ca.

Існує гіпотеза, відповідно до якої вважають, що вітамін Д є необхідним компонентом процесу синтезу самого Са-зв'язувачого білка.

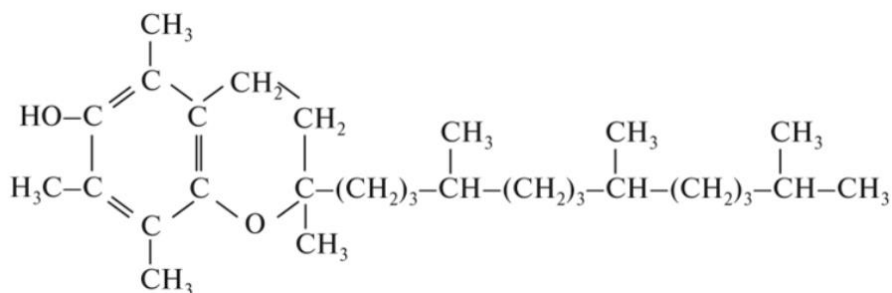
2. Мобілізація кальцію з кістяка.

3. Реабсорбція фосфату й кальцію в брунькових каналцях. У підсумку вітамін Д обумовлює оптимальний зміст Са й Р у плазмі крові, необхідне для мінералізації кісткової тканини.

Вітамін Е (токоферол, вітамін розмноження).

Було відзначено, що в змішаній їжі знаходиться речовина, яка абсолютно необхідно для нормального розмноження тварин. Так, у пацюків, що втримуються на синтетичній дієті, що включає молоко, препарати заліза й дріжджі (як джерело вітамінів групи В), розвивалася безплідність. Додавання до такої дієти листів салату повністю виліковувало тварин від безплідності. Активна речовина, що охороняє від

безплідності, була виділена з масла пшеничних зародків і з бавовняного масла й названо вітаміном Е, або токоферолом (від греч. *tokos* - потомство, *phero* - несу).



У цей час відомо 8 природних сполук, що володіють біологічною активністю вітаміну Е. Всі вони виділені в чистому виді з рослинних олій або отримані синтетичним шляхом.

Назва	Хімічна структура
Альфа-токоферол	
Бета-токоферол	
Гамма-токоферол	
Дельта-токоферол	

Симптомами недостатності вітаміну Е у тварин є наступні:

1. Розсмоктування плодів при вагітності.
2. Дегенерація насінників у самців: зниження рухливості сперматозоїдів і прогресуюча дегенерація зародкового епітелію з атрофією й зменшенням маси насінників.
3. М'язова дистрофія. Це один з основних проявів недостатності вітаміну Е в кроликів, морських свинок і багатьох видів свійських тварина.
4. Анемія в мавп і людини зі зниженням тривалості життя еритроцитів і порушенням еритропоезу в кістковому мозку.
5. Підвищена чутливість еритроцитів до перекісного гемолізу - один з найбільш універсальних проявів недостатності вітаміну Е, характерне, видимо, для всіх видів тварин.

Біологічна роль токоферолів

1. Біологічний антиоксидант для:
 - а) полієнових жирних кислот;
 - б) вітаміну А та каротинів;
 - в) мембранних структур.
2. Транспорт електронів у дихальному ланцюзі.

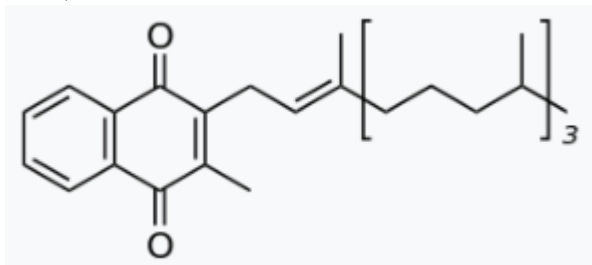
Одна з найбільш ретельно розроблених гіпотез, що дозволяють на єдиній основі пояснити численні й різноманітні прояви недостатності вітаміну Е, - *антиоксидантна гіпотеза*. Відповідно до неї токофероли виконують у живих тканинах роль біологічних антиоксидантів, які інактивують вільні радикали й тим самим перешкоджають розвитку нерегульованих ланцюгових вільнорадикальних процесів перекісного окислювання ненасичених тканинних ліпідів молекулярним киснем. Оскільки ненасичені ліпіди є компонентами ліпопротеїнів мембран кліток і субклітинних органел, те посилення їхнього перекісного окислювання при зниженні концентрації токоферолу в тканинах приводить до ушкодження структури, порушенню проникності й функціональної активності клітинних і субклітинних мембран. Цей дефект і лежить в основі різноманітних біохімічних, морфологічних і клінічних проявів нестачі вітаміну Е.

Крім цього, величезна роль належить вітаміну Е в підтримці цілісності клітинних мембран, структурним компонентом яких він є.

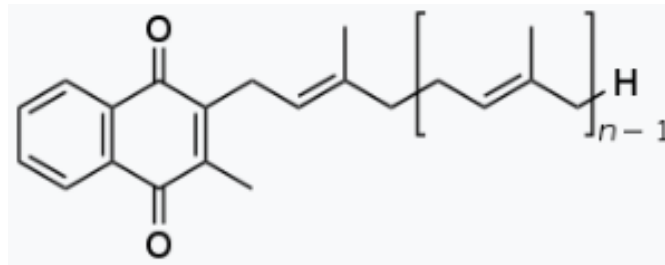
Вітаміни групи Е ставляться до досить розповсюдженого в природі сполукам. Найважливішими джерелами вітаміну Е для людини є рослинні олії (соняшникова, бавовняна, соєва, кукурудзяна й ін.), а також салат, капуста й насіння злаків. З продуктів тваринного походження вітамін Е знаходиться в достатній кількості в м'ясі, вершковому маслі, яєчному жовтку й ін. Оскільки вітамін Е відкладається в організмі в ряді тканин розвиток авітамінозу або гіповітамінозу Е майже не

спостерігається. Добова потреба у вітаміні Е становить 20-30 мг для дорослої людини.

Вітамін К (антигеморагічний, філохінони, менахінони). Вітаміни групи До широко поширені в природі й представлені двома рядами хінонів - філохінонами (вітамінами К₁) і менахінонами (вітамінами К₂). Основою молекули тих і інших є 1,4-нафтохінон. Філохінони відрізняються від менахінонів структурою бічного ланцюга.

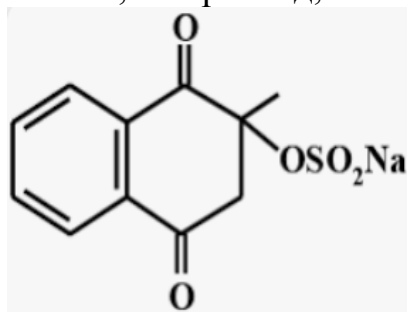


Вітамін К₁ (філохінон)



Вітамін К₂ (менахінон)

У тканинах тварин нафтохінони представлені філохінонами й менахінонами аліментарного походження (надходять із їжею), а також менахінонами, які утворюються в організмі. Крім того, менахінони можуть утворюватися організмі при введенні синтетичних нафтохінонів, наприклад, вікасолу й менадіону.



Вікасол

Вітамін К є антигеморагічним фактором, певним чином зв'язаним зі згортанням крові. Тому при авітамініозі К виникають мимовільні кровотечі (носові кровотечі, внутрішні крововиливи). Крім того, будь-які поразки посудин (включаючи хірургічні операції) при авітамініозі К можуть принести до рясних кровотеч. У людини авітаміноз К позначається рідше, ніж інші авітамінози. Пояснюється це двома обставинами: *по-перше*, змішана їжа досить багата вітаміном К и, *по-друге*, синтезованого кишковою мікрофлорою кількості вітаміну К цілком достатньо для запобігання авітамінозу. Авітаміноз звичайно розвивається при порушенні процесу всмоктування жирів у кишечнику. Дефіцит вітаміну К нерідко

спостерігається в новонароджених дітей через низький його вміст у молоці й відсутності в кишечнику синтезуючої його мікрофлори.

Багаті джерела вітаміну К - зелені рослини.

У людини потреба немовляти у вітамінах становить від 2 до 12 мкг/доб. Добова потреба у вітаміні К для дорослої людини не встановлена, оскільки він синтезується мікроорганізмами кишечника. Біологічно активною формою вітаміну К у організмі людини й тварин є менахінон-4, тому що всі інші форми вітаміну К трансформуються в неї.

Механізм дії нафтохінонів полягає в:

1. Учасі вітаміну К у окисному фосфорилуванні.
2. Учасі вітаміну К у синтезі прокоагулянтів (факторів згортання крові II, VII, IX і X).

Одним з потужних антивітамінів К є природна речовина дикумарол (дикумарин), введення якого викликає різке зниження в крові протромбіну й ряду інших білкових факторів згортання крові й відповідно кровотечі. Аналогічною властивістю володіє, крім того, саліцилова кислота.

Вітамін F

Полієнові кислоти (поліненасичені):

- Лінолева – $C_{17}H_{31}COOH$ (два = зв'язки)
- Ліноленова – $C_{17}H_{29}COOH$ (три = зв'язки)
- Арахідонова – $C_{19}H_{31}COOH$ (чотири = зв'язки)

Джерела в природі. Синтезуються зеленими рослинами, а також дріжджами. Багаті на вітамін F рослинні олії (льняна, обліпихова, кукурудзяна, бавовникова, соняшникова та ін.).



Біологічна роль.

- Це джерела для синтезу простагландинів (гормонів).
- Стабілізують клітинні мембрани, покращуючи їх фосфоліпідний склад.
- Сприяють виведенню холестеролу з організму, зменшують його рівень в крові.

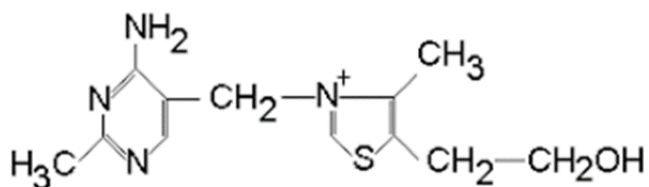
Ознаки авітамінозу:

- Захворювання шкіри (сухість, лущення, розтріскування та ін.)
- Є фактором, який сприяє підвищенню ризику виникнення атеросклерозу.

3. Водорозчинні вітаміни: будова, функції й потреба

Вітамін В₁ (антиневритний, тіамін).

Авітаміноз В₁ (хвороба бери-бери, В₁-авітамінозний поліневрит) характеризується втратою апетиту, загальною млявістю, онімінням. З'являються нудота, при найменшій фізичній нарузі задишка й серцебиття. Поступово нарастають ознаки поразки нервової системи - знижується чутливість шкіри, розвиваються паралічі й судороги кінцівок, частіше нижніх. Відзначається різке схуднення, виснаження.



Вітамін В₁ (тіамін)

Джерелом вітаміну В₁ служать як рослинні продукти, так і м'ясні, рибні й молочні. Особливо багаті їм бобові рослини - квасоля, зелений і сухий горох, сочевиця, соя. Потреба у вітаміні В₁ - 0,6 -1 мг.



Роль вітаміну В₁ в обміні речовин визначається насамперед його коферментними функціями. Фосфорильована форма цього вітаміну - тіаміндифосфат є небілковою частиною ряду ферментів.

Біологічна роль вітаміну В₁ визначається тим, що у вигляді тіаміндифосфату (ТДФ) – стара назва ТДФ або кокарбоксілаза) він входить до складу трьох ферментів і ферментних комплексів:

1. Декарбоксілази α -кетокислот (піровиноградної – ПВК та α -кетоглутарової).
2. Транскетолази – ферменту пентозо-фосфатного шляху окиснення вуглеводів.

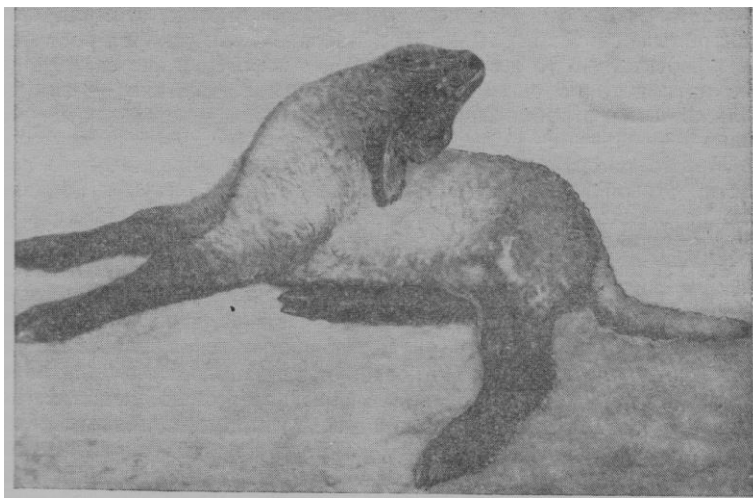
Тіаміндифосфат бере участь у реакціях декарбоксілування β -кетокислот, а також розщеплення й синтезу оксикетонів (наприклад, кетосахаридів), тобто в реакціях синтезу й розщеплення вуглець-вуглецевих зв'язків, що перебувають у безпосередній близькості до карбонільної групи Тіаминзалежними ферментами є, наприклад, піруватдекарбоксілаза й транскетолаза.

Специфічні ознаки В₁-авітамінозу

- Комплексне захворювання нервової системи – поліневрит (стара назва «бері-бері» у перекладі «овеча хода»)
- Внаслідок відсутності вітаміну не працюють декарбоксілази кетокислот, в результаті чого відбувається їх накопичення (ацидоз), вони подразнюють нейрони та нервові закінчення, що є причиною запалення нервових стовбурів – поліневрит. Порушуються функції нервової, серцево-судинної систем, дихання, опорно-рухливої системи.

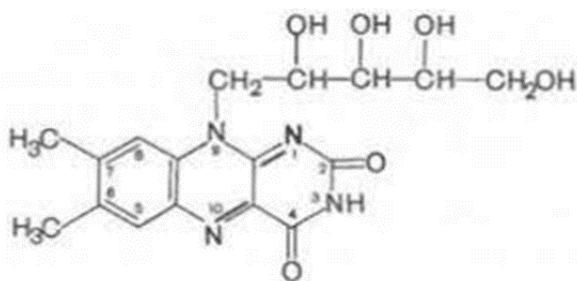


Авітаміноз В₁ у курчат

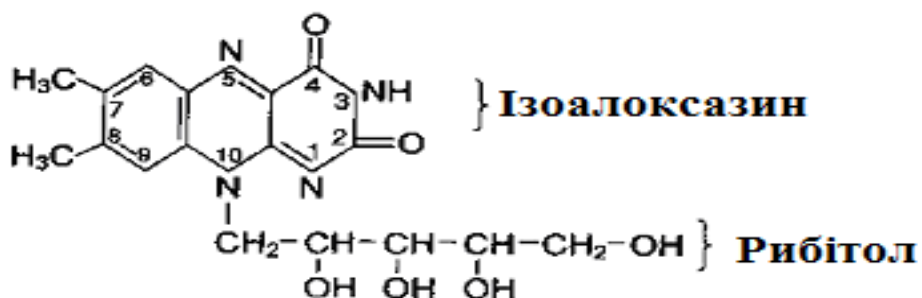


Авітаміноз B_1 у ягняти

Вітамін B_2 (рибофлавін). Крім самого рибофлавіну в природних джерелах утримуються його коферментні похідні: флавінмононуклеотид (ФМН) і флавінаденіндинуклеотид (ФАД). Ці коферментні форми вітаміну B_2 кількісно переважають у більшості тваринних і рослинних тканин, а також у клітинах мікроорганізмів.



Рибофлавін



Біологічні функції:

- В слизовій оболонці кишечника після всмоктування вітаміну відбувається утворення наступних коферментів:
 - ФМН – флавінмононуклеотиду

- ФАД – флавінаденіндинуклеотиду

- Коферменти ФМН та ФАД входять до складу ферментів – флавінзалежних дегідрогеназ, що приймають участь в окисно-відновних реакціях, а значить в утворенні енергії.

Авітаміноз В₂ у людини характеризується запальними явищами слизуватої оболонки ротової порожнини; порушенням зору: спочатку відзначається швидка стомлюваність очей, світлобоязнь, різь в очах, запалення їх слизуватої, століття, потім рогової оболонки очей. Поряд із цим у хворих відзначається недокрів'я, поразка шкіри особи, вух, груди. Вітамін В₂ необхідний для нормального розвитку плода.

Ознаки В₂-авітамінозу у тварин: енергетичне голодування, затримка росту, зменшення приросту, підвищена смертність, дерматити, випадіння шерсті та пір'я, смертність ембріонів.



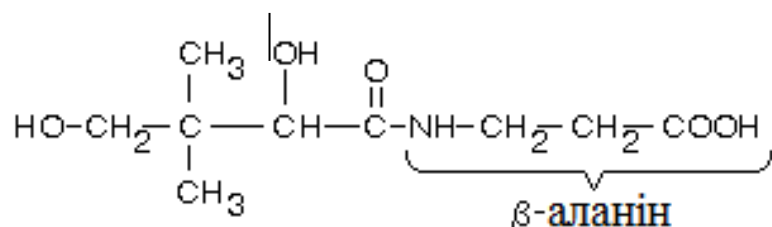
Найбільша кількість рибофлавіну (65-70 %) людина одержує за рахунок молочних, м'ясних продуктів і хліба, 30-35 % - за рахунок овочів і фруктів. Продукти тваринного походження (печінка, яйця, молоко).

Джерела вітаміну В₂: дріжджі, хліб з борошна грубого помелу, шпинат, частково синтезується мікрофлорою кишки.

Добова потреба у вітаміні В₂ 2 мг для дорослого й 1-2 мг для дітей. Рибофлавін, що всмоктався в кишечнику, піддається фосфорилуванню. При цьому утворюються дві коферментні форми - ФМН і ФАД. Всі вивчені флавопротеїди - окислювально-відновні ферменти, що виконують функцію транспорту водню в процесі тканевого дихання.

Вітамін В₃ (пантотенова кислота).

Найбільш важливими похідними пантотенової кислоти є коензим А, у формі якого ця кислота й виконує свою специфічну функцію в обміні речовин.



Пантотенова кислота (вітамін В3)

Недостатність пантотенової кислоти в людини й тварин проявляється в уповільненні росту, втраті маси тіла, ушкодженні шкіри, вовни, випаданні волосся; у дегенеративних змінах мієлінової оболонки спинного мозку. Із цим зв'язані дискоординація рухів, поява «гусячого» кроку, паралічі; порушення шлунково-кишкового тракту органів розмноження, наднірників. Також спостерігаються враження шкіряних покривів, слизових оболонок внутрішніх органів, дегенерація органів, депігментація. У людини практично не розвивається через достатній синтез цього вітаміну мікрофлорою кишок.



Дерматити курчат на раціоні, що не містить пантотенової кислоти

Біологічні функції:

- Пантотенова кислота використовується в клітинах для синтезу коферменту КоА (Кoenзим А – HS-КоА).
- КоА приймає участь в перенесенні ацильних радикалів в реакціях загального шляху катаболізму, активації жирних кислот, синтезу холестерину та кетонів тіл, синтезу ацетилглюкозамінів, знешкодження чужорідних речовин в печінці.

Пантотенова кислота широко поширена в природі. Вона синтезується зеленими рослинами й мікроорганізмами: дріжджами, багатьма бактеріями, у тому числі кишковою мікрофлорою ссавців. Тканини тварин не здатні до синтезу пантотенової кислоти, але синтезують із її КоА. Пантотенова кислота втримується практично у всіх продуктах тваринного або рослинного походження. Особливо значний її вміст у печінці тварин, нирках, яєчному жовтку, ікрі, м'ясі. З овочів більше багаті пантотеновою кислотою кольорова капуста, картопля, помідори. Дуже висока концентрація пантотенової кислоти в пивних дріжджах. Добова потреба людини в пантотенової кислоті становить 10 мг. Пантотенова кислота надходить в організм

людини й тварин з їжею. Крім того, у кишечнику ссавців і людини відбувається синтез пантотенової кислоти кишковою мікрофлорою, особливо *E. coli*.

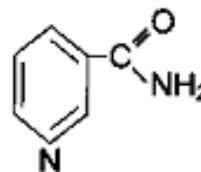
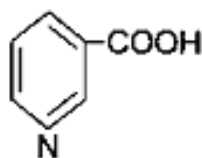
Вітамін В₅ (антипеллагричний, нікотинамід, РР, нікотинова кислота, ніацин).

У природі вітамін В₅ зустрічається у двох формах - у вигляді нікотинової кислоти й нікотинаміду.

Біологічна роль:

Входить до складу двох важливих коферментів:

- НАД – нікотинамідаденіндинуклеотиду
- НАДФ – нікотинамідаденіндинуклеотидфосфату



Нікотинова кислота

Нікотинамід

Ці коферменти входять до складу піридинзалежних дегідрогеназ (анаеробних), що каталізують окисно-відновні реакції, тобто приймають участь у забезпеченні організму енергією.

Нестача вітаміну В₅ викликає захворювання, яке називають пелагрою (від італ. *Pelle agra* - жорстка шкіра). Провідний симптом хвороби - дерматит. Шкіра червоніє, стає шорсткої, покривається міхурами, тріщинами, на місцях міхурів, що лопаються, залишаються виразки. Інша група симптомів - важкі розлади системи органів травлення. При пелагрі також виникають розладу нервової системи аж до психічних захворювань.

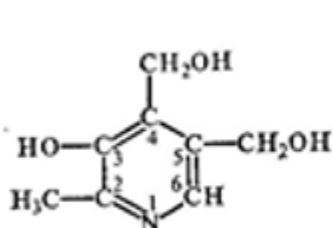
В організмі людини синтезується з амінокислоти триптофану за участі вітаміну В₆.

Джерелами вітаміну є м'ясні продукти (особливо печінка), рис, гречка, хліб, картопля, морква, пивні та пекарські дріжджі. Значна кількість нікотинової кислоти перебуває в зернових продуктах. Добова потреба у вітаміні В₅ - 6-10 мг. Нікотинова кислота й нікотинамід входять до складу коферментів НАД і НАДФ і разом з апоферментами каталізують окислювально-відновні реакції клітинного обміну, фотосинтезу.

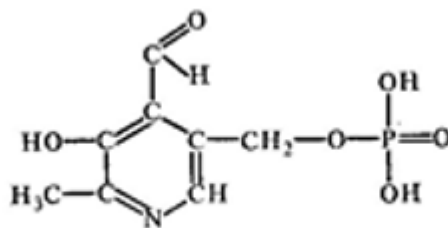
Пелагрична еритрема рук



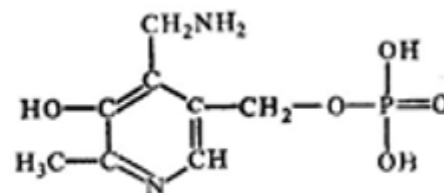
Вітамін В₆ (антидерматитний, піридоксин, піридоксаль, піридоксамін).



Піридоксин



Піридоксальфосфат



Піридоксамінфосфат

- У вигляді фосфорних ефірів (ФП) є коферментом великої групи піридоксальєвих ферментів, що приймають участь в реакціях:
- Трансамінування (перенесення аміногруп);
- Декарбоксилування амінокислот;
- Гідроксилювання, тобто в реакціях обміну амінокислот і білків.

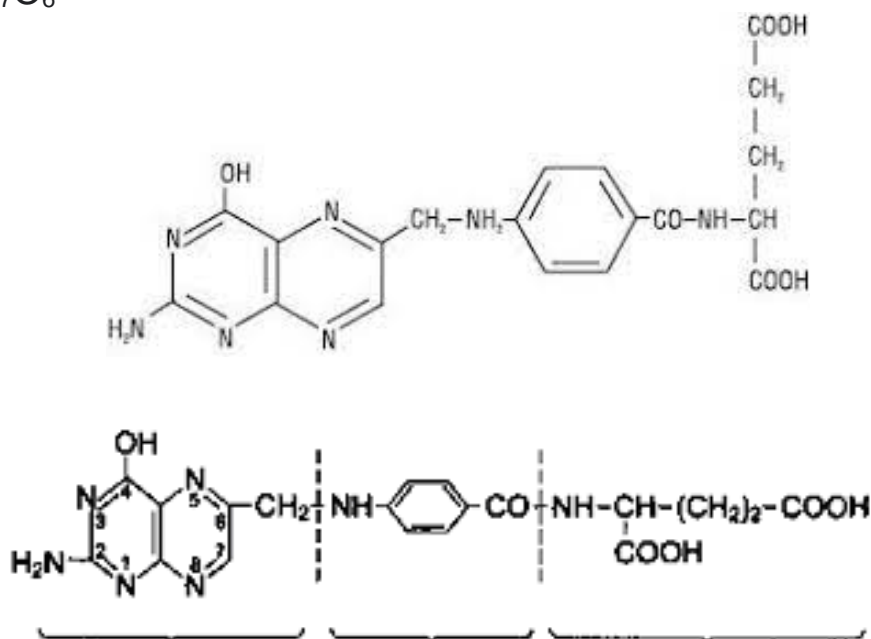
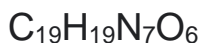
Авітаміноз В₆ проявляється в гальмуванні вироблення еритроцитів, дерматиті, запальних процесах шкіри, уповільненні росту тварин, порушенні обміну триптофану.

Найбільш багатими джерелами вітаміну В₆ є сухі пивні дріжджі, м'ясо, риба, цільне зерно злаків і особливо відрубай злаків. У тварин багато його перебуває в тканині печінки, серця, нирок. Добова потреба у вітаміні В₆ - 2 мг для дорослих людей за умови одержання з їжею не менш 100 г білка. Біологічна активність вітамінів групи В₆ пов'язана з їхнім перетворенням в організмі в коферментні форми - піридоксаль-5-фосфат і піридоксамін-5-фосфат.

Біохімічні функції пірідоксальфосфату:

- 1) *транспортна* - участь у процесі активного переносу деяких амінокислот через клітинні мембрани;
- 2) *каталітична* - участь як кофермент у широкому колі ферментативних реакцій (переамінування, декарбоксилювання), які каталізуються пірідоксальфосфат-вміщуючими ферментами;
- 3) функція *регулятора швидкості* обороту пірідоксальфосфатних ферментів - подовження часу напіврозпаду в тканинах пірідоксальфосфатних апоферментів.

Вітамін В₉ (антианемічний фактор, фолієва кислота, фолацин). Фолієва кислота - основний представник великої групи родинних сполук, поєднаних загальною назвою фолацин.



Птеридин Параамінобензойна Глутамінова кислота
кислота

Фолієва кислота метаболічно неактивна, але являє собою попередник коферментів, що включаються в обмінні процеси. Активною коферментною формою фолацину є відновлена фолієва кислота.

Біологічна роль:

Приймає участь в утворенні коферменту – **ТГФК - Тетрагідрофолієвої кислоти**.

ТГФК – це кофермент, який своєю дією пов'язаний з вітаміном В₁₂ і разом з ним є коферментом ферментів, що беруть участь в синтезі амінокислот, азотистих основ, нуклеїнових кислот, білків, в процесах кровотворення.

Ознаки гіповітамінозу:

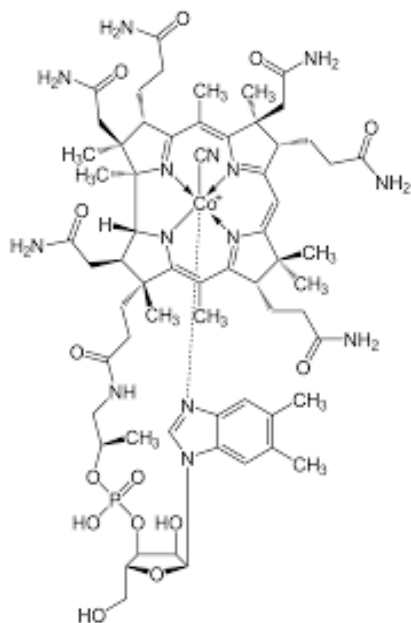
- Практично ті ж, як і при авітамінозі В₁₂.
- Гіпохромна анемія.
- Лейкопенія.
- Призупиняється ріст.
- Зменшується рівень продуктивності.

Фолацин в організмі людини пов'язаний з гемопоезом (кровотворенням), це – протианемічний фактор. Спочатку він був відкритий як фактор росту молочнокислих бактерій. Багато його в листах шпинату, звідси й назва фолієва кислота (від лат. *Folium* - листя). Фолацин стимулює не тільки еритропоез, але й лейкопоез.

Фолати (солі фолієві кислоти) широко поширені в природі. Більшість мікроорганізмів, а також нижчі й вищі рослини здатні синтезувати фолати. У тканинах ссавців і птахів фолати не утворюються.

Основні джерела фолатів - салат, шпинат, капуста, морква, помідори, зелений лук. Із продуктів тваринного походження найбільш багаті фолатами печінка, нирки, яєчний жовток, сир. Добова потреба дорослої людини у фолієвої кислоти 100—200 мкг.

Вітамін В₁₂ (кобаломін). Кобаломіни - групова назва сполук, що володіють В₁₂-вітамінною активністю.



Біологічна роль:

- Вітамін В₁₂ є джерелом утворення коферментів, що беруть участь в реакціях перенесення одновуглецевих залишків: метильних, формільних, метиленових та ін. груп.
- Тому він приймає участь в синтезі пуринових і піримідинових основ, а значить в синтезі нуклеотидів і нуклеїнових кислот.
- Приймає участь в синтезі гему, а через нього в синтезі гемоглобіну.
- Бере участь в синтезі метіоніну та ін. біологічно важливих синтезах (часто разом з вітаміном В_с).

Симптоми авітамінозу:

- Анемія – захворювання крові внаслідок порушення еритропоезу (через порушення синтезу гемоглобіну).

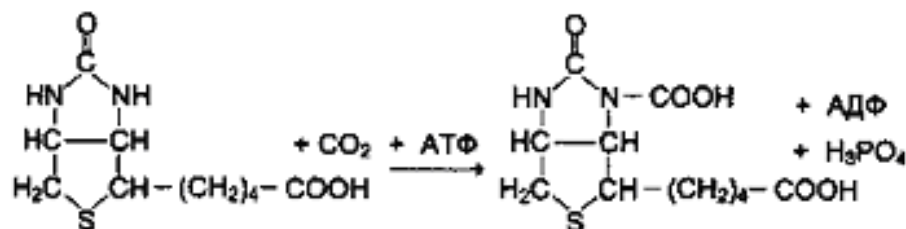
- Лейкопенія.
- Призупинка росту.
- Зменшення рівня продуктивності.

(Через порушення синтезу нуклеїнових кислот та білків).

Вітамін В₁₂ - єдиний з вітамінів, що синтезується винятково мікроорганізмами. Головна роль належить бактеріям, актиноміцетам і синьо-зеленим водоростям. Останні є основним джерелом значного накопичення вітаміну В₁₂ у тілі моллюсків, риб і різних видів водних тварин. Людина одержує вітамін В₁₂ з їжею, у якій останній перебуває в пов'язаному з білками стані. Під впливом травних ферментів вітамін вивільняється із цього комплексу й всмоктується в кишечнику.

Самими багатими природними джерелами вітаміну В₁₂ служать яловича печінка, нирки. Добова потреба у вітаміні В₁₂ становить 2-2,5 мкг.

Вітамін Н (антисеборейний, біотин).



Основні ознаки гіповітаміноз:

- Себорея (жирна шкіра, лупа, лущення) – антисеборейний фактор.
- Дерматит.
- Випадіння пір'я.
- набряки кінцівок.

Біотиновий авітаміноз у тварин характеризується припиненням росту, падінням маси тіла, почервонінням і дерматитами шкіри, випаданням вовни або пір'я, утворенням червоного отечного ободка навколо очей у вигляді «окулярів» і типовою позою тварини із зігнутою спиною. Біотин широко розповсюджений у природі. Він виявлений у мікроорганізмів, рослин, тварин.

При біотиновій недостатності порушуються наступні функції печінки тварин: синтез цитруліну; включення СО₂ у пурини; карбоксилювання пропіонової кислоти, що приводить до утворення бурштинової кислоти; включення СО₂ в ацетоцтову кислоту.



Себорея та дерматит у собак



Дерматит лап внаслідок дефіциту біотину

Біологічна роль:

- Є коферментом ферментів карбоксилаз, які здійснюють реакції карбоксилювання – приєднання CO_2 .
- Використовується в утворенні малоніл-КоА з ацетил-КоА, в синтезі пуринового кільця.
- Також бере участь в реакції карбоксилювання пірвіноградної кислоти (ПВК) з утворенням оксаладно-оцтової кислоти – каталізатора циклу трикарбонових кислот.

Всі відомі в цей час біотинові ферменти каталізують два типи реакцій:

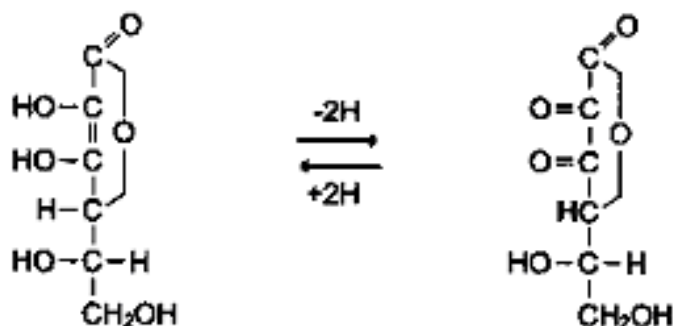
1) реакції β -карбоксилювання або фіксації CO_2 , сполучені з розщепленням АТФ;

2) реакції транскарбоксилювання, що протікають без розпаду АТФ, при яких карбоксилювання одного субстрату здійснюється при одночасно протікає декарбоксилюванні іншої сполуки.

Людина повністю задовольняє свою потребу в біотині за рахунок синтезу його мікробною флорою кишечника. Особливо багаті вітаміном свиняча, яловича печінка, нирки, серце бика, яєчний жовток; із продуктів рослинного походження -

боби, рисові відрубай, пшеничне борошно, кольорова капуста. Мінімальна щоденна доза біотину для людини - близько 150—200 мкг.

Вітамін С (антискорбутний, аскорбінова кислота).



Аскорбінова кислота (АК)

Дегідроаскорбінова кислота (ДАК)

Аскорбінова кислота по своїй будові може бути віднесена до похідних вуглеводів. Вона являє собою лактон гексонової кислоти.

Біологічна роль:

- Бере участь в окисно-відновних реакціях.
- Приймає участь в перетворенні проколагену в колаген.
- Є природним антиоксидантом.
- Є природним імуномодулятором, який посилює синтез імуноглобулінів, а значить і опір організму.
- Сприяє зміцненню стінок кровоносних судин.
- Стимулює синтез гормонів коркового шару наднирників – кортикостероїдів.

Основні симптоми С-вітамінної недостатності: підвищена ламкість кровоносних капілярів, загальна слабкість, апатія, стомлюваність, зниження апетиту, затримка росту, підвищена сприйнятливність до інфекцій, хворобливність ясен, їхня набряклість, крововиливи, розхитування зубів.

Основні ознаки гіповітамінозу С:

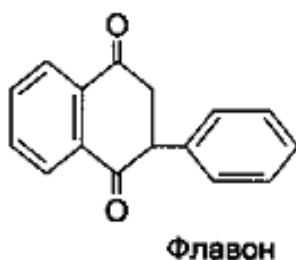
- Цинга – внаслідок порушення синтезу колагену та цілісності судин (хворобливність, припухлість та кровоточивість ясен, розхитування та випадіння зубів).
- Зниження загальної резистентності організму (тому вітамін С відносять до групи антиінфекційних).
- Підвищена чутливість до стресів (вітамін С – антистресовий фактор).
- Підвищена ламкість кровоносних судин.

Аскорбінова кислота - один з найбільш широко розповсюджених у природі вітамінів. Вона синтезується рослинами й переважною більшістю тварин. Насіння вищих рослин позбавлені вітаміну С, однак він з'являється в них з перших днів



проростання. Багаті вітаміном С листи, плоди, трохи бідніше коренеплоди. Потреба у вітаміні С для дорослих людей становить 70-120 мг/доб.

Вітамін Р (поліфеноли, біофлавоноїди, цитрин, рутин).



По хімічній природі біофлавоноїди не становлять загальної групи сполук, але всі вони мають діфенілпропановий вуглецевий «кістяк». До них ставляться катехіни, лейкоантоціани, флаваноїди, флавіаноли (у тому числі рутин), антоціани, флаволи.

Біофлавоноїди належать до фенольних сполук. Основною крапкою додатка дії біофлавоноїдів є стійкість і проникність капілярів. Недостатність вітаміну Р проявляється в ламкості стінок кровоносних судин, підвищеної проникності капілярів, дрібних крововиливах. Добова потреба у флавоноїдах не встановлена.



Назва	Коферментна форма	Біологічні функції (коферментні)	Характерні ознаки авітамінозів
B ₁ (тіамін)	ТДФ (ТПФ) - тіаміндифосфат	Декарбоксилування α - кетокислот (декарбоксилази), перенесення активного альдегіду (транскетолаза)	Поліневрит
B ₂ (рибофлавін)	ФАД, ФМН	В складі дихальних ферментів (флавінзалежних дегідрогеназ), перенесення водню	Враження очей (кератити, катаракта)
B ₃ (пантотенов а кислота)	КоА-SH	Транспорт ацильних груп (кофермент ацилтрансфераз)	Дистрофічні зміни в наднирниках та нервовій тканині
B ₅ (РР)	НАД, НАДФ	Акцептори та переносники водню в складі дихальних ферментів (піридинзалежних дегідрогеназ)	Симетричний дерматит на відкритих ділянках тіла, деменція та діарея
B ₆ (піридоксин)	ПФ (піридоксаль- фосфат)	Обмін амінокислот (трансамінування, декарбоксилування)	Підвищена збудливість нервової системи, дерматити

Н (біотин)	Біотин	Фіксація CO ₂ , реакції карбоксилювання (карбоксилази) (наприклад, пірувату та ацетил-КоА)	Дерматити, що супроводжуються посиленою діяльністю сальних залоз
Вс (фолієва кислота)	ТГФК (тетрагідрофолієва кислота)	Транспорт одноуглецевих груп	Порушення кровотворення (анемія, лейкопенія)
В12 (кобаламін)	Дезоксиаденозил- і метилкобаламін	Транспорт метильних груп	Макроцитарна анемія
С (аскорбінова кислота)	—	Гідроксилування проліну, лізину (синтез колагену), антиоксидант	Кровоточивість ясен, розхитування зубів, підшкірні крововиливи, набряки
Р (рутин)	—	Разом з вітаміном С бере участь в окисно-відновних процесах, гальмує дію гіалуронідази	Кровоточивість ясен та точкові крововиливи

Лабораторна робота № 6

ЯКІСНІ РЕАКЦІЇ НА ВОДОРОЗЧИННІ ВІТАМІНИ

Мета: вивчити окремі водорозчинні вітаміни, поширення їх у природі, хімічну будову, участь їх в обміні речовин, основні ознаки недостатності у тварин.

Завдання: студенти повинні опанувати методи кількісного визначення вітаміну С в кормах і молоці, навчитися якісно виявляти водорозчинні вітаміни в природних об'єктах.

Питання для самопідготовки:

1. Поширення в природі вітамінів: В₁, В₂, В₃, В₅, В₆, фолієвої кислоти, біотину.
2. Хімічна будова вітамінів В₁, В₂, В₃, В₄, В₅, В₆, С.
3. Синоніми назв перелічених вище вітамінів.
4. Зв'язок водорозчинних вітамінів з ферментами.
5. В утворенні яких коферментів беруть участь вітаміни В₁, В₂, В₃, В₄, В₅, В₆, С?
6. На які види обміну впливають вітаміни В₁, В₂, В₃, В₄, В₅, В₆, С, фолієва кислота, біотин?
7. Основні ознаки недостатності перелічених вітамінів.

Якісна реакція на вітамін В₁ (тіамін)

Принцип методу. Розчини, що містять у своєму складі вітамін В₁, з діазореактивом у лужному середовищі забарвлюються в жовто-рожевий колір.

Хід роботи.

У пробірку вливають 1 мл розчину сульфанілової кислоти та 1 мл розчину нітрату натрію (утворюється діазореактив). Потім у пробірку вносять невелику кількість (на кінчику шпателя) порошку або 0,5 мл розчину тіаміну і по стінці пробірки обережно додають 1 мл розчину Na₂CO₃. Вітамін В₁ у лужному середовищі з діазореактивом утворює складну комплексну сполуку жовтогарячого або червоного кольору.

Спостерігають появу забарвленого кільця на межі двох рідин.

Яке забарвлення характерне при позитивній реакції на В₁?

Спостереження та висновки:



Реакція відновлення рибофлавіну (вітаміну B₂)

Матеріали та реактиви: концентрована соляна кислота, металевий цинк, 0,025 %-й розчин вітаміну B₂ (суспензія рибофлавіну у воді).

Хід роботи.

У пробірку вливають 1 мл розчину вітаміну B₂, 0,5 мл концентрованої соляної кислоти і кидають грудочку металевого цинку. Під час змішування металевого цинку з концентрованою соляною кислотою утворюється водень, який відновлює жовтий рибофлавін спочатку на родофлавін (проміжна сполука) червоного кольору, а потім на безбарвний лейкофлавін.

Рідина в пробірці поступово забарвлюється в рожевий колір, а потім знебарвлюється. Під час збовтування знебарвлений розчин лейкофлавіну знову окислюється киснем повітря на рибофлавін.



Спостерігають зміну забарвлення.

Яке забарвлення характерне при позитивній реакції на B₂?

Спостереження та висновки:

Реакція на вітамін B₅ (піридоксин, PP, антипелагричний) з ацетатом міді

Матеріали та реактиви: порошок вітаміну B₆, 10 %-й розчин оцтової кислоти, 5 %-й розчин ацетату міді.

Хід роботи.

У пробірку вносять 5–10 мг вітаміну B₆ і розчиняють під час нагрівання в 1–2 мл розчину оцтової кислоти. До нагрітого до кипіння розчину додають такий же об'єм розчину ацетату міді. У процесі нагрівання вітаміну B₆ з розчином ацетату міді утворюється погано розчинний осад мідної солі вітаміну B₆ синього кольору.

Рідина стає каламутною і набуває блакитного кольору. Через деякий час відмічають появу синього осаду.



Спостереження та висновки:

Якісні реакції на вітамін С

Матеріали та реактиви: розчин 2,6-дихлорфеноліндофенолу (0,1 %-й), 10 %-й розчин соляної кислоти, 0,1 %-й розчин йоду в калію йодиді, 0,01 %-й розчин метиленового синього, 10 %-й розчин Na_2CO_3 , 1 %-й розчин $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, 1 %-й розчин FeCl_3 , 0,1 %-й розчин аскорбінової кислоти, витяжка із шипшини, дистильована вода.

Відновлення 2,6-дихлорфеноліндофенолу аскорбіновою кислотою

У три пробірки вносять по 0,5 мл розчину 2,6-дихлорфеноліндофенолу, по одній-дві краплі розчину HCl і по краплях розчин аскорбінової кислоти або витяжку з шипшини (в контрольну пробірку додають 0,5 мл дистильованої води). Аскорбінова кислота здатна відновлювати 2,6-дихлорфеноліндофенол, який переходить при цьому в безбарвну лейкосполуку.

Розчин 2,6-дихлорфеноліндофенолу при цьому знебарвлюється.

Спостереження та висновки:

Відновлення метиленового синього аскорбіновою кислотою

У три пробірки додають по одній краплі розчину метиленового синього і розчину карбонату натрію. В першу пробірку додають 5 крапель розчину аскорбінової кислоти, у другу – витяжки з шипшини, у третю – стільки ж дистильованої води. Пробірки одночасно нагрівають за температури 37–40 °С. Аскорбінова кислота здатна відновлювати метиленовий синій, який переходить у безбарвну лейкосполуку.

У пробірках з аскорбіновою кислотою та витяжкою із шипшини рідина знебарвлюється.



Спостереження та висновки:

Відновлення гексаціаноферату (II) калію аскорбіновою кислотою

Принцип методу. Під дією вітаміну С гексаціаноферат (III) калію відновлюється в гексаціаноферат (II) калію, а останній з хлоридом феруму (III) утворює берлінську лазур.

Хід роботи.

У три пробірки додають по одній краплі розчинів гексаціаноферату калію і хлориду феруму. В одну з пробірок до утвореної зелено-бурої рідини додають 5–10 крапель розчину аскорбінової кислоти, у другу – 5–10 крапель витяжки з шипшини, у третю (контрольну) – 5–10 крапель дистильованої води. Аскорбінова кислота відновлює гексаціаноферат калію до гексаціаноферату калію, який, реагуючи з хлоридом феруму, утворює берлінську лазур – сполуку синього кольору.

Рідина в першій і другій пробірках забарвлюється в зелено-синій колір і випадає синій осад берлінської лазури. За обережного нашаровування дистильованої води осад на дні пробірки стає виразнішим. У контрольній пробірці зелено-бура рідина забарвлення не змінює.



Спостереження та висновки:

Відновлення молекулярного йоду аскорбіновою кислотою

У три пробірки додають по 10 крапель дистильованої води і по 1–2 краплі

розчину йоду в йодиді калію. У першу пробірку додають 10 крапель аскорбінової кислоти, у другу – 10 крапель витяжки з шипшини, у третю (контрольну) – 10 крапель дистильованої води. Аскорбінова кислота здатна відновлювати молекулярний йод, який переходить при цьому у безбарвну йодидну кислоту.

Спостерігають знебарвлення розчину йоду в пробірках з аскорбіновою кислотою та з витяжкою з шипшини.



Спостереження та висновки:

Якісні реакції на вітамін Р (рутин, вітамін проникності, цитрин)

Матеріали та реактиви: рутин (порошок і насичений водний розчин), 1 %-й розчин хлориду заліза (III), концентрована сірчана кислота, 0,5 %-й розчин соляної кислоти, 10 %-й розчин гідроксиду натрію, реактив Фелінга.

Реакція рутину з хлоридом заліза (III)

До 2 мл насиченого водного розчину рутину додають кілька крапель розчину FeCl_3 . Хлорид заліза(III) утворює з рутином комплексні сполуки, забарвлені в смарагдово-зелений колір.

Спостерігають появу зеленого забарвлення.



Спостереження та висновки:

Реакція рутину з концентрованою сірчаною кислотою

До 2 мл насиченого водного розчину рутину обережно по стінці пробірки доливають 1 мл концентрованої сірчаної кислоти. Концентрована сірчана кислота утворює з флавонами та флавонолами, до яких належить вітамін Р, флавілієві солі, розчини яких мають яскраво-жовте забарвлення.

На межі поділу двох рідин виникає кільце жовтого кольору.

Спостереження та висновки:

Реакція рутину з реактивом Фелінга

До 0,5 г рутину доливають 5 мл розчину соляної кислоти, кип'ять протягом 1 хв, потім фільтрують. Під час кислотного гідролізу рутину відщеплюється молекула рутинози. Потім рутиноза розкладається на глюкозу та рамнозу, які мають відновні властивості, тому можуть бути визначеними реакціями Толленса, Троммера, Фелінга. До 5 мл фільтрату додають 3 мл розчину гідроксиду натрію та 3 мл реактиву Фелінга і знову нагрівають до кипіння.

Спостерігають утворення осаду геміоксиду міді червоного кольору.

Спостереження та висновки:

Лабораторна робота № 7

ЯКІСНІ РЕАКЦІЇ НА ЖИРОРОЗЧИННІ ВІТАМІНИ

Мета: закріпити теоретичні знання студентів про жиророзчинні вітаміни: А, D, Е, К, F.

Завдання: навчити студентів експрес-методам кількісного визначення каротину і вмісту вітаміну А в крові, яйці.

Питання для самопідготовки:

1. Дати визначення поняттю «Вітаміни». Поширення вітамінів у природі, зв'язок з ферментами, номенклатура.

2. Авітаміноз, гіповітаміноз, гіпервітаміноз. Причини цих станів.

3. Характеристика жиророзчинних вітамінів.

4. Вітамін А – поширення в природі, синоніми назв, провітаміни (каротиноїди), хімічна будова, джерела для тварин, засвоєння і перетворення в активну форму. Роль в обміні речовин. Основні ознаки а- і гіповітамінозів.

5. Вітамін D – поширення в природі, провітаміни, їх перетворення на вітамін. Роль в обміні речовин. Ознаки авітамінозу.

6. Вітаміни Е, К – хімічна будова, поширення в природі, шляхи забезпечення тварин. Роль в обміні речовин. Основні ознаки гіповітамінозів.

Якісні реакції на вітамін А

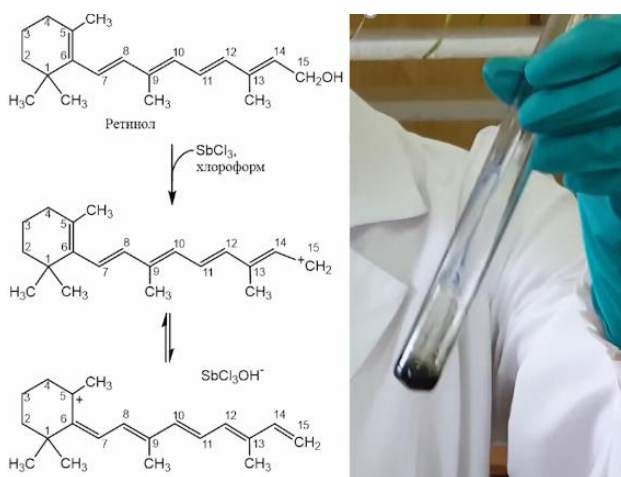
Матеріали та реактиви: хлороформний розчин трихлорцтової сурми (33 %-й); хлороформ; 0,05 %-й олійний розчин вітаміну А в хлороформі або розчин риб'ячого жиру в хлороформі у співвідношенні 1:5; концентрована сірчана кислота, насичена сульфатом заліза(II); льодяна оцтова кислота.

Реакція з трихлорцтовою сурмою (реакція Карр-Прайса)

У суху пробірку до однієї-двох крапель розчину вітаміну А в хлороформі або розчину риб'ячого жиру в хлороформі додають чотири-п'ять крапель розчину трихлорцтової сурми в хлороформі й перемішують. Хлороформний розчин вітаміну А або риб'ячого жиру з трихлорцтовою сурмою забарвлюється в специфічний синій колір.

Спостерігають забарвлення рідини.

Спостереження та висновки:



Реакція із сульфатом заліза (II)

У пробірку до двох-трьох крапель розчину риб'ячого жиру в хлороформі або масляного розчину вітаміну А в хлороформі доливають п'ять-десять крапель концентрованої сірчаної кислоти, насиченої сульфатом заліза (II), і одну-дві краплі льодяної оцтової кислоти. Вітамін А із сульфатом заліза (II) у кислому середовищі у хлороформному розчині утворює сполуку червоно-рожевого кольору.

Спостерігають появу блакитного забарвлення, яке поступово перетворюється на червоно-рожеве.

Каротини у цій реакції мають зелене забарвлення.

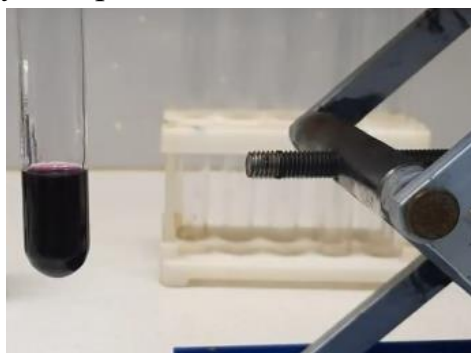
Спостереження та висновки:

Реакція Друммонда

У пробірку до двох-трьох крапель розчину вітаміну А додають дві-три краплі концентрованої сірчаної кислоти. Вітамін А з концентрованою сірчаною кислотою у бензольному розчині утворює комплекс синього кольору.

Уміст пробірки забарвлюється в синій колір, який через деякий час змінюється на фіолетовий і бурий.

Спостерігають зміну забарвлення.



Спостереження та висновки:

Якісні реакції на вітамін D

Матеріали та реактиви: насичений розчин хлориду сурми - SbCl_5 , хлороформний розчин вітаміну D, хлороформ, аніліновий реактив – анілін із концентрованою HCl (15:1), розчин бром у хлороформі (1:60).

Реакція з хлоридом сурми (V)

У суху пробірку до 2 мл розчину вітаміну D у хлороформі доливають 0,2 мл насиченого розчину SbCl_5 . Вітамін D у хлороформному розчині з насиченим розчином хлориду сурми (V) утворює жовте забарвлення.

Спостерігають появу забарвлення.

Спостереження та висновки:

Реакція з аніліном

У суху пробірку вносять одну-дві краплі риб'ячого жиру або розчину вітаміну D у хлороформі й додають одну краплю анілінового реактиву. Після перемішування утворюється емульсія жовтого кольору. Під час нагрівання емульсії із сумішшю аніліну та концентрованої соляної кислоти розчин забарвлюється в червоний колір.



Через 1–2 хв емульсія розділяється на два шари. Нижній шар забарвлений в інтенсивний червоний колір.

Спостереження та висновки:

Реакція з бромом

У пробірку з двома-чотирма краплями розчину вітаміну D в хлороформі або риб'ячого жиру додають чотири-п'ять крапель розчину бром у хлороформі.

Спостерігають поступове забарвлення суміші в пробірці в зелено-блакитний колір.



Спостереження та висновки:

Якісні реакції на вітамін E

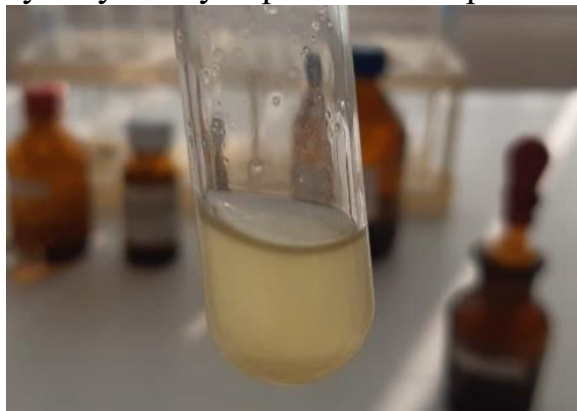
Матеріали та реактиви: спиртовий розчин (0,1 %-й) α -токоферолу, концентрована азотна кислота, 1 %-й розчин хлорного заліза(III).

Реакція з азотною кислотою

У суху пробірку вносять п'ять крапель спиртового розчину вітаміну E, додають 1 мл концентрованої HNO_3 , інтенсивно перемішують. Взаємодія α -токоферолу з концентрованою азотною кислотою зумовлює забарвлення реакційної суміші в червоний колір. Це спричинено тим, що продукт окиснення α -токоферолу має

хіноїдну структуру.

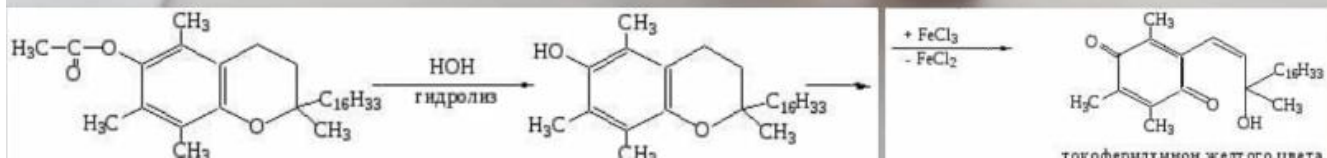
Спостерігають поступову появу червоного забарвлення.



Спостереження та висновки:

Реакція з хлорним залізом

У суху пробірку вносять 0,5 мл спиртового розчину α -токоферолу, потім 0,5 мл розчину FeCl_3 й інтенсивно перемішують. Під час взаємодії з хлорним залізом(III) α -токоферол окислюється до α -токоферилхінону – сполуки червоного кольору:



Спостерігають появу забарвлення.

Спостереження та висновки:

Якісні реакції на вітамін К

Матеріали та реактиви: розчин діетилмалонового ефіру (1 %-й), 1 %-й розчин KOH , спиртовий розчин вітаміну К, 5 %-й розчин діетилдитіокарбамату, 4

%-й спиртовий розчин NaOH, розчин аніліну, 0,05 %-й спиртовий розчин вікасолу.

Реакція з діетилмалоновим ефіром

У пробірку до 2 мл спиртового розчину вітаміну К додають 0,5 мл розчину діетилмалонового ефіру та 0,1 мл розчину KOH. Спиртовий розчин вітаміну К у лужному середовищі з діетилмалоновим ефіром має червоно-фіолетове забарвлення.

Спостерігають появу червоно-фіолетового забарвлення.

Спостереження та висновки:

Реакція з діетилдитіокарбаматом

У пробірку до 2 мл спиртового розчину вітаміну К додають 2 мл розчину діетилдитіокарбамату та 0,5 мл розчину NaOH в етанолі. Спиртовий розчин вітаміну К в лужному середовищі з діетилдитіокарбаматом утворює сполуку, забарвлену в блакитний колір.

Спостерігають появу забарвлення.

Спостереження та висновки:

Реакція з аніліном

У пробірку з 1 мл спиртового розчину вікасолу додають дві краплі аніліну. За наявності аніліну спиртовий розчин вітаміну К забарвлюється в червоний колір, що зумовлено утворенням 1-метил-2-феніламінонафтохінону.

Перемішують і спостерігають появу забарвлення.



Спостереження та висновки:

Визначення вмісту каротину в жовтку курячих яєць і сироватці крові

Принцип методу. Концентрація каротину визначається в екстракті петролейного ефіру з яєчного жовтка (сироватки крові) на основі вимірювання

світлопоглинання на фотоелектроколориметрі (ФЕК) та подальшого розрахунку за калібрувальним графіком.

Хід роботи.

1. У 1-у пробірку поміщають 1 г жовтка і 1 мл фізіологічного розчину.
 2. Перемішують скляною паличкою до однорідної маси (за необхідності нагрівають на водяній бані при 38-40 °С).
 3. В 2-у пробірку наливають 2 мл сироватки крові.
 4. В обидві пробірки додають по 2 мл спирту етилового.
 5. Закривають пробками і, енергійно струшуючи, перемішують вміст протягом 2 хв. для денатурації білків.
 6. Каротин, що звільнився в результаті денатурації білків яєчного жовтка (сироватки крові), екстрагують петролейним ефіром. Для цього в обидві пробірки додають (із бюретки) по 4 мл петролейного ефіру, пробірки закривають пробками і енергійно струшують 5-10 хв.
 7. Для розділення рідини в пробірках їх поміщають в центрифугу і центрифугують при 1,5-2,0 тис. об/хв протягом 2-3 хвилин.
 8. По закінченню центрифугування верхній прозорий зафарбований у жовтий колір шар обережно (!) відбирають сухою піпеткою з грушею і переносять у мірний циліндр.
 9. Об'єм екстракту в циліндрі доливають петролейним ефіром до 4 мл і перемішують.
 10. Після цього визначають оптичну густину отриманого екстракту каротину на ФЕКу в кюветах з робочою довжиною 0,5 см і синім світлофільтром, порівнюючи з петролейним ефіром.
- Розрахунок кількості каротину проводять згідно колориметрії (за знайденою оптичною щільністю) за допомогою заздалегідь складеного калібрувального графіку.
- Вміст каротину виражають в мкг/г жовткової маси яйця або мг% в сироватці крові.

Спостереження та висновки:

Контрольні запитання та завдання

1. Які жиророзчинні вітаміни ви знаєте? Яка роль вітамінів А, D, Е, К, F у метаболізмі?
2. Яка речовина є попередником при синтезі вітаміну D в організмі людини? Який гормон синтезується з вітаміну D?
3. Покажіть у структурі вітаміну Е частину, що є хіноном.
4. Поясніть принципи реакцій виявлення жиророзчинних вітамінів. Чи можуть вони використовуватися для кількісного визначення?

ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ З РОЗДІЛУ «ВІТАМІНИ»

1. Чи є вітамінами мікроелементи, необхідні діяльності людського організму?
 - А. Ні;
 - Б. Так.
2. Недоліком якого вітаміну викликається «куряча сліпота»?
 - А. Вітаміну С;
 - Б. Вітаміну D;
 - В. Вітаміну А;
 - Г. Вітаміну Е.
3. Вживання продуктів харчування багатих яким вітаміном запобігає цингу?
 - А. Вітаміну С;
 - Б. Вітаміну В;
 - В. Вітаміну D;
 - Г. Вітаміну Е.
4. Рибофлавін - це ...
 - А. Вітамін А;
 - Б. Вітамін В₂;
 - В. Вітамін Е;
 - Г. Вітамін В₁.
5. Як інакше називається тіамін (вітамін В₁)?
 - А. Аневрін;
 - Б. Ретинол;
 - В. Фолацін;
 - Г. Антипеларгін.
6. Цей вітамін в організмі людини синтезується з бета-каротину.
 - А. Вітамін С;
 - Б. Вітамін D;
 - В. Вітамін А;
 - Г. Вітамін Е.
7. Вітамін якої групи регулює обмін кальцію та фосфору в організмі людини?
 - А. А
 - Б. В
 - В. D
 - Г. К
8. Скільки є вітамінів групи К?

- А. Два;
- Б. Три;
- В. П'ять.

9. Яка група вітамінів найчисленніша?

- А. А
- Б. В
- В. D
- Г. К

10. Відомо, що каротини містяться в моркві, гарбузі та інших червоних овочах. Джерелом якого вітаміну є ці рослинні пігменти?

- А. Ретинолу;
- Б. Нафтохінону;
- В. Кальциферолу;
- Г. Рибофлавіну;
- Д. Токоферолу.

11. Через 30 хвилин після видалення зуба пацієнт звернув увагу на те, що рана не перестає кровоточити. Недостатність якого вітаміну спричинює такий стан?

- А. Вітаміну К;
- Б. Вітаміну D;
- В. Вітаміну Е;
- Г. Вітаміну А;
- Д. Вітаміну РР.

12. У пацієнта з частими кровотечами у внутрішні органи та слизові оболонки виявлено недостатність гідроксипроліну та гідроксилізіну у складі колагенових волокон. Через нестачу якого вітаміну порушено процеси гідроксилювання вказаних амінокислот?

- А. Вітаміну С;
- Б. Вітаміну А;
- В. Вітаміну Н;
- Г. Вітаміну К;
- Д. Вітаміну РР.

13. З метою профілактики запалення ясен та покращення регенерації епітеліальних клітин пародонту до зубних паст додають вітамінні препарати. Який саме в цьому випадку?

- А. Ретинол;
- Б. Кальциферол;
- В. Біотин;
- Г. Тіамін;

Д. Філохінон.

14. Офтальмолог відзначив у пацієнта збільшення часу адаптації ока до темряви. Нестача якого вітаміну може бути причиною такого симптому?

- А. Вітаміну А;
- Б. Вітаміну Е;
- В. Вітаміну С;
- Г. Вітаміну К;
- Д. Вітаміну D.

15. Вагітній жінці, в анамнезі якої кілька мимовільних абортів, призначено терапію вітамінними препаратами. Який вітамін сприяє виношуванню плода?

- А. Тіамін;
- Б. Піридоксальфосфат;
- В. Рутин;
- Г. Альфа-токоферол;
- Д. Ціанокобаламін.

16. При захворюваннях печінки, що супроводжуються недостатнім надходженням жовчі в кишку, спостерігається погіршення гемокоагуляції. Чим можна пояснити це явище?

- А. Дефіцитом вітаміну Е;
- Б. Дефіцитом заліза;
- В. Дефіцитом Купруму;
- Г. Дефіцитом вітаміну К.
- Д. Дефіцитом ретинолу.

17. У дитини спостерігається запізніле прорізування зубів, порушення процесів мінералізації кісток і зубів. При недостатності якого вітаміну спостерігаються ці зміни?

- А. Вітаміну D;
- Б. Вітаміну Е;
- В. Вітаміну А;
- Г. Вітаміну К;
- Д. Вітаміну Р.

18. У дитини виявлено порушення синтезу колагену, що спричинює затримку мінералізації кісток і зубів, кровоточивість ясен. При недостатності якого вітаміну спостерігаються ці зміни?

- А. Вітаміну К;
- Б. Вітаміну D;
- В. Вітаміну А;

Г. Вітаміну В₂;

Д. Вітаміну С.

19. Введення в організм препарату дикумаролу викликає суттєве зниження в крові низки факторів згортання крові. Вкажіть антивітаміном якого вітаміну є цей препарат?

А. Вітаміну С ;

Б. Вітаміну К;

В. Вітаміну В₂;

Г. Вітаміну Е;

Д. Вітаміну Р.

20. Більша частина учасників експедиції Магелана в Америку загинула від захворювання, що проявлялось загальною слабкістю, підшкірними крововиливами, кровоточивістю ясен, випадінням зубів. Вкажіть назву цієї патології.

А. Скорбут;

Б. Пелагра;

В. Рахіт;

Г. Поліневрит (бері-бері);

Д. Анемія Бірмера.

РОЗДІЛ 8

ГОРМОНИ

ПЛАН

1. Загальна характеристика й механізм дії гормонів. Номенклатура й класифікація.
2. Гормони щитовидної залози.
3. Гормони паращитовидної залози.
4. Гормони підшлункової залози.
5. Гормони гіпофізу.
6. Гормони наднирників.
7. Гормони статевих залоз.
8. Гормони тимусу.
9. Гормони епіфізу.
10. Тканинні гормони.
11. Фітогормони.

1. Загальна характеристика й механізм дії гормонів

Внутрішня секреція — це функція особливих залоз, які є органами або групами клітин, здатних продукувати біологічно активні речовини — гормони. На відміну від залоз зовнішньої секреції вони не мають вивідних проток і виводять секрет у кров завдяки густій сітці капілярів, що їх оточують.

Науку про будову і функцію залоз внутрішньої секреції, а також захворювання, зумовлені порушенням їхньої функції, називають ендокринологією. Вона починає свій відлік від 1849 р., коли Арнольд Бертольд усунув наслідки кастрації у півня після трансплантації йому сім'яників.

У 1855 р. Клод Бернар увів термін "внутрішня секреція", а термін "гормон" належить Уільяму Бейлісу і Ернесту Старлінгу, які в 1905 р. застосували його для збудника підшлункової секреції — секретину. До гормонів (від греч. *гормао* - *привожу в рух, спонукую*) відносяться органічні сполуки, які синтезуються залозами внутрішньої секреції (ендокринні залози), а потім транспортуються кров'ю до кліток-мішень і активно впливають на метаболічні, морфогенетичні й фізіологічні процеси. Однак деякі гормони синтезуються не тільки ендокринними залозами, але й у клітинах інших органів і тканин. Так, гормони підшлункової залози (інсулін і глюкагон) утворюються також і в клітинах кишковика, катехоламіни (гормони наднирників) синтезуються й у нервових закінченнях.

Істотною відмінною рисою гормонів від інших біологічно активних речовин є спеціалізація кліток, їх синтезуючих. Залози внутрішньої секреції не містять вивідних проток, їхні клітини обплетені рясною мережею кровоносних і лімфатичних капілярів, виділення продуктів життєдіяльності відбувається безпосередньо в просвіт цих посудин. Цим ендокринні залози відрізняються від екзокринних, які виділяють свої секрети через вивідні протоки.

До залоз внутрішньої секреції, або ендокринних залоз, належать **гіпофіз, щитоподібна і прищитоподібні залози, острівці підшлункової залози (інсулярний апарат), надниркові, статеві залози, тимус, епіфіз** та ін. У травному каналі виявлено також цілу низку гормонів, частину з яких відносять до **паратгормонів**, тобто тих, що виділяються в міжклітинний простір.

Гормональна регуляція функцій з'явилася в процесі еволюції у тварин з досить досконалою нервовою системою. Вона властива головним чином хребетним тваринам. Проте аналоги цих ендокринних залоз є вже і у безхребетних. Так, у вузлах кільчастих червів трапляється хромафінна тканина, аналогічна мозковій частині надниркових залоз хребетних. У багатьох комах під контролем внутрішньої секреції перебуває процес метаморфозу. Крім того, вони виробляють сполуки, що виділяються у навколишнє середовище і викликають певні реакції у особин того самого виду, наприклад **статеві атрактанти** (лат. *attractio* — притягування).

Дія гормонів на органи й тканини характеризується рядом особливостей:

1. **Високою біологічною активністю**, що проявляється в тім, що гормони роблять фізіологічна дія в дуже малих концентраціях.

2. **Специфічністю дії**: гормони викликають строго специфічні відповідні реакції органів і тканин. Так, видалення у молодого організму гіпофіза припиняє ріст, а статевих залоз — зумовлює втрату вторинних статевих ознак.

3. **Дистанційністю дії**: гормони, як правило, переносяться кров'ю далеко від місця їхнього утворення й роблять дія на певні чутливі до них органи-мішені або клітини-мішені (тільки останнім часом виявлені виключення із цього правила - деякі гормони можуть діяти в місці свого утворення).

4. **Невеликий період напівжиття**, зазвичай менше 1 год; у результаті цього ефективне функціонування гормонів можливо при безперервному синтезі й секретування їх протягом усього необхідного часу при даному стані організму.

Незважаючи на те що хімічна природа майже всіх відомих гормонів з'ясована в деталях, дотепер не розроблені загальні принципи їхньої номенклатури. Оскільки хімічні найменування багатьох гормонів, номенклатура, заснована на їх точній хімічній структурі, була б дуже громіздкою, більше поширені загальноживані (так звані робочі) назви гормонів. Прийнята номенклатура вказує на джерело походження гормону (наприклад, інсулін від лат. *insula* - острівець) або відбиває його функцію (наприклад, пролактин, вазопресин).

Аналогічне положення існує й відносно класифікації гормонів. По-перше, гормони класифікують залежно від їхнього природного джерела, відповідно до якого розрізняють гормони гіпоталамуса, гіпофіза, щитовидної залози, наднирників, підшлункової залози, полових залоз, зобної залози й ін. Однак, подібна анатомічна класифікація недостатньо досконала, оскільки деякі гормони або синтезуються не в тих залозах внутрішньої секреції, з яких вони секретують у кров (наприклад, гормони задньої частки гіпофіза, вазопресин і окситоцин, синтезуються в гіпоталамусі, звідки переносяться в задню частку гіпофіза), або синтезуються й в інших залозах (наприклад, частковий синтез полових гормонів у наднирниках, синтез простагландинів не тільки в передміхуровій залозі, але й в інших органах) і т.п. З урахуванням цих обставин були початі спроби створення класифікації гормонів, заснованої на їхній хімічній природі. Відповідно до цієї класифікації всі відомі гормони можна розділити на п'ять груп.

1. **Складні білки** – глікопротеїди; до них ставляться фолікулоstimулюючий, лютеїнізуючий і тиреотропний гормони.
2. **Прості білки**: пролактин, гормон росту, інсулін і ін.
3. **Пептиди**: адренкортикотропний гормон (АКТГ), глюкагон, кальцитонін, соматостатин, вазопресин, окситоцин і ін.
4. **Похідні амінокислот**: адреналін, норадреналін, тироксин і ін.
5. **Стероїдні сполуки**: гормони кори наднирників (кортикостероїди) і полові гормони (андрогени й естрогени).

В особливу групу звичайно виділяють так звані *тканеві гормони* або *гуморальні фактори*, які утворюються не в ендокринних залозах, а в багатьох тканинах організму (гістамін, простагландини й ін.).

Два основних механізми дії гормонів (стероїдних і нестероїдних).

Нестероїдні гормони. Специфічність гормонів стосовно кліток-мішеней пов'язана з наявністю білкових рецепторів. Рецептори більшості гормонів (поліпептидної будови й похідних амінокислот, тобто *нестероїдні*) перебувають у мембрані кліток. Відповідна реакція виникає при зв'язуванні гормону рецептором.

Стероїдні гормони проникають у цитоплазму клітин-мішеней і зв'язуються з певними цитоплазматичними білками-рецепторами. Комплекси, що утворюються, переміщуються в ядра кліток і приєднуються до хроматину. Змінюючи доступність для транскрипції певних ділянок ДНК, стероїдні гормони впливають на синтез мРНК, тобто діють на рівні геному.

Таким чином, механізм дії стероїдних гормонів спрямований в основному на білки: на швидкість їхнього синтезу й активацію, модифікацію вже синтезованих білків.

Існує добре виражений зв'язок між ендокринною й нервовою системою. У секреторних клітинах гіпоталамуса (відділ; головного мозку) утворюються гормони - низькомолекулярні поліпептиди, названі рилізінг-факторами або регуляторними факторами. Їхнім органом-мішенню є аденогіпофіз (передня частка гіпофіза). Рилізінг-фактори, вироблювані в гіпоталамусі, можна розглядати як універсальні хімічні сигнали, за допомогою яких здійснюється передача нервових імпульсів на ендокринну систему.

За участю зазначених нервових шляхів здійснюється швидка регуляція аденогіпофізарної секреції у відповідь на різні впливи зовнішнього середовища (холод, гіпоксія, травми, отрути) або на певний фізіологічний стан (страх, тривога).

Все викладене свідчить про те, що «гіпоталамо-гіпофізарна система» є анатомічною й біохімічною основою інтеграції дії нервової системи й ендокринної.

У свою чергу гормони впливають на нервову систему. При цьому відбувається зміна метаболізму нейронів мозкової тканини - обміну електrolітів і амінокислот, процесів утворення й зв'язування аміаку. Вплив гормонів на функції нейронів мозкових структур призводить до їхньої участі в регулюючому й коригуючому впливах ЦНС на різні органи.

2. Гормони щитовидної залози.

Це одна з найбільших (30—50 г) залоз внутрішньої секреції. Вона є лише у хребетних. У людини щитоподібна залоза розміщена попереду трахеї та гортані і складається з двох часток, з'єднаних перешийком.

Паренхіма залози складається з пухирців — *фолікулів*. Стінка кожного фолікула утворена шаром клітин — *фолікулярних ендокриноцитів*, фіксованих на базальній мембрані. Навколо фолікулів розміщується густа навколофолікулярна капілярна і лімфокапілярна сітка, у порожнині фолікулів міститься в'язкий колоїд,

що має високу гормональну активність. Між фолікулами розміщені *парафолікулярні ендокриноцити*.

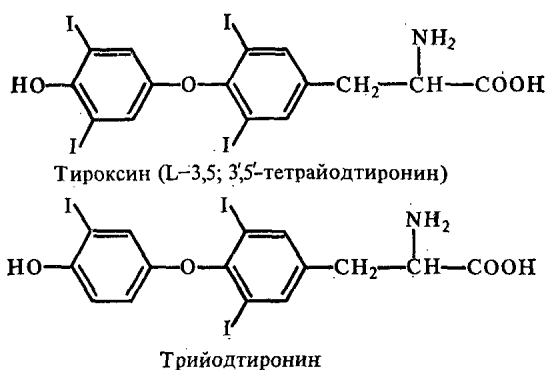
Секретує *тироксин і трийодтиронін* (глікопротеїди), а також *кальцитонін*.

Вихідними продуктами синтезу перших двох гормонів є тирозин і неорганічний йод. Перші два синтезуються фолікулярними ендокриноцитами, вони є йодовмісними.

Кальцитонін синтезується

парафолікулярними ендокриноцитами і не містить йоду.

Концентрація йоду в щитоподібній залозі у 200-300 разів вища, ніж у крові. Йод є обов'язковим компонентом залози, тому її нормальна функція можлива за



умови регулярного надходження йоду в організм. Він вступає в тісний зв'язок зі специфічним білком залози — тиреоглобуліном. Таким чином, в основі утворення гормону лежать два неперервних, тісно пов'язаних процеси - кругообіг йоду в залозі та біосинтез тиреоглобуліну. Йод надходить в організм у складі їжі, води і акумулюється у щитоподібній залозі під впливом тиротропіну — гормону гіпофіза.

Основна частина йоду, який надходить в організм, перебуває у формі йодиду, який легко всмоктується з кишок у кров. Дві третини його видаляється з сечею, а одна концентрується в щитоподібній залозі. Тут він швидко залучається до складу тироглобуліну й утворює органічно зв'язаний йод.

Біологічна дія гормонів щитовидної залози поширюється на безліч фізіологічних функцій організму. Тиреоїдні гормони посилюють енергетичний обмін, окисні процеси, особливо в мітохондріях, обмін білків, ліпідів і вуглеводів. Ці гормони прискорюють транспорт глюкози в кишках, регулюють її рівень у крові, підвищують чутливість до адреналіну. В ліпідному обміні їх вплив виявляється зменшенням холестерину, кількості нейтральних жирів і фосфоліпідів. Гормони щитоподібної залози можуть змінювати швидкість мобілізації жирів із жирових депо та їх окиснення. Введення тироксину знижує рівень білків у крові, посилює використання глобулінів, у здорових людей призводить до негативного азотистого балансу. Дія тиреоїдного гормону спрямована на ріст і розвиток, що, без сумніву, є результатом його впливу на біохімічні процеси, активізація яких необхідна для росту.

Гіпофункція щитовидної залози (гіпотиреоз) супроводжується зниженням основного обміну, температури тіла, слизуватими набряками. Це захворювання називається *мікседемою*.

Всі ці явища порівняно легко піддаються лікуванню препаратами щитовидної залози. Якщо гіпотиреозом страждають діти, розвивається кретинізм, що супроводжується затримкою росту й розумового розвитку.

Гіпертироз — це підвищена активність щитоподібної залози і збільшення концентрації тиреоїдних гормонів у крові. У хворих при цьому спостерігається збільшення маси залози за рахунок фолікулярних утворів, підвищення концентрації гормонів у крові, підвищення теплопродукції, висока дратівливість, швидка втомлюваність, тахікардія, збільшення частоти дихання. Це захворювання називають тироксикозом (базедова хвороба) (рис. 166).

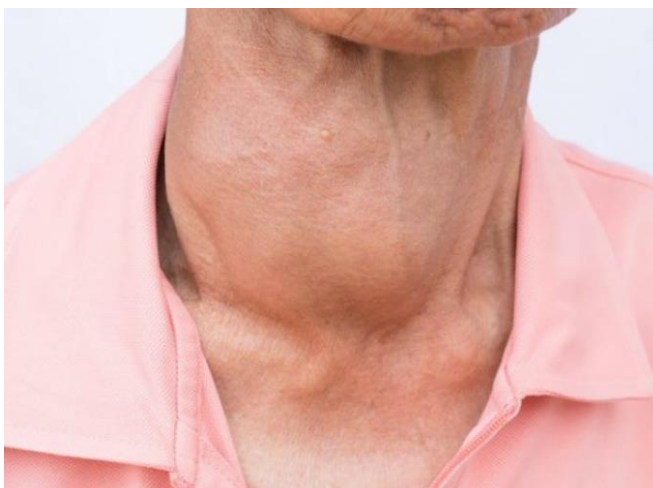




Рис. 166. Симптоми базедової хвороби

Слід зазначити ще одна поразка щитовидної залози, що одержало назву *ендемичного зоба*. Хвороба звичайно розвивається в осіб, що проживають у гірських місцевостях, де втримується недостатньо йоду у воді й рослинах.

Нестача йоду призводить до компенсаторного збільшення тканини щитовидної залози за рахунок переважного розростання сполучної тканини, однак цей процес не супроводжується збільшенням секреції тиреоїдних гормонів. Хвороба не призводить до серйозних порушень функції організму, хоча збільшена в розмірах щитовидна залоза створює певні незручності. Лікування в цьому випадку



зводиться до збагачення продуктів харчування, зокрема повареної солі, неорганічним йодом.

Крім йодовмісних гормонів залоза продукує *кальцитонін*, який знижує вміст кальцію в крові. Гормон *активізує функцію остеобластів*, які сприяють утворенню кісткової тканини і поглинають кальцій з крові. Під впливом цього гормону швидше загоюються кісткові травми. Він має різноспрямовану дію порівняно з гормоном прищитоподібних залоз і впливає на їхню активність.

Функцію щитоподібної залози контролює гіпофіз шляхом секреції тиреотропіну, який гуморальним шляхом досягає залози, активізуючи її функцію. У свою чергу, тиреотропний функція гіпофіза контролюється гіпоталамусом. Функція щитоподібної залози, як і інших залоз внутрішньої секреції, регулюється за принципом негативного зворотного зв'язку.

3. Гормони паращитовидної залози.

У більшості людей під щитоподібною залозою є дві пари дрібних прищитоподібних залоз масою 0,1-0,35 г. Зовнішня сполучнотканинна капсула формує глибокі прошарки між групами клітин — прищитоподібних ендокриноцитів (паратироцитів). Ці клітини продукують **паратирин (паратгормон)**. Він активує функцію остеокластів, які руйнують кісткову тканину, і підвищує рівень кальцію в крові. При введенні в організм паратирин зумовлює гіперкальціємію. Враховуючи велике значення кальцію в забезпеченні різних функцій в організмі (збудливість нервової системи, скоротливість м'язів, згортання крові, секреторна функція травних залоз тощо), у разі недостатньої функції залози виникає гіпопаратироз — захворювання, яке супроводжується підвищенням збудливості нервової системи, появою судом, значним зменшенням вмісту кальцію в крові при підвищенні рівня фосфатів. Судомне скорочення дихальних м'язів може призвести до смерті.

У нормі концентрація кальцію в плазмі крові утримується на сталому рівні, оскільки між кількістю кальцію в крові, внутрішньою секрецією прищитоподібних залоз і парафолікулярних ендокриноцитів щитоподібною залозою існує безпосередній двосторонній зв'язок. Реакції цих залоз на зміну вмісту кальцію не опосередковані нервовими або гуморальними механізмами. Отже, синтез і виділення паратирину залежать насамперед від рівня кальцію в крові.

Основне місце дії паратгормону - нирки й кістки кістяка.

4. Гормони підшлункової залози.

Підшлункова залоза ставиться до залоз зі змішаною секрецією. Внутрисекреторну функцію виконують острівці Лангерганса, що складаються з α - і β -кліток, що виробляють відповідно глюкагон і інсулін - гормони протилежної дії.

Внутрішньосекреторна частина підшлункової залози сформована у вигляді окремих острівців Лангерганса (від 300 тис. до 2,5 млн.), їх більше у хвостовій частині залози. Це інсулярний апарат залози. Інсулярні утвори виникли у процесі філогенезу раніше, ніж секреторна частина залози. У нижчих хребетних секреторна і внутрішньосекреторна частини відособлені.

Острівці підшлункової залози - це скупчення клітин - ендокриноцитів - без вивідних проток, оточені густою капілярною сіткою, мають велику кількість автономних нервових волокон. Розрізняють α -ендокриноцити, які виробляють **глюкагон**, і β -ендокриноцити, що синтезують **інсулін**. У нижчих хребетних α -ендокриноцитів немає. β -ендокриноцити наявні у всіх хребетних. Окремі ендокриноцити продукують гормоноподібні речовини, зокрема ліпокаїн, соматостатин та ін.

Інсулін, що одержав свою назву від найменування острівців Лангерганса, був першим білком, первинна структура якого розкрита в 1953 р. Сэнджером. Молекула інсуліну, що містить 51 амінокислоту, складається із двох поліпептидних ланцюгів, з'єднаних між собою у двох крапках дисульфідними містками.

Інсулін стимулює:

- **синтез глікогену** в печінці (*глікогенез*);
- **гальмує перетворення глікогену на глюкозу** (*глікогеноліз*);
- **утворення вуглеводів із амінокислот** (*глюконеогенез*);
- **сприяє підвищенню проникності клітинних мембран для глюкози**, забезпечуючи її утилізацію.

Під впливом інсуліну підвищується проникність клітинної мембрани і для амінокислот, з яких синтезуються білки. Внаслідок введення великих доз інсуліну різко знижується рівень глюкози в крові. Насамперед відчувають цей дефіцит головний і спинний мозок, оскільки глюкоза є основним джерелом енергії для нервових клітин. Коли вміст глюкози знижується до 2,5 ммоль (45-50 мг%), виникає гостре порушення функції мозку — *інсуліновий шок* (кома). Вивести з такого стану може внутрішньовенне введення розчину глюкози.

Зниження вмісту інсуліну в крові внаслідок недостатньої функції підшлункової залози або експериментальної її екстирпації призводить до *цукрового діабету*, що супроводжується гіперглікемією, глюкозурією та іншими порушеннями.

Цукровий діабет вперше згадується ще в єгипетських папірусах. Однак протягом тисячоліть це захворювання було невиліковним, доки не був відкритий інсулін. Століття тому для дітей з цукровим діабетом прогноз був невтішним — близько року життя після початку захворювання.

У фізіологічній регуляції синтезу інсуліну домінуючу роль грає концентрація глюкози в крові. Так, підвищення вмісту глюкози в крові викликає збільшення секреції інсуліну в острівцях Лангерганса; зниження ж концентрації глюкози в крові, навпаки, викликає уповільнення секреції інсуліну. Цей феномен контролю по типу зворотного зв'язку розглядається як один з найважливіших механізмів регуляції вмісту цукру в крові.

Крім того, такий самий ефект спричиняє подразнення **блукаючого нерва**. Подібність ефектів, що виникають під впливом інсуліну і блукаючого нерва, взаємозв'язок між ними зумовили об'єднання їх у єдину *вагоінсулярну систему*.

При недостатній секреції (точніше, недостатньому синтезі) інсуліну розвивається специфічне захворювання, відоме за назвою «цукровий діабет» у хворих розвиваються *гіперглікемія* (підвищення рівня цукру в крові) і *глюкозурія* (виділення цукру з сечею, у якій у нормі він відсутній). При діабеті підсилюються мобілізація жирів з депо, синтез вуглеводів з амінокислот (гліконеогенез) і синтез ацетонових тіл (кетогенез). Після введення хворим інсуліну всі перераховані

порушення, як правило, проходять, однак дія гормону обмежена в часі, тому необхідно вводити його постійно.

У 1921 році канадському лікарю Фредеріку Бантінгу вдалося отримати екстракт підшлункової залози собаки – гормон інсулін. За півроку інсулін вперше ввели пацієнту – чотирнадцятирічному Леонарду Томпсону. Новина про дивовижно успішне лікування, яке повертало до життя виснажених дітей, розлетілася світом. За два роки інсулін поступив у продаж, а Ф. Бантінг отримав Нобелівську премію.

Препарати інсуліну спочатку виробляли з підшлункових залоз корів та свиней (рис. 167). Але вони часто викликали алергічні реакції. У 1979 році вперше був здійснений синтез людського інсуліну методом генної інженерії. За три роки американська компанія Genentech розпочала промислове виробництво людського інсуліну, використовуючи генно-модифіковані бактерії – кишкові палички.

Другий гормон підшлункової залози — **глюкагон**, фізіологічна дія його пов'язана насамперед з вуглеводним обміном. Він збільшує рівень глюкози в крові за рахунок розпаду глікогену в печінці і в цьому є синергістом адреналіну. На виділення глюкагону впливає зниження рівня глюкози в крові й соматотропін гіпофіза. Симпатична стимуляція підвищує секрецію глюкагону.

Органами-мішенями для глюкагона є печінка, міокард, жирова тканина, але не кістякові м'язи. Біосинтез і секреція глюкагону контролюються головним чином концентрацією глюкози за принципом зворотного зв'язка.

Крім цього підшлункова залоза синтезує соматостатин, секретин, пташиний панкреатичний поліпептид.



Виробництво інсуліну. В 1950-х роках для отримання 0.45 кг препарату було необхідно 4535 кг підшлункової залози свиней

Соматостатин інгібує вивільнення соматотропіну гіпофізом, інсуліну й глюкагону підшлунковою залозою, гастрину слизової шлунку. Соматостатин регулює секрецію гормону росту. По будові соматостатин являє собою чотирнадцятичлений пептид з однієї дисульфідним зв'язком,

Секретин стимулює виділення панкреатичного соку й у меншому ступені жовчі, кишкового соку, гнітить утворення гастрину.

Панкреатичний поліпептид містить 36 амінокислот. Збільшує секрецію шлункових і панкреатичних ферментів, розслаблює жовчний міхур, зменшує перистальтику кишківника.

5. Гормони гіпофізу.

Придаток мозку, що складає з передньої (аденогіпофіз), задньої (нейрогіпофіз) і проміжною частиною. У людини ця частка дещо редукована і входить до складу аденогіпофізу.

Ця залоза є у всіх хребетних, але в процесі філогенезу аденогіпофіз розвивається раніше, ніж нейрогіпофіз. Останній з'являється вперше у рептилій. Проміжна частка у всіх тварин розвинена краще, ніж у людини. Загальна маса гіпофіза у людини в середньому становить 0,6 г.

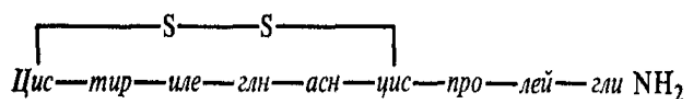
Гіпофіз має тісні зв'язки з гіпоталамусом, який регулює його функцію і становить з ним єдину *гіпоталамо-гіпофізарну* систему. Вона має дві складові: передню ділянку гіпоталамуса і нейрогіпофіз та гіпофізотропну зону середнього підвищення гіпоталамуса і аденогіпофіз.

Нейрогіпофіз ссавців секретує: вазопресин, окситоцин, α - і β -меланоцитстимулюючі гормони, когерин.

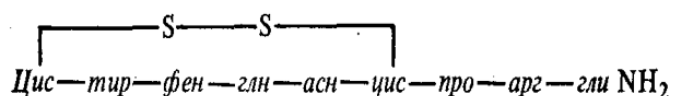
Окситоцин і вазопресин - циклічні пептиди.

Вазопресин і окситоцин людини відрізняються лише двома амінокислотними залишками.

Вазопресин зумовлює специфічні реакції — пресорну, антидіуретичну й гіпоглікемічну. Вазопресин посилює скорочення гладких м'язів кровоносних судин, що призводить до підвищення тиску. Крім того, вазопресин бере участь у регуляції осмотичного тиску плазми крові, водного обміну (володіє антидіуретичною властивістю, тобто перешкоджає виділенню сечі). Особливо важлива його антидіуретична дія. Так, коли у людини порушується секреція вазопресину, діурез підвищується. Хворий може виділяти близько 20 л сечі за добу, відчуваючи постійну спрагу. Це захворювання дістало назву *сечовиснаження*, або *нецукрового діабету*. Механізм антидіуретичної дії вазопресину полягає в посиленні зворотного всмоктування води через сечозбірні трубки нирок.



Окситоцин людини



Вазопресин людини

Природним стимулом для секреції вазопресину є збудження осморорецепторів мозку і печінки.

Окситоцин стимулює скорочення гладких м'язів матки і молочних залоз, активує лактацію. Підвищене виділення окситоцину відбувається рефлекторно при скороченні матки під час пологів і подразненні соска під час ссання.

Проміжна частина гіпофіза виділяє **меланотропін** (меланоцитстимулюючий гормон (МСГ), меланотропін, інтермедин) і є регулятором пігментації шкіри. Пігментні клітини у холоднокровних хребетних називають хроматофорами, а у птахів і ссавців — меланоцитами. Зміни забарвлення шкіри пов'язані з перерозподілом пігменту. У ссавців гормон виділено з гіпофіза свиней, овець, великої рогатої худоби, мавп і людини. У природних умовах забарвлення шкіри холоднокровних тварин змінюється відповідно до кольору ґрунту. У ссавців інтермедин бере участь у сезонних змінах пігментації шкіри і хутра. Регуляція функції проміжної частини аденогіпофізу здійснюється рилізінг-гормоном.

У людини й вищих тварин МСГ підвищує активність щитовидної залози, стимулює секрецію сальних залоз, знижує адаптацію очей до темряви, підвищує чутливість до світла, беручи участь у регуляції руху кліток чорного пігментного шару в оці.

Когерин - пептид, що синтезується в нейрогіпофізі й викликає координоване скорочення кишкового.

Аденогіпофіз секретує тиреотропін, адренкортикотропін, лютеинизуючий і фоллікулостимулюючий гормони, пролактин, соматотропін, ліпотропіни.

Ряд гормонів аденогіпофізу мають регулювальний вплив на функцію інших залоз внутрішньої секреції. Їх називають тропінами. Це тиреотропін, кортикотропін, гонадотропний гормон.

Соматотропін (соматотропний гормон, гормон росту) стимулює синтез білка в органах і тканинах та їх ріст. Його виділено з гіпофіза риб, овець, корів, коней, свиней, мавп і людини. Цей гормон відрізняється високою видовою специфічністю, тому у випадках замісної гормонотерапії використовують гормон того самого виду тварин.

Соматотропін має стимулюючий вплив на епіфізарні хрящі кісток, а отже, й на ріст їх у довжину. Якщо цей гормон виробляється в надлишку у молодому віці,

розвивається гігантизм, недостатня його кількість призводить до карликовості (при цьому зберігаються нормальні пропорції тіла (рис. 168).



Сама маленька людина на Землі, китаець Хе Пингінг (73 см), зустрівся з самою високою людиною планети Султаном Козеном (246.5 см) з Турції

Надмірна кількість соматотропіну у дорослих людей призводить до розростання м'яких тканин, деформації й потовщення кісток: розвивається акромегалія. При цьому має місце збільшення розмірів стопи, кисті, нижньої щелепи, язика, потовщення суглобових капсул. Експериментальний гігантизм можна викликати у тварин шляхом тривалого введення гормону. Цей процес є дозозалежним. Доведено, що для прояву ростового ефекту гормону має бути нормальною функція кори надниркових залоз, зокрема її мінералокортикоїдна функція. Секреція соматотропіну регулюється рилізінг-гормонами гіпоталамуса, а також залежить від

концентрації в крові глюкози, амінокислот і вільних жирних кислот.

Тиротропін (тиреотропний гормон, ТТГ) є глікопротеїдом, який стимулює ріст щитоподібної залози і регулює вироблення й виділення нею гормонів. Впливає на швидкість поглинання йоду із крові в щитовидній залозі, включення йоду до складу тиреоїдних гормонів і на секрецію останніх. Після видалення гіпофіза щитоподібна залоза атрофується. Головною ознакою активації залози під впливом тиротропіну є підвищення поглинання нею йоду, посилене виділення тироксину. Систематичне введення тиротропіну зумовлює появу ознак гіпотиреозу, як і після введення тироксину, тобто підвищується основний обмін, температура тіла, зменшується його маса тощо. Виділення тиротропіну регулюється відповідним рилізінг-гормоном.

Адренкортикотропний гормон (кортикотропін, АКТГ) — це поліпептид, який не має видової специфічності. Він посилює ріст і функцію пучкової й сітчастої зон надниркових залоз. АКТГ бере участь у регуляції біосинтезу кортикостероїдів наднирниками, стимулює ріст кори наднирників, бере участь у процесі мобілізації ліпідів з жирової тканини. Введення гормону стимулює утворення глюкокортикоїдів, підвищує вміст глікогену в печінці, зменшує вміст холестерину

в надниркових залозах. Кортикотропін спричинює розпад і гальмує синтез білка, отже, є антагоністом соматотропіну. Секреція кортикотропіну посилюється під впливом на організм сильних подразників, що викликають стрес. У таких ситуаціях вступає в дію система *гіпоталамус — гіпофіз — надниркові залози*, яка забезпечує збільшення секреції глюкокортикоїдів, здатних підвищувати опірність організму шкідливим чинникам.

Фолікулостимулюючий, лютеїнізуючий гормони й пролактин поєднують за назвою *гонадотропні гормони*. Фолікулостимулюючий гормон викликає в самок розвиток великої кількості фолікулів і збільшення маси яєчників. У самців цей гормон стимулює сперматогенез. Лютеїнізуючий гормон - визначає настання овуляції, остаточне дозрівання фолікулів яєчника, розрив фолікула й перетворення його в жовте тіло. У самців в сім'яних залозах - стимулює розростання інтерстиціальної тканини і продукцію тестостерону. Пролактин необхідний для появи молока в самок ссавців при пологах. Видалення гіпофіза у лактуючих тварин призводить до припинення секреції молока. Пролактин у ссавців викликає прояв інстинктів, пов'язаних з піклуванням про потомство.

Ліпотропін, діючи на жіночі статеві залози, визначає настання овуляції й утворення жовтого тіла, в сім'яних залозах - стимулює зростання інтерстиціальної тканини і продукцію тестостерону. Ліпотропін стимулює вивільнення жирних кислот з жирової тканини. Є попередником ендорфінів.

6. Гормони наднирників.

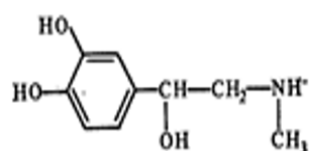
Наднирники складаються із двох індивідуальних у морфологічному й функціональному відношенні частин - мозкової речовини й коркового шару. Мозкова речовина ставиться до хромафіної або адреналової системи й виробляє гормони, що ставляться по зазначеній вище класифікації до похідних амінокислот. Корковий шар складається з епітеліальної тканини й секретує гормони стероїдної природи. Кіркова речовина має три зони: **клубочкову** (зовнішню), **пучкову** (середню) і **сітчасту** (внутрішню). Усі зони чітко відмежовані, і їх кіркові ендокриноцити виробляють різні гормони:

- клубочкова → мінералокортикоїди,
- пучкова → глюкокортикоїди,
- сітчаста → статеві гормони.

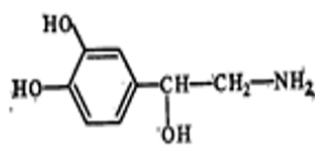
Гормонами мозкової речовини є ***адреналін і норадреналін***. Ці гормони й близькі до них аміни називаються катехоламінами.

Адреналін і норадреналін є симпатичними медіаторами, тому їхня дія подібна до дії симпатичної нервової системи. **Адреналін** підвищує систолічний артеріальний тиск, активізує роботу серця, підвищує рівень глюкози в крові за рахунок глікогену печінки, збільшує вміст вільних жирних кислот у плазмі крові,

підвищує рівень основного обміну, знижує тонус гладких м'язів шлунку і кишок,



Адреналін



Норадреналін

пригнічує їх рухову активність, підвищує тонус скелетних м'язів. У високих дозах спричиняє аритмію і екстрасистолію внаслідок підвищення

збудливості серця. Незалежно від дії на серце адреналін звужує кровоносні судини, але сприяє розширенню стінки артеріол внутрішніх органів (шлунку, печінки, кишок). У крові тварин і людини в спокійному стані міститься дуже мало адреналіну. Різке емоційне порушення, біль, фізична напруга, охолодження приводять до значного підвищення його концентрації в крові, тому що він служить ініціатором «мобілізаційної готовності організму».

Норадреналін впливає на серцево-судинну систему своєрідно. Якщо адреналін зумовлює тахікардію, то норадреналін - брадикардію внаслідок впливу блукаючого нерва. При внутрішньовенному введенні адреналін підвищує активність нервової системи.

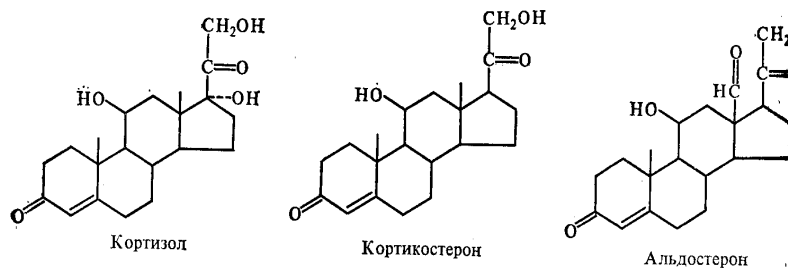
Катехоламіни підтримують гомеостаз в умовах змін зовнішнього середовища, сприяють забезпеченню функціонуючих систем кров'ю, її перерозподілу в загальній системі кровообігу. Таким чином вони мобілізують резерви організму на боротьбу зі шкідливими стимулами (*стресорами*) і залучають інші адаптивні механізми, що підвищують опірність організму

У цілому вся симпатoadреналінова система (мозковий шар наднирників і симпатичний відділ нервової системи) забезпечує готовність організму до захисних реакцій, що вимагають активної рухової діяльності. Ця готовність виражається в посиленні функції серцево-судинної системи, підвищенні енергетичного балансу, гальмуванні діяльності шлунково-кишкового тракту, посилене кровопостачання кісткової мускулатури. У зв'язку із цим адреналін називають «гормоном боротьби й втечі».

У дії адреналіну й норадреналіну є деякі розходження. Так, норадреналін на відміну від адреналіну лише в малому ступені збільшує вміст глюкози в крові й поглинання CO₂.

Корковий шар наднирників.

Корковий шар наднирників у нормальних умовах секретує адренкортикостероїди: кортизол (гідрокортизон), кортикостерон і альдостерон. Попередником адренкортикостероїдів є холестерин.



У людини кортизол секретується в кількості 10-30 мг/сут, кортикостерон - 2-4 мг, альдостерон – 300-400 мкг.

Мінералокортикоїди (альдостерон, кортикостерон, дезоксикортикостерон) беруть

участь у регуляції мінерального обміну в організмі, насамперед **натрію і калію** в плазмі крові.

З цих гормонів найбільшу активність має **альдостерон**. Він збільшує реабсорбцію натрію в каналцях нирок, що забезпечує підвищення його вмісту в крові, і разом з тим знижує реабсорбцію калію, що призводить до його втрати. Підвищення концентрації натрію в крові під впливом альдостерону призводить до затримки води в організмі і сприяє підвищенню артеріального тиску. Нестача мінералокортикоїдів призводить до втрати натрію, що спричиняє зміни у внутрішньому середовищі організму, несумісні з життям. Через кілька днів після видалення кори надниркових залоз настає смерть. Врятувати життя може лише введення мінералокортикоїдів і натрію.

Рівень мінералокортикоїдів у крові регулюється кількістю натрію і калію. Натрій гальмує секрецію альдостерону і виділяється з сечею. Має також значення співвідношення концентрацій іонів натрію і калію. Це підтверджує той факт, що підвищення секреції альдостерону зумовлює як дефіцит натрію, так і підвищення вмісту калію в крові. Усі ці регульовальні впливи здійснюються через гіпоталамус.

Глюкокортикоїди (кортизон, гідрокортизон і кортикостерон) регулюють вуглеводний, білковий і ліпідний обмін. Найактивнішим з них є **гідрокортизон**.

Глюкокортикоїди підвищують рівень глюкози в крові, але не за рахунок глікогену печінки, а **шляхом перетворення безазотистих залишків дезамінованих амінокислот на вуглеводи (глюконеогенез)**. Глюкокортикоїди не є життєво необхідними гормонами, і все ж їх дефіцит призводить до зниження опірності організму щодо шкідливих чинників. У стані стресу активізується виділення аденогіпофізом кортикотропіну, а під його впливом і глюкокортикоїдів у надниркових залозах, що підвищує захисні реакції організму. Глюкокортикоїди збільшують загальну кількість лейкоцитів при зменшенні кількості еозинофільних гранулоцитів.

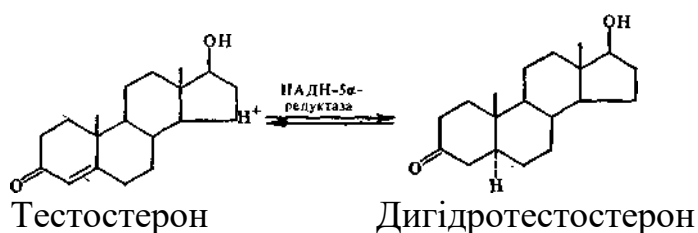
Виділення глюкокортикоїдів регулюється за участю рилізінг-гормонів гіпоталамуса, зокрема кортикотропін-рилізінг-гормону. На гіпоталамус впливає насамперед адреналін, який виділяється внаслідок рефлекторних впливів, під час болю, при крововиливах, різких температурних впливах, інфекційних захворюваннях, психічних травмах тощо.

Статеві гормони кори надниркових залоз (андрогени, естрогени) відіграють важливу роль у розвитку статевих органів дітей, коли ще недосконала ендокринна функція статевих залоз. Підвищена секреція статевих гормонів кори надниркових залоз призводить у дітей до передчасного статевих дозрівання. Після настання статевої зрілості їх роль є незначною. Проте після припинення функції статевих залоз у старості кора надниркових залоз залишається єдиним джерелом андрогенів і естрогенів.

7. Гормони статевих залоз.

Статеві залози є мішаними, оскільки разом із продукцією статевих клітин — сперматозоїдів і яйцеклітин — виділяють у кров статеві гормони — **андрогени** й **естрогени**. Обидві групи статевих гормонів утворюються як у чоловічих, так і в жіночих статевих залозах. Однак у чоловіків переважають андрогени, а в жінок — естрогени. За хімічною природою статеві гормони є стероїдами. Ці гормони необхідні для статевого дозрівання, забезпечення розвитку вторинних статевих ознак і виконання статевих функцій.

Сім'яники секретують тестостерон і дигідротестостерон (андрогени – чоловічі полові гормони) у кількості 5—7 мг/добу. Біосинтез цих гормонів починається з холестерину.



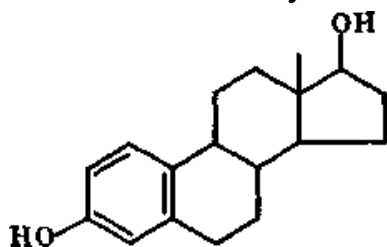
Тестостерон здійснює статеву диференціацію організму в ембріональний період. Під його впливом відбувається маскулінізація зовнішніх і внутрішніх статевих органів. Із настанням статевої зрілості андрогени стимулюють сперматогенез і розвиток вторинних статевих ознак, сприяють збільшенню гортані, потовщенню голосових зв'язок, що змінює тембр голосу. Андрогени стимулюють синтез білка, що забезпечує розвиток мускулатури, впливають на функцію нервової системи і визначають статеву поведінку самців.

Нестача статевих гормонів викликає зміни, які залежать від того, виникли вони задовго до статевого дозрівання чи після. У першому випадку статеве дозрівання припиняється і статеві органи не досягають зрілого стану, не розвиваються вторинні статеві ознаки. У другому випадку в статевій системі відбуваються лише часткові зміни.

У регуляції функції чоловічих статевих залоз провідну роль відіграють гонадотропні речовини аденогіпофізу. Їх введення прискорює і посилює розвиток чоловічого статевого апарату і вторинних статевих ознак. Видалення гіпофіза у статевозрілих тварин призводить до атрофії сім'яних каналців та інтерстиційної тканини.

Жіночі полові гормони (естрогени) синтезуються головним чином у яєчниках.

Яєчник продукує **естрогени** (*естрадіол, естрон*) і **прогестини** (*прогестерон* та ін.). Фолікули яєчників секретують найбільш активний естроген - ®-естрадіол у кількості 1 мг/добу.



Естрадіол виробляється у фолікулах яєчника, *прогестерон* є гормоном жовтого тіла. Кількість жіночих статевих гормонів залежить від фаз статевого циклу. Так, естрогени створюють умови для запліднення яйцеклітини, а прогестерон забезпечує імплантацію і розвиток зародка після запліднення. У прямій залежності

від функції яєчника перебуває матка. Після введення естрогенів відбувається гіпертрофія матки, її набрякання, ріст маткових труб і посилення скоротливості їхніх м'язів, що сприяє переміщенню яйцеклітини до матки. *Основним місцем утворення прогестерону є клітини жовтого тіла.* Жовте тіло виникає в кожному статевому циклі після овуляції на місці зруйнованого фолікула. Другим джерелом прогестерону є плацента. Цей гормон називають також гормоном вагітності, оскільки він не тільки забезпечує нормальний розвиток заплідненої яйцеклітини, а й гальмує дозрівання чергового фолікула та овуляцію.

З настанням статевої зрілості у жінок овуляція повторюється періодично через кожні 28 днів — *менструальний цикл*. Він має чотири періоди: 1) передовуляційний; 2) овуляційний; 3) післяовуляційний; 4) період міжовуляційного спокою. У тварин статевий цикл називають *естральним*. Він пов'язаний з тічкою і властивий всім ссавцям, крім мавп і людини.

У *передовуляційному періоді* відбувається підготовка до імплантації яйцеклітини — до вагітності. Матка збільшується, ендометрій стає пухким, його залози розростаються, скоротливість маткових труб посилюється. Вміст гонадотропінів в аденогіпофізі збільшується як у першому, так і в другому періоді, а після овуляції знижується. Під впливом гонадотропінів посилюється вироблення яєчником естрогенів, які й зумовлюють зазначені зміни в статевому апараті, дозрівання фолікула й овуляцію.

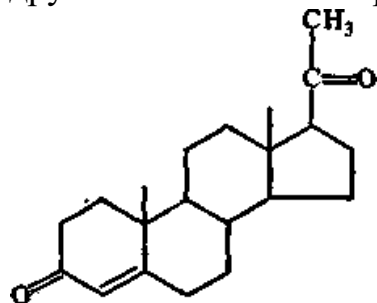
Настання *овуляції* забезпечує вихід яйцеклітини і переміщення її в матковій трубі. Після запліднення яйцеклітина потрапляє в матку і закріплюється в її слизовій оболонці. На місці фолікула розвивається жовте тіло, клітини якого продукують прогестерон. Під впливом прогестерону продукція гонадотропінів

аденогіпофізом зменшується, що, у свою чергу, зменшує утворення яєчниками естрогенів.

Якщо запліднення не відбулося, настає *післяовуляційний період*. Виникає *менструація* як результат скорочення матки і відторгнення її слизової оболонки, підготовленої до вагітності, що не відбулася. Після цього настає період міжовуляційного спокою.

Секреція естрадіолу і прогестерону регулюється гонадотропінами гіпофіза — **фолітропіном** (**фолікулоstimулюючим гормоном**) і **лютропіном** (**лютеїнізуючим гормоном**). У перші дні статевого циклу зростає кількість фолітропіну, що стимулює дозрівання первинного фолікула до вторинного, далі — третинного. Принципове значення має співвідношень між фолі- і лютропіном. У середині циклу зростає рівень лютропіну, що спричиняє розрив третинного фолікула і перетворення його на жовте тіло.

Жовте тіло. Продукує **прогестерон і релаксин**. Прогестерон утвориться в другій половині менструального циклу. Особливо багато його утвориться під час вагітності. Він необхідний при підготовці слизової оболонки матки для закріплення в ній заплідненого яйця.



Прогестерон

Плацента продукує **пролактин** (**лактогенний гормон**) і **релаксин**, який до моменту пологів сприяє підвищенню податливості лобкового сполучення. Під час пологів підвищується рівень нейросекрету нейрогіпофізу **окситоцину**, який активізує скоротливість м'язів матки і сприяє скороченню міоепітеліальних клітин в альвеолах молочних залоз, разом з пролактином забезпечуючи лактацію. На функцію статевих залоз значний вплив чинить ЦНС. Під впливом негативних емоцій перебіг статевого циклу може змінюватися.

Релаксин - поліпептид, що складається із двох неідентичних ланцюгів, з'єднаних дисульфідними містками. Релаксин підготовляє матку й тазові зчленування до родів.

8. Гормони тимусу

Це центральний орган імуногенезу, який визначає становлення і функціонування клітинної системи імунітету. Залога міститься за грудниною у верхньому відділі переднього середостіння і складається з двох часток, у яких є дві групи клітин — **timoцити** та **лімфоцити**. Єдиної думки про залозу як орган внутрішньої секреції немає. Проте пересадження залози після хірургічного видалення не відновлює властиві їй функції.

Виділено кілька біологічно активних речовин залози: **тимозин, тимопоетин** та ін. Під впливом тимозину відбувається диференціація попередників Т-лімфоцитів до імунокомпетентних Т-лімфоцитів. Тому захворювання, що характеризуються імуноними порушеннями, пов'язують із порушенням функції загруднинної залози. Існує думка про участь залози в еритропоезі. Встановлено, що у випадках тимоми — пухлини залози — розвивається особливий вид анемії, коли з периферичної крові зникають ретикулоцити, а з кісткового мозку — еритробласти.

Численні експериментальні дослідження свідчать про наявність зв'язків між загруднинною і статевими залозами. Тривале введення високих доз екстрактів загруднинної залози молодим тваринам спричиняє затримку статевого дозрівання.

9. Гормони епіфізу

Шишкоподібна залоза, або шишкоподібне тіло (епіфіз), у нижчих хребетних є фоторецептивним органом і має назву тім'яного ока. У ссавців ця залоза розміщена в ділянці чотиригорбкової пластинки середнього мозку і функціонує як орган внутрішньої секреції. З неї виділено **мелатонін**, який зумовлює затримку статевого розвитку в статевонезрілих особин, а в дорослих самок гальмує статевий цикл. Крім того, мелатонін гальмує виділення лютропіну-релізинг-гормону, а звідси секрецію гонадотропінів і активність статевих залоз.

Секреції мелатоніну властивий **циркадний (добовий)** ритм, максимальний рівень секреції спостерігається вночі. Світло гальмує секрецію мелатоніну. Гальмування секреції мелатоніну протягом світлового дня збільшує кількість лютропін-релізинг-гормону і гонадотропінів, викликає менструацію (тічку), ріст сім'яників, статеву активність. Екстирпація шишкоподібної залози спричиняє гіперглікемію, а введення її екстракту — гіпоглікемію. У дослідях на плазунах показано, що мелатонін спричинює агрегацію гранул меланіну в меланоцитах шкіри, що зумовлює посвітління шкіри. Отже, він є антагоністом меланотропіну проміжної частки гіпофіза.

10. Тканинні гормони

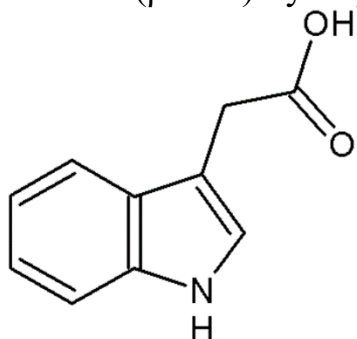
Крім залоз внутрішньої секреції біологічно активні речовини продукуються спеціалізованими клітинами різних органів. Зокрема, це стосується піднижньощелепної слинної залози, яка виділяє *інсуліноподібний білок і калікреїн*, що забезпечує судинорозширювальний ефект. Нирки виділяють *ренін і еритропоетин*. Клітини кишок синтезують цілу низку гормонів, які впливають на секрецію, моторику і всмоктування речовин: *секретин, холецистокінін (панкреозимін), гастроінтестинальний, вазоін-тестинальний пептиди, бомбезин, мотилін, вілікінін, соматостатин* тощо. Шлунок продукує *гастрин і гістамін*.

Нещодавно відкрито групу нейрорегуляторних пептидів — *енкефалінів*, *ендорфінів*, *нейротензину* та ін., які становлять ще одну гормональну систему гіпоталамогіпофізарного комплексу. Ці речовини мають гіпофізотропну активність і споріднені з рилізінг-гормонами. Клітини цієї системи мають високий вміст амінів. їм також властива здатність виробляти крім пептидів біогенні аміни (*серотонін*, *дофамін*, *гістамін*).

11. Фітогормони.

Відомі чотири основні групи фітогормонів (рослинних гормонів): ауксини, гиббереллини, цитокинини, інгібітори росту.

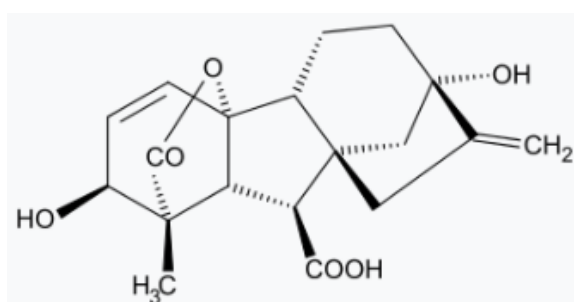
Ауксини. Це речовини індольної природи, основне з них - β -індолилцетова кислота (β -ІУК) - утвориться із триптофану.



При оптимальному вмісті ауксини значно прискорюють ріст кліток у фазі розтягання, у деяких випадках стимулюють розподіл кліток. Регулюють приплив води й живильних речовин.

Вміст ауксинів у рослинних тканинах змінюється під дією умов висвітлення, водного режиму, мінерального харчування й інших факторів.

Гібберелліни. До них відносять більше 40 тетрациклічних карбонових кислот. Найпоширеніший гіббереллін А₃, або гіббереллова кислота (ГК).



Утворюються з ацетіл-КоА через мевалонову кислоту. Синтезуються головним чином в інтенсивно зростаючих органах (молоді листи, корінь, що формуються насіння). Гібберелліни істотно підсилюють ріст стебла, його подовження як за рахунок активації розподілу кліток, так і за рахунок їхнього розтягання. В основі механізму дії

гіббереллінів лежить збільшення інтенсивності біосинтезу ферментів, а також нециклічного фотофосфорилування.

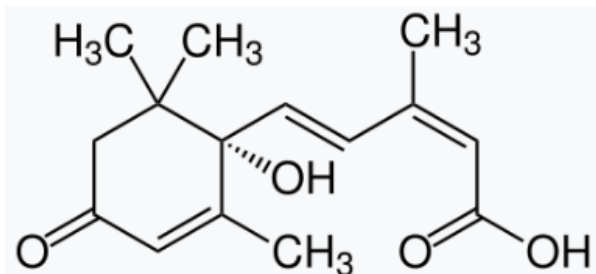
Цитокинини.

Основні регулятори розподілу кліток у рослин, у зв'язку із чим і одержали свою назву (*ауксини й гібберелліни в більшій мірі регулюють ріст розтягуванням*). Є похідними аденіну. Утворюються в коренях і пересуваються в надземні органи по ксилемі. Разом з ауксинами беруть участь у процесі органогенезу. Стимулюють синтез білка й хлорофілу, затримують старіння листів. Подібно ауксинам, підсилюють пересування речовин до збагаченим ними тканинам. Підвищують

інтенсивність циклічного (на відміну від гіббереллінів) фосфорилування. Збільшують у тканинах кількість всіх видів РНК, активують хроматин.

Інгібітори росту.

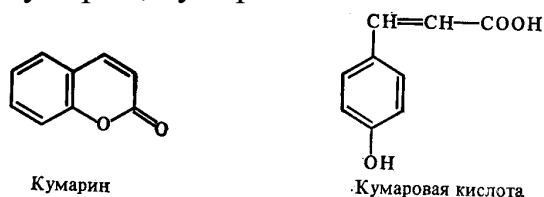
Найбільше значення має абсцизова кислота (АБК). Вона утворюється, як і гібберелліни з мевалонової кислоти.



Утримується в різних органах рослин у значних кількостях, коли рослина перебуває в стані спокою. По своїй фізіологічній дії АБК у багатьох випадках є антагоністом ИУК, гіббереллінів і цитокинінів. Баланс між фітогормонами й АБК визначає

здатність даного органа до росту й морфогенезу. Під впливом АБК різко зменшується проникність мембран, що, видимо, і лежить в основі механізму її дії. Цю сполуку розглядають також як загальний генний репресор, що підготовляє рослина до стану спокою.

У покривах насіння і м'якоті плодів утримуються фенольні інгібітори росту - кумарин, кумарова кислота й інші, які гальмують проростання насіння.



Їх містять і інші тканини рослин, що особливо перебувають у стані спокою. Фенольні інгібітори росту зменшують вміст фітогормонів, зокрема придушують біосинтез ИУК;

У процесі онтогенезу відбувається взаємодія фітогормонів, при цьому більшу роль грає їхнє кількісне співвідношення. Так, збільшення відносини ауксин/кінетин сприяє диференціації корінь, а його зменшення - диференціації втеч.

Лабораторна робота № 8

ЯКІСНІ РЕАКЦІЇ НА ГОРМОНИ

Мета: вивчити гормони, що виробляються залозами внутрішньої секреції, їх хімічну будову, механізм дії на процеси обміну речовин, основні ознаки недостатності чи надлишку синтезу (гіперфункції) у тварин.

Завдання: оволодіння методами якісного визначення інсуліну, адреналіну та фолікуліну.

Якісні реакції на інсулін

Інсулін є гормоном білкової природи, в молекулі якого поліпептидні ланцюги з'єднані дисульфідними зв'язками. Інсулін дає позитивну біуретову реакцію та реакцію на сірковмісні амінокислоти.

1. Біуретова реакція

Принцип методу. В лужному розчині при додаванні сульфату міді поліпептиди утворюють комплексні солі, забарвлені у фіолетовий колір.

Хід роботи.

1. До 1-2 мл розчину інсуліну додають рівний об'єм розчину гідроксиду натрію.

2. Додають 1-2 краплі розчину сульфату міді.

Спостереження та висновки:



2. Реакція на сульфурвмісні амінокислоти

Принцип методу. При нагріванні з лугом від сульфурвмісних амінокислот відщеплюється Сульфур у вигляді гідроген сульфід (H₂S), який виявляють в реакції з ацетатом свинцю (з'являється коричневе забарвлення).

Хід роботи.

1. До 1-2 мл розчину інсуліну додають рівний об'єм розчину гідроксиду натрію.

2. Вміст пробірки кип'ятять 1-2 хвилини.

3. Додають 2-3 краплі розчину оцтовокислого свинцю.

Спостереження та висновки:

Якісні реакції на адреналін

1. Реакція на адреналін з йодатом калію

Принцип методу. Адреналін у кислому середовищі з йодатом калію утворює сполуку червоно-фіолетового кольору.

У пробірку вносять 1 краплю 0,1 %-го розчину адреналіну, 5 мл води. Відбирають в іншу пробірку 0,5 мл розведеного розчину адреналіну, додають 1 мл розчину КІО₃, 10 крапель розчину оцтової або ортофосфорної кислоти і підігрівають суміш до температури 60 – 65 °С. Спостерігають появу забарвлення.

Спостереження та висновки:



Спостереження та висновки:

2. Реакція адреналіну з йодом

Адреналін здатний легко окиснюватися з утворенням ряду біологічно активних сполук.

При нагріванні розчину адреналіну з йодом утворюються продукти окиснення адреналіну, які забарвлені в червоний колір.

Хід роботи.

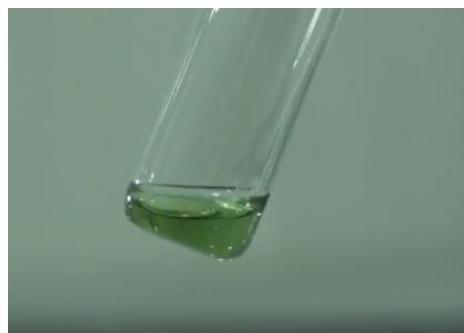
1. В 1-у пробірку наливають 1-2 мл води.
2. В 2-у – 1-2 мл адреналіну.
3. В обидві пробірки додають по 2 краплі розчину йоду.
4. Пробірки злегка підігрівають.

Спостереження та висновки:

3. Реакція на адреналін із хлоридом заліза (III)

Адреналін досить легко вступає в окисно-відновні реакції. Гормон та продукти його окислення можна виявити кольоровими реакціями. Із розчином хлориду заліза (III) адреналін та норадреналін утворюють комплексну сполуку смарагдово-зеленого кольору. Із додаванням краплі розчину аміаку забарвлення стає вишнево-червоним, а потім жовтогарячо-червоним.

У пробірку вносять 10 крапель 0,1 %-го розчину адреналіну та 1 краплю 1 %-го розчину хлориду заліза (III). Потім додають 1 краплю аміаку. Спостерігають появу та зміну забарвлення.



Спостереження та висновки:

4. Реакція на адреналін з діазобензенсульфою

Метод ґрунтується на здатності адреналіну утворювати з діазобензенсульфою сполуку червоного кольору.

Для одержання діазобензенсульфою в пробірку відміряють по 3 краплі 1 %-го розчину сульфанилової кислоти та 5 %-го розчину нітриту натрію, перемішують струшуванням. Потім у пробірку додають 5 крапель 0,1 %-го розчину адреналіну та 3 краплі 10 %-го розчину карбонату натрію. Уміст перемішують струшуванням і спостерігають за розвитком забарвлення.

Спостереження та висновки:

5. Реакція на адреналін з нітритно-молібденовим реактивом

Адреналін у кислому середовищі внаслідок взаємодії з нітритно-молібденовим реактивом утворює сполуку жовто-жовтогарячого кольору. Із додаванням лугу забарвлення змінюється на малиново-червоне, яке за наявності соляної кислоти переходить у лимонно-жовте.

У пробірку вносять 5 крапель 0,1 %-го розчину адреналіну, додають 5 крапель 5 %-го розчину соляної кислоти, 5 крапель нітритно-молібденового реактиву. Суміш перемішують і спостерігають появу забарвлення. Потім вносять 1 краплю 10 %-го розчину гідроксиду натрію, перемішують, додають 1–2 краплі концентрованої соляної кислоти, спостерігають зміни забарвлення на кожному етапі досліду.

Спостереження та висновки:

6. Визначення адреналіну за флуоресценцією продуктів його окиснення

Адреналін окислюється під впливом лугів з утворенням сполук, для яких характерна зелена флуоресценція.

У пробірку вносять 0,5 мл дистильованої води, 5 крапель 10 %-го розчину гідроксиду натрію, 5 крапель 0,1 %-го розчину адреналіну, перемішують. Спостерігають появу флуоресценції за допомогою флуорометра.

Спостереження та висновки:

7. Визначення адреналіну за утворенням флуоресціовального продукту його окиснення – адренолютину

Адреналін окиснюється під дією гексаціаноферату (III) калію в адренохром, з якого в лужному середовищі утворюється адренолютин, що має жовто-зелену флуоресценцію:

У дві пробірки вносять по 1 краплі 0,1 %-го розчину адреналіну і додають в одну з них 5, а в іншу – 10 мл води, перемішують. Із цих пробірок у дві інші пробірки відмірюють по 2 мл розведених розчинів адреналіну, доливають по 0,3 мл 0,2 %-го розчину гексаціаноферату (III) калію і залишають на 5 хв (при цьому адреналін окиснюється в адренохром). У кожену пробірку додають на кінчику скальпеля кристалічну аскорбінову кислоту та по 2 мл розчину 10 %-го розчину гідроксиду натрію (аскорбінова кислота перешкоджає подальшому окисненню адренохрому, а натрію гідроксид сприяє перетворенню його в адренолютин). Пробірки розміщують у штативі флуориметра і порівнюють інтенсивність флуоресценції в пробах.

Спостереження та висновки:

Реакція фолікуліну з реактивом Фоліна

Принцип методу. За допомогою реактиву Фоліна підтверджують наявність фенольної групи в молекулі фолікуліну (синє забарвлення).

Хід роботи.

1. У пробірку наливають 1-2 мл фолікуліну.
2. Додати рівний об'єм розчину гідроксиду натрію.
3. Додати кілька крапель реактиву Фоліна.

Спостереження та висновки:

Реакція фолікуліну з сульфатною кислотою

Принцип методу. При взаємодії фолікуліну з сульфатною кислотою утворюється складний ефір, забарвлений у жовтий колір.

Хід роботи.

1. У пробірку наливають 1-2 мл спиртового розчину фолікуліну.
2. Обережно додають 5-6 крапель сульфатної кислоти.
3. Нагрівають на водяній бані до появи жовтого забарвлення.

Спостереження та висновки:

ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ З РОЗДІЛУ «ГОРМОНИ»

1. Укажіть, що являють собою гормони:

А. Органічні біологічно активні речовини, що продукуються залозами внутрішньої секреції;

Б. Органічні біологічно активні речовини, що утворюються в клітинах печінки;

В. Жироподібні речовини крові з високою біологічною активністю;

Г. Неорганічні речовини різної хімічної будови з високою біологічною активністю.

2. **Вкажіть, куди надходять гормони, які продукуються залозами внутрішньої секреції:**
 - А. Кишечник;
 - Б. Кров'яне русло;
 - В. Тканинну рідину;
 - Г. Нервові клітини.
3. **Укажіть залозу внутрішньої секреції, яка керує гормональними процесами організму:**
 - А. Підшлункова залоза;
 - Б. Щитоподібна залоза;
 - В. Гіпоталамус;
 - Г. Надниркові залози.
4. **Вкажіть, які гормони продукує гіпофіз:**
 - А. Тироксин, інсулін;
 - Б. Соматотропін, вазопресин;
 - В. Глюкагон, кортикостерон;
 - Г. Адреналін, глюкагон.
5. **Нестача якого гормону призводить до карликовості, а надлишок – до гігантизму і акромегалії:**
 - А. Інсуліну;
 - Б. Соматотропіну;
 - В. Тироксину;
 - Г. Адреналіну.
6. **Вкажіть, який з наведених гормонів регулює водний обмін:**
 - А. Соматотропін;
 - Б. Окситоцин;
 - В. Тироксин;
 - Г. Вазопресин.
7. **Вкажіть, який з гормонів виробляє щитоподібна залоза:**
 - А. Адреналін;
 - Б. Тироксин;
 - В. Глюкагон;
 - Г. Соматотропін.
8. **Вкажіть, який з наведених гормонів містить йод:**
 - А. Окситоцин;
 - Б. Тироксин;
 - В. Вазопресин;
 - Г. Адреналін.
9. **Вкажіть захворювання пов'язані з порушенням функції щитоподібної**

залози:

- А. Цукровий діабет, карликовість;
 - Б. Карликовість, гігантизм;
 - В. Гіпоглікемія, глюкозурія;
 - Г. Мікседема, базедова хвороба.
- 10. Вкажіть, які гормони продукує підшлункова залоза:**
- А. Вазопресин, кортикотропін;
 - Б. Соматотропін, адреналін;
 - В. Тироксин, окситоцин;
 - Г. Інсулін, глюкагон.
- 11. Нестача якого гормону призводить до розвитку цукрового діабету:**
- А. Інсуліну;
 - Б. Адреналіну;
 - В. Глюкагону;
 - Г. Тироксину.
- 12. Які основні процеси в організмі регулює інсулін:**
- А. Синтез білків;
 - Б. Розщеплення ліпідів;
 - В. β -окиснення жирних кислот;
 - Г. Вміст цукру в крові.
- 13. Які гормони синтезуються в мозковій частині надниркових залоз:**
- А. Глюкагон, гормон росту;
 - Б. Інсулін, окситоцин;
 - В. Тироксин, соматотропін;
 - Г. Адреналін, норадреналін.
- 14. Які гормони синтезуються в коркової частині надниркових залоз:**
- А. Глюкагон, гормон росту;
 - Б. Інсулін, окситоцин;
 - В. Тироксин, соматотропін;
 - Г. кортизол, кортикостерон.
- 15. При патології якої ендокринної залози розвивається Аддісонова хвороба?**
- А. Підшлункової;
 - Б. Кори наднирників;
 - В. Щитоподібної;
 - Г. Гіпоталамуса.
- 16. Вкажіть гормони, які синтезуються в яєчниках людини:**
- А. Естрогени, фолітропін;
 - Б. Андрогени;
 - В. Тироксин, інсулін;

Г. Соматотропін, адреналін.

17. Вкажіть гормони, які синтезуються переважно в сім'яниках людини:

А. Кортикостероїди, глюкагон;

Б. Андрогени;

В. Естрогени, соматомедини;

Г. Простагландини, пролактин.

18. Вкажіть гормони, які впливають на розвиток вторинних статевих ознак:

А. Інсулін, адреналін;

Б. Тироксин, соматотропін;

В. Окситоцин, вазопресин;

Г. Естрогени, андрогени.

РОЗДІЛ 9

БІОЛОГІЧНЕ ОКИСЛЮВАННЯ

ПЛАН

1. Сучасні уяви про біологічне окислювання.
2. Мітохондрії і їхня роль у процесах окисного фосфорилування.
3. Окисне фосфорилування й дихальний ланцюг мітохондрій.
4. Вільне окислювання й мікросомальне окислювання.
5. Регуляція енергетичного обміну.

1. Сучасні уявлення про біологічне окислювання

Біологічне окислювання, як процес, що протікає в організмі тварин і людини, є досить складним. У цьому процесі беруть участь десятки й сотні різних ферментів, у результаті чого потенційна енергія, яка закладена в молекулах органічних речовин, вивільняється, і за рахунок цього здійснюються все життєво важливі процеси - м'язове скорочення, секреція, мислення й ін.

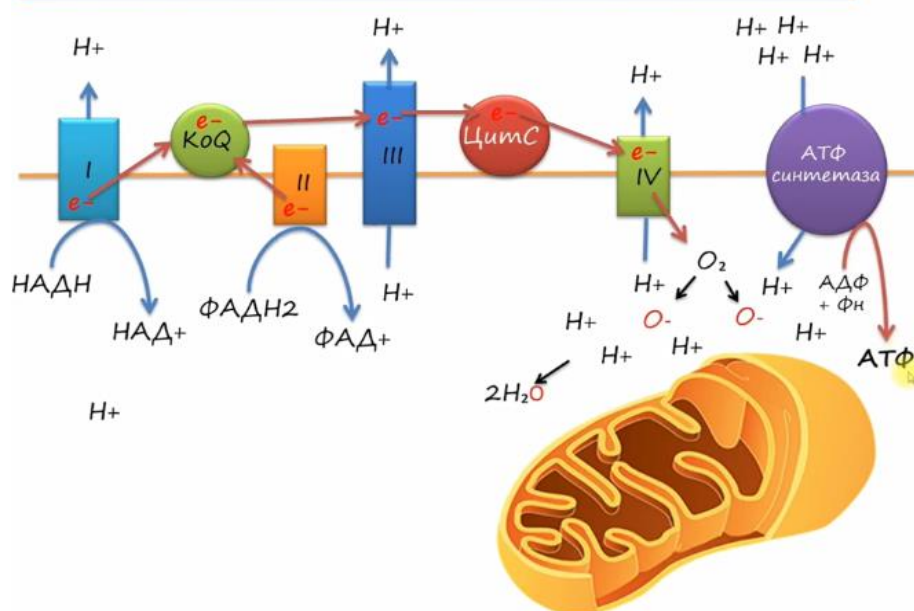
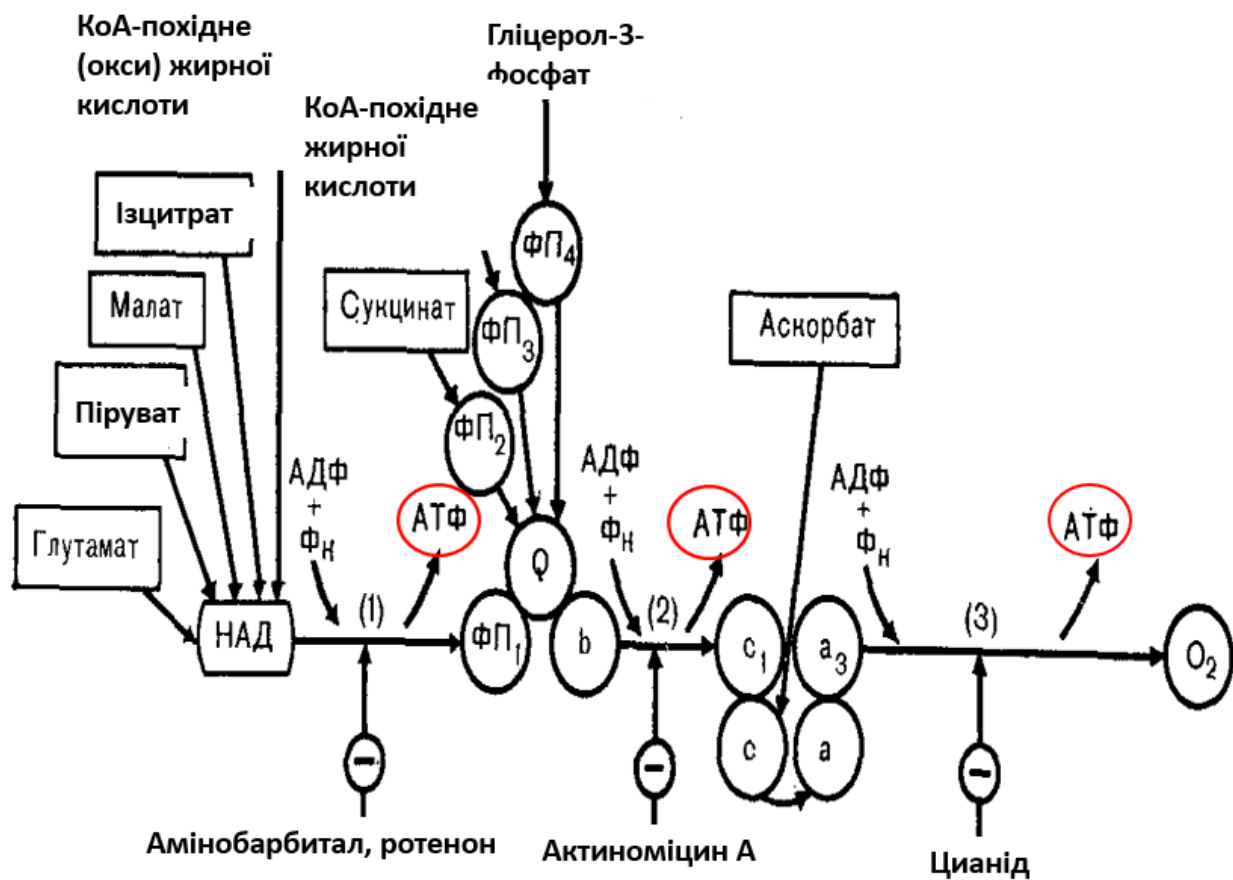
Процеси біологічного окислювання ми можемо представити тільки схематично, тому що дотепер ще не вивчені досконало всі деталі біохімічних реакцій у клітинах. Однак точно встановлено, що в ланцюзі біологічного окислювання беруть участь чотири групи коферментів:

- 1) коферменти піридинової природи - никотинамідаденіндинуклеотид (НАД⁺) і никотинамідаденіндинуклеотидфосфат (НАДФ⁺);
- 2) коферменти флавінової природи - флавінаденінмононуклеотид - ФМН, флавінаденіндинуклеотид - ФАД;
- 3) убіхінон Q і цитохромні системи (b, c, a), представлені комплексом гемінових ферментів, відкритих Кейлінім;
- 4) цитохромоксидази.

Всі чотири групи коферментів сприяють переносу протонів і електронів від органічних речовин, що окислюються, на кисень, що видно зі схеми, наведеної нижче.

Як видно із представленої схеми, процес тканинного дихання протікає східчасто. Сполучною ланкою в ланцюзі переносу протонів і електронів є кофермент Q, що передає на систему цитохромів тільки електрони, а іони водню - протони надходять у середовище й впливають із відновленим киснем, утворюючи воду. Ця вода називається ендогенною. Цитохроми Кейліна, по визначенню самого автора, є переносниками електронів від молекул «палива» до молекулярного кисню. Кейлін розділив цитохроми на три класи: a, b, c залежно від смуг у спектрі

поглинання. Відокремити цитохроми від мембран мітохондрій дуже важко, тому що вони міцно пов'язані з нею.



У процесі біологічного окислювання - переносу протонів і електронів на кисень звільняється енергія, що акумулюється в пірофосфатних зв'язках АТФ. При перекиданні двох протонів і двох електронів від субстрату (органічних речовин) на кінцевий акцептор - кисень утвориться три молекули АТФ.

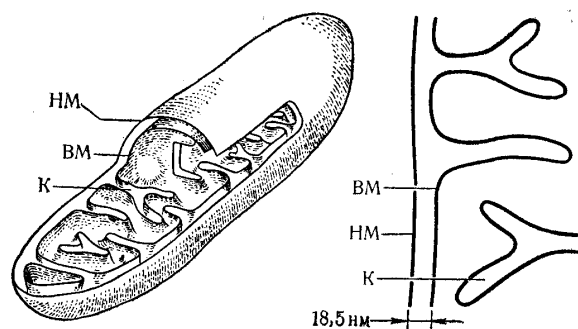
- Перша молекула АТФ утворюється між НАДН⁺ і ФП₁.
- Друга молекула АТФ виникає в ланці між цитохромом b і цитохромом c і
- третя молекула АТФ синтезується в ланці між цитохромоксидазою (цитохром a₃) і киснем.

2. Мітохондрії і їхня роль у процесах окисного фосфорилування

Мітохондрії - це особливі органели клітини, внутрішньоклітинні центри аеробного дихання, «енергетичні станції» клітини. За допомогою електронної мікроскопії було встановлено, що мітохондрії містяться в протоплазмі всіх аеробних еукаріотичних клітин, число їх у різних клітинах різне. Так, у клітинах печінкової тканини міститься до 1000 мітохондрій, а в ниркових каналцях - 300. Кількість їх змінюється залежно від функціонального стану. У клітинах печінки мітохондрії можуть вільно переміщатися, у той час як у клітинах м'язової тканини вони фіксовані й розташовані уздовж м'язових фібрил. Розміри й форма мітохондрій сильно варіюють залежно від типу клітини. У клітинах печінки вони мають форму м'яча, у клітинах нірок - циліндричну, у дріжджах - кулясту форму.

Аналіз одноклітинних організмів показує, що мітохондрії можуть мати гігантські розміри, майже рівні самій клітині, неправильну розгалужену форму.

Мітохондрії містять дві мембрани - зовнішню й внутрішню. Зовнішня мембрана гладка, не має складок на відміну від внутрішньої, утворюючи велика кількість складок, або *крист*, наслідком чого є збільшена площа внутрішньої



поверхні мембрани, на якій розташовуються «ансамблі» ферменти, що беруть участь у циклі Кребса й у процесі транспорту електронів.

Внутрішній простір мітохондрій заповнений так званим матриксом - студеноподібною напіврідкою масою, що складається на 50 % з білка. Зовнішня й внутрішня мембрани мітохондрій мають різну структуру, вони володіють і різною проникністю. У мітохондріях у зовнішній і внутрішній мембрані містяться різні ферменти.

➤ На зовнішній мембрані містяться наступні ферменти: моноамінооксидаза, тіокинази жирних кислот, редуктаза цитохрому С. Моноамінооксидаза може служити маркерним ферментом для виявлення зовнішньої мембрани мітохондрій.

➤ У просторі між мембранами містяться аденілатциклаза й нуклеозиддифосфокіназа.

➤ На внутрішній мембрані розташовані ферменти дихального ланцюга, синтезу АТФ, дегідрогенази α -кетокислот, сукцинатдегідрогеназа, β -оксибутиратдегідрогеназа. Маркерним ферментом для ідентифікації внутрішньої мембрани мітохондрій служить цитохромоксидаза.

➤ Матрикс містить ферменти циклу Кребса (цитратсинтазу, ізоцитратдегідрогеназу, фумаразу, малатдегідрогеназу, аконітазу) і ферменти, що беруть участь в окисненні жирних кислот. Визначення малат- і глутаматдегідрогенази використовують для ідентифікації матриксу мітохондрій.

Ферменти мітохондрій розташовані у вигляді дихальних ансамблів, при цьому в кожній мітохондрії печінки втримується близько 5000 ансамблів, а в мітохондрії серця - близько 20000.

Зовнішня мембрана мітохондрій добре проникна для більшості низькомолекулярних сполук, внутрішня мембрана проникна тільки для води й невеликих нейтральних молекул, таких, як сечовина, гліцерин і жирних кислот з коротким ланцюгом. Внутрішня мембрана непроникна для катіонів натрію, калію, аніонів хлору, броду, аніона азотної кислоти, для цукрів, більшості амінокислот. Вона непроникна й для НАД⁺ і НАДФ⁺, НАДН і НАДФН, для нуклеозид-5-моно-, ди-, трифосфатів, а також для КоА і його ефірів. Завдяки цьому усередині мітохондрій є свій «пул» коферментів і нуклеозидів, що відділений від цитоплазматичного позамітохондріального «пулу».

У мітохондріях є переносники АТФ, АДФ, Н₃РО₄, зокрема переносник молекул АДФ усередину мітохондрій і вихід молекул АТФ із них. Є переносники, які можуть переносити сукцинат і малат, але не можуть переносити фумарат і щавлевооцтову кислоту. Така система всередині мітохондрій сприяє тому, що молекули органічних речовин, так зване молекулярне паливо, молекули АДФ і фосфату, перш ніж піддатися окислюванню, повинні проникати усередину мітохондрій. Реакції циклу Кребса, так само як і процеси переносу електронів і окисного фосфорилування, відбуваються на внутрішній поверхні внутрішньої мембрани мітохондрій. Між мітохондрією й цитоплазмою відбувається складний процес - двосторонній обмін проміжними продуктами циклу Кребса й фосфатом. Така роздільна локалізація відіграє важливу роль в обмінних процесах у клітині.

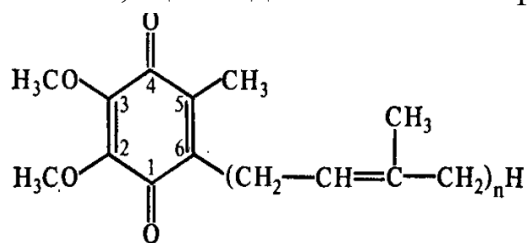
3. Окисне фосфорилування й дихальний ланцюг мітохондрій

Дихальний ланцюг. У циклі трикарбонних кислот від субстратів відчіпляються протони й електрони. Вони надходять на коферменти НАД⁺ і ФАД⁺, які передають їх у дихальний ланцюг, утворений окислювально-відновними ферментами, що перебувають у внутрішній мембрані мітохондрій. Пересуваючись від одного переносника електронів до іншого, електрони опускаються на усе більше низькі енергетичні рівні, віддаючи порціями свою енергію. В останній ланці ланцюга вони відновлюють молекулярний кисень. Звільнена при переносі електронів по дихальному ланцюзі енергія запасується у фосфатних зв'язках АТФ.

Синтез АТФ із АДФ і фосфорної кислоти, що відбувається з використанням енергії, що звільняється при окисленні речовин у живих клітинах, і сполучений з переносом електронів по дихальній ланцюг, називається окисним фосфорилуванням. Він було відкритий на початку 30-х років ХХ століття академіком Енгельгардтом.

Дихальний ланцюг нерідко називають редокс-ланцюгом, що в перекладі означає окислювально-відновний ланцюг, оскільки в ньому багаторазово протікають процеси окиснення - відновлення. Його називають також ланцюгом переносу електронів або електронотранспортним ланцюгом.

До складу дихального ланцюга входить небілковий переносник електронів - убіхінон, що іноді називають коферментом Q (скорочено КоQ). Він являє собою

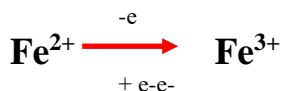


Убіхінон

похідне бензохінону з ізопреноїдним бічним ланцюгом, що у різних видів організмів містить від 6 до 10 п'ятиуглецевих ізопренових залишків. У більшості тканин ссавців функціонує убіхінон Q₁₀ (10 - число ізопренових залишків у бічному ланцюзі), у дріжджових грибів - Q₆.

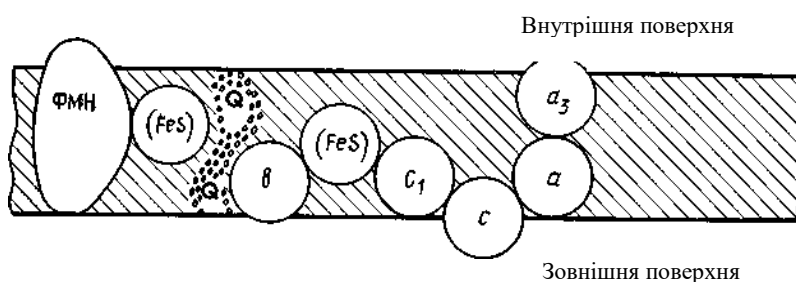
Електрони й протони відщеплюються від субстратів у реакціях циклу Кребса переважно піридинзалежними дегідрогеназами з утворенням НАДН. Останній окисляється флавінзалежним ферментом - НАДН-дегідрогеназою. Вона віддає електрони й протони убіхінону, що передає їхній системі цитохромів.

Від відновленого убіхінону електрони надходять на цитохромну систему. Цитохроми - група залізовмісних білків. Вони присутні у всіх аеробних клітинах. До складу цитохромів входять залізопорфіринові простетичні групи, подібні до тих, що знаходяться в гемоглобіні й міоглобіні. У ході переносу електронів зворотно змінюється валентність заліза цитохромів:



З киснем реагує лише останній цитохром дихального ланцюга — цитохром с-оксидаза (цитохром aa_3). Це єдиний цитохром, що володіє каталітичними, тобто ферментативними, властивостями, інші цитохроми не є ферментами. Молекула цієї оксидази містить два атоми Cu й дві групи гема типу a : a і a_3 .

Цитохромоксидаза локалізована у внутрішній мембрані мітохондрій, з якої відносно міцно зв'язана, утворюючи асиметричний місток між двома сторонами мембрани. Припускають, що гем a_3 перебуває на внутрішній стороні, а гем a , що першим взаємодіє із цитохромом c , — на зовнішній стороні внутрішньої мембрани мітохондрій.



Вирішальне значення у встановленні послідовності переносу електронів між компонентами дихального ланцюга мало застосування ряду специфічних інгібіторів (дивися мал.). Так, ротенон (інсектицид) інгібує НАДН-дегідрогеназу між $НАДН_2$ і ФМН, і при його впливі всі компоненти дихального ланцюга переходять в окислений стан. Амітал (барбітурат натрію) перешкоджає відновленню убіхінону. Антибіотик антиміцин А блокує окиснення цитохромів b , а ціаніди, азид і H_2S зв'язуються із цитохромоксидазою.

Коли електрони пересуваються по дихальному ланцюзі, на певних ділянках вони втрачають свою енергію в порівняно великій кількості, цілком достатньому для утворення АТФ. Це ділянки сполучення окиснення й фосфорилування, а яких функціонують білки, носять назву сполучених факторів.

Ділянки сполучення в дихальному ланцюзі. У дихальному ланцюзі втримується три ділянки, у яких перенос електронів супроводжується більшою зміною різниці потенціалів (вільної енергії). Зменшення вільної енергії в кожній із цих ділянок досить велике для того, щоб забезпечити утворення АТФ із АДФ і Φ_n . Саме в цих ділянках дихального ланцюга здійснюється запас енергії у фосфатних зв'язках АТФ. У результаті Б. Чанс установив ділянки сполучення в дихальному ланцюзі: вони відповідають ділянкам, де перенос електронів супроводжується більшою зміною різниці потенціалів:

- перший - між НАДН і ΦP_1 ,
- другий - між цитохромом b і цитохромом c ,
- третій - на ділянці цитохромоксидази.

Таким чином, дихальний ланцюг розділяє енергію, що виділяється при переносі електронів, на окремі «порції».

Можливий механізм окисного фосфорилування

Остаточної відповіді на питання про механізм сполучення найважливіших біоенергетичних процесів у мітохондріях - дихання й фосфорилування - у цей час поки остаточно не має. Висунуті й обговорюються три гіпотези: хімічна, конформаційна й хеміосмотична.

Хімічна гіпотеза — найбільш рання гіпотеза окисного фосфорилування. Сутність її складається в припущенні, що енергія, яка виділяється при переносі електронів по дихальному ланцюзі, спочатку використовується для утворення насичених енергією гіпотетичних сполук, а потім передається для синтезу АТФ із АДФ і неорганічного фосфату.

Однак, незважаючи на численні спроби, поки не вдалося виділити, а, отже, і охарактеризувати ці невідомі посередники.

Конформаційна гіпотеза окисного фосфорилування Бойера заснована на припущенні, що взаємозв'язок окислювання й фосфорилування обумовлений за допомогою конформаційних змін ферментів сполучення. Вона розглядає роботу мітохондрій за аналогією з роботою м'язів.

Висловлюються міркування, що енергія окислювання витрачається на створення напруженої конформації ферменту («скорочення» ферменту). Наступне повернення у вихідну конформацію («розслаблення») супроводжується використанням накопиченої енергії для синтезу високоенергетичної сполуки, утвореного в результаті реакції між сульфгідрильною й карбоксильною групами ферментного білка. Потім відбувається перенос енергії на АДФ. Однак варто помітити, що прямих доказів справедливості даної гіпотези теж ні, тому що не можна вважати переконливими посилення на спостереження, що стосуються конформаційних змін дихальних ферментів при переносі електронів. Такі зміни супроводжують «роботі» дуже багатьох ферментів і тому не можуть бути віднесені до специфічних властивостей ферментів сполучення.

Хеміосмотична гіпотеза, запропонована в 1961 р. Мітчеллом, набуває в останні роки все більше прихильників. Суть цієї гіпотези складається в припущенні, що дихання і фосфорилування зв'язані між собою через електрохімічний потенціал іонів водню на мітохондріальній мембрані. Ця теорія передбачає перехід хімічної енергії, що звільняється в процесі переносу електронів, в електричну енергію мембранного потенціалу, а потім перетворення останньої в хімічну енергію зв'язків АТФ.

Мітохондріальна мембрана непроникна для іонів H^+ і OH^- . У процесі переносу електронів вздовж дихального ланцюга на зовнішній поверхні мембрани створюється градієнт концентрації іонів водню. Відповідно до теорії Мітчелла на

кожну пару електронів, які пересуваються уздовж дихального ланцюга від НАДН₂ до кисню, доводяться три пари іонів Н⁺, що витягуються із внутрішнього матриксу й переданих за допомогою компонентів дихального ланцюга в зовнішнє середовище, що приводить до синтезу однієї молекули АТФ. При цьому зовнішня поверхня мембрани здобуває позитивний заряд, а внутрішня - негативний (високий вміст іонів ОН⁻).

Нагромадження іонів Н⁺ і ОН⁻ на протилежних сторонах мембрани може викликати зворотну реакцію ферменту АТФ-синтетази (АДФ + Ф_н $\xrightarrow{\text{H}^+}$ АТФ + Н₂О), локалізованого у внутрішній мембрані мітохондрій. Ця реакція може протікати з високою швидкістю тільки за умови, якщо вода, що утвориться, буде швидко й повністю віддалятися. Прихильники хеміосмотичної гіпотези вважають, що молекула води відділяється від АДФ і Ф_н у вигляді іонів Н⁺ і ОН⁻.

Таким чином, можна припускати, що тканинне дихання заряджає мітохондріальну мембрану, а окисне фосфорилування розряджає її, використовуючи енергію мембранного потенціалу для синтезу АТФ. У цілому гіпотеза Мітчелла, очевидно, є найбільш обґрунтованою.

4. Вільне окислювання й мікросомальне окислювання

Вільне окислювання. Крім дихання, пов'язаного з фосфорилуванням, що протікає в мітохондріях, існує дихання, не пов'язане з нагромадженням макроергів. Це так зване вільне, або нефосфориліруюче окислювання. Такий вид біологічного окислювання також пов'язаний з мітохондріями, але вивільнювана при цьому енергія розсіюється у вигляді тепла. Вільне окислювання відбувається на мембранах ендоплазматичної мережі, у пероксисомах, а також і в самих мітохондріях. Відповідно до гіпотези Скулачева при вільному окислюванні в зовнішній мембрані мітохондрій діє вкорочений ланцюг переносу електронів, не утримуючих ділянок сполучення:



Це обумовлено роз'єднанням процесу споживання кисню й фосфорилування АДФ. До природних роз'єднувачів відноситься гормон тироксин, коли вміст його в крові різко зростає (підвищена функція щитовидної залози). Штучним роз'єднувачем є 4-динітрофенол. І той і інший перешкоджають проникненню через мембрани мітохондрій фосфатів, катіонів кальцію й магнію, що грають важливу роль. Надлишкове утворення тироксину сприяє набряканню мітохондрій і роз'єднує «ансамблі» ферментів циклу Кребса, що поставляє відновлені форми коферментів НАДН і ФАД-Н₂, і «ансамблі» ферментів тканинного дихання, що перетворюють водні субстратів, що окислюються, у кінцевий продукт воду, з одночасним утворенням АТФ.

Мікросомальне окислювання

Вільне окислювання виявлене також і в мікросомах. Мікросомальне окислювання здійснюється ферментними системами, локалізованими переважно в мікросомній фракції таких органів, як печінка й наднирники. На відміну від мітохондріального окислювання, де провідну роль, як було показано вище, грають реакції дегідрування, а кисень є кінцевим акцептором електронів і використовується лише для утворення води, у процесах мікросомального окислювання активованій кисень безпосередньо впроваджується в речовину, що окислюється.

При цьому функціональна роль мітохондріального й мікросомального окислювання в клітині різна. Мітохондріальне окислювання - механізм використання кисню в біоенергетичних процесах. Мікросомальне ж окислювання - механізм використання кисню з «пластичними» цілями.

У мікросомах утримуються активні *оксигенази* - ферменти, що безпосередньо приєднують кисень до різних субстратів. Розрізняють дві групи цих ферментів. *Диоксигенази* каталізують приєднання обох атомів молекулярного кисню до окислюється субстрату, що: $A + O_2 \xrightarrow{\text{фермент}} AO_2$. У якості простетичної групи містять гем або негемове залізо. *Монооксигенази (гідроксилази)* приєднують тільки один атом O с утворенням OH-групи субстрату, інший атом відновлюється при цьому до води за участю НАДН або НАДФН:



Варто помітити, що флавопротеїди й цитохроми, які функціонують у мікросомального ланцюга окислювання, різко відрізняються від ферментів мітохондріального дихального ланцюга.

Велике значення мікросомального окислювання в метаболізмі лікарських засобів і ряду токсичних сполук, що попадають в організм людини й тварин із зовнішнього середовища, - ксенобіотиків (від греч. *ксенос* - далекий): ядохімікати, лікарські речовини, косметичні препарати. Таким чином, мікросомальне окислювання - основна детоксикуюча система в організмі тварин і людини.

Крім детоксикуючої функції оксигенази в людини й тварин відіграють певну роль у деяких реакціях біосинтезу (стероїдних гормонів, жовчних кислот, простагландинів) і інших метаболічних процесах (наприклад, перетворення циклічних амінокислот).

5. Регуляція енергетичного обміну

Яскравим прикладом регуляції й саморегуляції енергетичного обміну в організмі є прискорення генерування АТФ у працюючому м'язі. У стані спокою м'яза, як і в інших тканинах, АТФ витрачається на підтримку сталості внутрішнього середовища й безупинно протікають анаболічні процеси. Однак при виконанні

механічної роботи потреба м'яза в енергії у формі АТФ може майже миттєво зростати в 20-200 разів. При кожному циклі взаємодії актину з головкою міозину розщеплюється **1 молекула АТФ**. Отже, чим більше містків переходять в активний стан, тим більше розщеплюється АТФ, тим сильніше скорочення. У той же час кількість АТФ, що втримується в м'язовій тканині, незначна, не більш ніж потрібно для 0,5 с інтенсивної роботи і запаси АТФ в клітині обмежені. Тому для поповнення запасів АТФ відбувається його відновлення - ресинтез.

Він здійснюється анаеробним і аеробним шляхом. **Процес анаеробного ресинтезу здійснюється фосфагенною і гліколітичною системами.** Перша використовує для відновлення АТФ запаси креатинфосфату. Він розщеплюється на креатин і фосфат, який за допомогою ферментів переноситься на АДФ ($\text{АДФ} + \text{Ф} = \text{АТФ}$). Фосфагенна система ресинтезу забезпечує найбільшу потужність скорочення, але в зв'язку з малою кількістю креатинфосфату в клітині, вона функціонує лише 5-6 секунд скорочення.

Великий внесок в енергетику м'яза вносить креатинфосфат, його в 3-8 разів більше, ніж АТФ; але запаси креатинфосфату також невеликі, його витрата повинен відшкодовуватися синтезом АТФ у процесах гліколізу й окисного фосфорилування.

У період роботи м'яза окисне фосфорилування підсилюється, однак гранично можливе поглинання кисню набагато менше, ніж це потрібно для одержання достатньої кількості енергії. Тому раптове зростання потреби в АТФ задовольняється в основному за рахунок гліколізу, швидкість якого збільшується в сотні разів. **Гліколітична система використовує для ресинтезу АТФ** анаеробне розщеплення глюкози (глікогену) до молочної кислоти. Кожна молекула глюкози забезпечує відновлення двох молекул АТФ. Енергетичні можливості цієї системи вище, ніж фосфагенної, але і вона може служити джерелом енергії скорочення лише 0,5-2 хв. При цьому робота гліколітичної системи супроводжується накопиченням в м'язах молочної кислоти і зниженням вмісту кисню.

При цьому використовується запас м'язового глікогену, а також глюкоза, що надходить із крові. Молочна кислота, що утвориться при скороченні м'яза, дифундує в кров і ресинтезується в печінці в глюкозу й глікоген. АДФ і Ф, що звільняються при скороченні м'язи, використовуються в окисному фосфорилуванні й у реакціях гліколізу, що генерують енергію, підвищуючи швидкість цих процесів.

При тривалій роботі, з посиленням кровообігу, ресинтез АТФ **починає здійснюватися за допомогою окисного фосфорилування, тобто аеробним шляхом.**

Енергетичні можливості окисної системи значно більше за інших. Процес відбувається за рахунок окислення вуглеводів і жирів. При інтенсивній роботі в

основному окислюються вуглеводи, при помірній - жири. Для розслаблення також потрібна енергія АТФ. Після смерті вміст АТФ в клітинах швидко знижується і коли стає нижче критичного, поперечні містки міозину не можуть від'єднатися від актинових ниток (до ферментативного аутолізу цих білків). Виникає трупне задубіння. АТФ необхідна для розслаблення тому що забезпечує роботу Са-насоса.

Інший приклад регуляції енергетичного обміну - ефект Пастера. Відомо, що в анаеробних умовах дріжджі витягують енергію з молекул глюкози за допомогою бродіння. Л. Пастер відкрив, що в присутності кисню повітря клітини дріжджів споживають менше глюкози на одиницю маси, чим в анаеробних умовах, при цьому зменшується нагромадження молочної кислоти. Гальмування гліколізу в присутності кисню аеробним диханням одержало назву ефекту Пастера. Він характерний для факультативно анаеробних клітин, включаючи клітини вищих організмів.

Лабораторна робота № 9

БІОЛОГІЧНЕ ОКИСНЕННЯ. ОКСИДОРЕДУКТАЗИ

Мета: закріпити знання про систему ферментів, які каталізують реакції, пов'язані з обміном енергії; механізми тканинного дихання і пов'язаного з ним забезпечення тканин енергією.

Завдання: вивчити ферменти дихального ланцюга; засвоїти методи якісного виявлення оксидоредуктаз у біологічних об'єктах.

Питання для самопідготовки:

1. Поняття про процеси біологічного окиснення.
2. Оксидоредуктази: визначення поняття, хімічна структура.
3. Коферменти дегідрогеназ (НАД, НАДФ, ФМН, ФАД), будова, механізм участі в реакціях окиснення. Написати структурні формули окиснених (НАД, ФАД) і відновлених (НАДН⁺ і ФАДН₂) коферментів.
4. Простетичні групи цитохромів, різновиди цитохромів.
5. Дихальний ланцюг або ланцюг перенесення електронів – визначення, склад, призначення. В яких морфологічних структурах локалізований дихальний ланцюг?
6. Чому в дихальному ланцюзі відбувається послідовна передача електронів від однієї ланки до іншої?
7. Що таке спряження окиснення і фосфорилювання? Які речовини при цьому утворюються?
9. Які фактори викликають роз'єднання окиснення і фосфорилювання?

1. Виявлення сукцинатдегідрогенази м'язів

Принцип методу. Сукцинатдегідрогеназа окислює янтарну кислоту і в анаеробних умовах передає протон Гідрогену на метиленову синь, яку відновлює в безбарвну форму. Якщо відсутня сукцинатдегідрогеназа, то знебарвлення метиленової сині не відбувається.

Хід роботи.

1. Попередньо подрібнений ножицями м'яз (2-3 г) розтирають у ступці зі скляним піском до однорідної маси при поступовому додаванні розчину янтарної кислоти (1:50).

2. У дві пробірки наливають по 3-4 мл одержаного гомогенату.

3. У 1-у пробірку (контроль) додають 2 мл трихлороцтової кислоти (денатурує та інактивує фермент), у 2-у – таку ж кількість води.

4. В обидві пробірки додають 0,5-1,0 мл метиленової сині, перемішують і додають по 2-3 краплі олії (для ізоляції від Оксигену повітря).

5. Інкують у водяній бані при 45 °С протягом 10 хвилин.

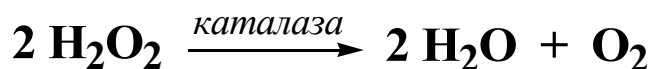
6. По закінченні інкубації враховують результат реакції, порівнюючи дослідну пробу з контрольною. Після цього енергійно струшують вміст 2-ї пробірки.

Що при цьому спостерігається? Чому?

Спостереження та висновки:

2. Якісна реакція на каталазу крові

Принцип методу. Каталаза розкладає перекис водню, про що можна судити по бурхливому виділенню молекулярного кисню при змішуванні перекису водню з рідиною (кров'ю), що містить каталазу.



Хід роботи.

1. У 2 пробірки налити по 1-2 мл води і по 2-3 краплі крові.

2. У 1-у пробірку (контроль) додати 1-2 мл трихлороцтової кислоти для інактивації ферменту.

3. В обидві пробірки додати по 3-5 крапель перекису водню.

Дати пояснення явищам, які спостерігаються.

Спостереження та висновки:

ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ З РОЗДІЛУ «БІОЛОГІЧНЕ ОКИСЛЮВАННЯ»

1. Енергетичним матеріалом в організмі є:

- А. Фосфоліпіди;
- Б. Воски;
- В. Стерин;
- Г. Триацилгліцерини;
- Д. Гліколіпіди.

2. Призначення дихального ланцюга у мітохондріях:

- А. Перетворення речовин і енергії;
- Б. Окиснення речовин до CO_2 і H_2O .
- В. Забезпечення клітин НАД^+ і ФАД;
- Г. Перенесення атомів водню із НАДН_2 на кисень з утворенням АТФ і H_2O ;
- Д. Перенесення електронів на цитохроми.

3. У склад дихального ланцюга входять всі нижчеперелічені речовини, за винятком:

- А. НАД, ФМН;
- Б. Залізо-сірчані білки;
- В. Убіхінон;
- Г. Піруват;
- Д. Цитохроми.

4. Ферменти тканинного дихання розміщені в:

- А Цитоплазмі;
- Б. Лізосомах;
- В. Пероксисомах;
- Г. Матриксі і внутрішній мембрані мітохондрій;
- Д. Ядрі.

5. Субстратами тканинного дихання є всі перелічені речовини, крім однієї:

- А Ізоцитрат;
- Б. Малат;
- В. α -Кетоглутарат;
- Г. Сукцинат;
- Д. Лактат.

6. Найбільш енергетичним субстратом дихального ланцюга є:

- А. CoQH_2 ;
- Б. НАДН_2 ;
- В. Сукцинат;
- Г. ФАДН_2 ;
- Д. Аскорбат.

7. Порушення постачання кисню в кризових ситуаціях організму спричиняє

енергопостачання за рахунок:

- А Глюконеогенезу;
- Б. Окиснення жирних кислот;
- В. Кетолізу;
- Г. Пентозофосфатного циклу;
- Д. Гліколізу.

8. АТФ-синтетаза утворює АТФ під час окисного фосфорилування. Вона розміщена в:

- А. Цитозолі клітини;
- Б. Пероксисомах;
- В. Зовнішній мембрані мітохондрій;
- Г. Мікросомах;
- Д. Матриксі мітохондрій.

9. Головний дихальний ланцюг включає такі компоненти: НАДН₂ → ФМН-

КоQ → цит. (b-c₁c-aa₃) → O₂. Послідовність їх розташування зумовлена:

- А. Розчинністю в ліпідах мембран мітохондрій;
- Б. Подібністю в структурі сусідніх переносників e;
- В. Вибірковою здатністю акцептувати і передавати e;
- Г. Зростанням величини окисдно-відновного потенціалу між сусідніми переносниками електронів;
- Д. Прагненням окисдно-відновних пар перенесення електронів до розсіювання вільної енергії.

10. Вилучення енергії від субстратів тканинного дихання в дихальному ланцюзі відбувається за рахунок:

- А. Розкладу субстратів до CO₂ і H₂O;
- Б. Зростання окисдно-відновного потенціалу компонентів дихального ланцюга;
- В. Перенесення електронів e по дихальному ланцюзі;
- Г. Перетворення енергії відщеплених електронів у протонний потенціал внутрішньої мембрани мітохондрій;
- Д. Відновлення кисню до води.

11. Де відбувається утворення АТФ під час окисного фосфорилування?

- А. В мітохондріях;
- Б. В цитозолі;
- В. В дихальному ланцюзі;
- Г. На цитохромах;
- Д. На АТФ-синтетазі, що знаходиться в матриксі і пронизує внутрішню мембрану.

- 12. В якому місці дихального ланцюга призупиняється транспорт електронів під впливом антимицину?**
- А. Між НАДН₂ і ФМН;
 - Б. Між КоQН₂ і цитохромом b;
 - В. Між цитохромом b і c;
 - Г. Між цитохромом аа₃ і O₂;
 - Д. ФАДН₂ і КоQ.
- 13. В якому місці дихального ланцюга призупиняється транспорт електронів під впливом цианіду?**
- А. Між НАДН₂ і ФМН;
 - Б. Між КоQН₂ і цитохромом b;
 - В. Між цитохромом b і c;
 - Г. Між цитохромом аа₃ і O₂;
 - Д. ФАДН₂ і КоQ.
- 14. В якому місці дихального ланцюга призупиняється транспорт електронів під впливом ротенону?**
- А. Між НАДН₂ і ФМН;
 - Б. Між КоQН₂ і цитохромом b;
 - В. Між цитохромом b і c.;
 - Г. Між цитохромом аа₃ і O₂;
 - Д. ФАДН₂ і КоQ.
- 15. Макроергічними зв'язками називаються:**
- А. Хімічні зв'язки, на утворення яких потрібно багато енергії;
 - Б. Хімічні зв'язки, при розриві яких виділяється 40 кДж енергії;
 - В. Зв'язки, при гідролізі яких виділяється 15 кДж енергії;
 - Г. Зв'язки, що утворені вугільною кислотою.
- 16. Енергія макроергічних зв'язків використовується для всіх процесів, крім:**
- А Біосинтезу речовин;
 - Б. Механічної роботи;
 - В. Активного транспорту іонів;
 - Г. Транспорту сечовини, гліцерину;
 - Д. Генерації нервового імпульсу.
- 17. Вкажіть найбільш швидкий механізм утворення АТФ, необхідний для термінового включення процесу м'язевого скорочення.**
- А. Генерація АТФ із креатинфосфату
 - Б. Аеробний гліколіз;
 - В. Гліколіз;

- Г. Глікогеноліз у м'язах;
- Д. Окиснення тригліцеридів.

18. Дослідженнями останніх десятиліть встановлено, що безпосередніми “виконавцями” апоптозу в клітині є особливі ферменти - каспази. В утворенні одного з них бере участь цитохром с. Вкажіть його функцію в нормальній клітині.

- А. Фермент ЦТК;
- Б. Компонент піруватдегідрогеназної системи;
- В. Компонент H^+ АТФ-азної системи;
- Г. Фермент β -окислення жирних кислот;
- Д. Фермент дихального ланцюга переносу електронів.

19. При патологічних процесах, які супроводжуються гіпоксією, відбувається неповне відновлення молекули кисню в дихальному ланцюзі і накопичення пероксиду водню. Вкажіть фермент, який забезпечує руйнування цієї сполуки.

- А. Цитохромоксидаза;
- Б. Аконітаза;
- В. Кетоглутаратдегідрогеназа;
- Г. Сукцинатдегідрогеназа;
- Д. Каталаза.

20. Синильна кислота та цианіди належать до найсильніших отрут. Залежно від дози смерть настає через декілька секунд чи хвилин. Пригнічення активності якого ферменту є причиною смерті?

- А. Цитохромоксидаза;
- Б. Ацетилхолінестераза;
- В. АТФ-синтетаза;
- Г. Каталаза;
- Д. Метгемоглобінредуктаза.

21. Для нормального метаболізму клітинам необхідні макроергічні сполуки. Які з нижче перерахованих сполук належить до них?

- А. Глюкозо-6-фосфат;
- Б. Аденозинмонофосфат;
- В. Креатинфосфат;
- Г. Креатин;
- Д. Креатинін.

22. Як називається процес синтезу АТФ, що відбувається у мітохондріях, спряжений з реакціями окиснення за участю системи дихальних ферментів?

- А. Вільним окисненням;
- Б. Окиснювальним фосфорилуванням;
- В. Перекисним окисненням;

- Г. Субстратним фосфорилуванням;
- Д. Фотосинтетичним фосфорилуванням.

23. Остаточним акцептором електронів та протонів в дихальному ланцюгу є:

- А. НАД;
- Б. ФМН;
- В. Цитохроми;
- Г. Цитохромоксидаза;
- Д. Кисень.

24. Послідовність розташування компонентів дихального ланцюга визначається:

- А. Подібністю будови;
- Б. Розчинністю в ліпідах;
- В. Спорідненістю до кисню;
- Г. Редокс-потенціалом;
- Д. Здатністю розсіювати енергію.

25. Під час руху 2 атомів водню по повному дихальному ланцюгу утворюється молекул АТФ в кількості:

- А. 1
- Б. 2
- В. 3
- Г. 4
- Д. 5

26. Під час окиснення 1 молекули ФАДН₂ синтезується молекул АТФ в кількості:

- А. 1
- Б. 2
- В. 3
- Г. 4
- Д. 5

27. В мітохондріальному ланцюгу транспорту електронів не бере участі:

- А. Цитохром а;
- Б. КоQ
- В. ФМН
- Г. КоА
- Д. FeS-комплекс.

28. Інгібіторами електронного транспорту в дихальному ланцюгу є речовини, крім:

- А. Сульфаніламід;
- Б. Ціаніди;

- В. Барбітурати;
- Г. Чадний газ;
- Д. Антиміцин А.

29. У повному дихальному ланцюгу існують пункти спряження тканинного дихання та окисного фосфорилювання в кількості:

- А. 1
- Б. 2
- В. 3
- Г. 4
- Д. 5

30. Макроергічними сполуками є:

- А. АМФ, креатин;
- Б. Лактат, ГМФ;
- В. Фосфоенолпіруват, ацетил- КоА;
- Г. Ацетат, цитрат;
- Д. ц-АМФ, малат.

31. Відомо, що деякі хімічні сполуки роз'єднують тканинне дихання та окисне фосфорилювання. Назвіть цю сполуку.

- А. СО
- Б. 2,4-динітрофенол;
- В. Антиміцин А;
- Г. Молочна кислота;
- Д. Ацетил-КоА.

РОЗДІЛ 10

ОБМІН БІЛКІВ

ПЛАН

1. Значення білкового обміну. Перетравлення й шляхи розпаду білків.
2. Перетворення амінокислот у тканинах (дезамінування, переамінування, декарбоксилування).
3. Синтез сечовини (орнітинів цикл)

1. Значення білкового обміну. Перетравлення й шляхи розпаду білків

Білки є найважливішою складовою частиною їжі. Добова потреба в них дорослої людини дорівнює 100-120 г. У молодому віці потреба в білках на 1 кг маси тіла значно більше й становить 5-6 г, у той час як у дорослих - 1,5-2 г. У їжу ми вживаємо білки тваринного й рослинного походження, при цьому важливо дотримуватись певного співвідношення між ними. Не менш 60 % повинно доводитися на частку тваринних білків.

Показником повноцінності білкового харчування може служити азотистий баланс, тобто співвідношення між надходженням з їжею азоту й виділенням його з організму. Якщо азоту виділиться стільки, скільки було отримано, то говорять про стан динамічної рівноваги або білкову рівновагу, якщо ж виділилося менше, ніж надійшло в організм, говорять про позитивний баланс, якщо виділилося більше, чим прийнято з їжею, то говорять про негативний азотистий баланс.



Види азотистого балансу:

- 1) позитивний
- 2) негативний
- 3) нульовий (азотиста рівновага).

Амінокислоти (вільні та в складі білків) містять майже 95 % всього азоту, тому саме вони підтримують азотистий баланс організму.

Позитивний азотистий баланс: кількість засвоєного азоту більше, ніж кількість виділеного азоту, тобто процеси анаболізму переважають над процесами катаболізму.

Цей вид балансу спостерігається:

- у молодих організмів, що ростуть;
- у продуктивних тварин;
- в період вагітності;
- у відновлювальний період після важкої хвороби.

Негативний азотистий баланс: кількість виділеного азоту більше, ніж кількість засвоєного азоту, тобто процеси катаболізму в організмі переважають над процесами анаболізму. Це спостерігається:

- при важких захворюваннях;
- при старінні;
- в результаті голодування;
- при різних авітамінозах;
- при нестачі в раціоні незамінних амінокислот.

Азотиста рівновага (нульовий баланс): кількість засвоєного та виділеного азоту порівну. Це спостерігається у здорових непродуктивних тварин, які закінчили ріст і розвиток, при збалансованій годівлі.

Білкова недостатність

Відомо, що навіть тривале видалення з раціону людини жирів або вуглеводів не викликає важких розладів здоров'я. Але безбілкове годування (особливо тривале) призводить до порушення обміну і неминуче закінчується загибеллю організму. Відсутність навіть однієї незамінної амінокислоти в харчовому раціоні приводить до неповного засвоєння інших амінокислот і супроводжується розвитком негативного азотистого балансу, виснаженням, зупинкою росту і порушеннями функцій нервової системи.

Білкова рівновага зберігається й при надлишку білків у їжі. Вони не можуть, подібно вуглеводам або жирам, відкладатися в запас, тому починається посилений розпад білків, поки не встановиться рівновага. При цьому в організмі створюється надлишок шкідливих кислих продуктів розпаду білка, відбувається підкислення тканин (ацидоз).

При нестачі білків швидко порушується функціонування щитовидної залози, наднирників, статевих залоз. Особливо чутлива до білкового голодування центральна нервова система і в першу чергу кора головного мозку. Навіть при повному голодуванні людини мозок і серце довго не втрачають у масі, обновляючи свої білки за рахунок їхнього розпаду в м'язах та печінці.

Розрізняють білки їжі повноцінні й неповноцінні. Повноцінні білки містять всі 10 незамінних амінокислот, які тварини й людина на відміну від рослин і мікроорганізмів не здатні синтезувати.

До незамінних амінокислот відносяться лізин, аргінін, гістидин, валін, лейцин, ізолейцин, треонін, метіонін, фенілаланін, триптофан. Цей перелік вимагає деяких приміток. Аргінін може синтезуватися в організмі людини й інших тварин, але відбувається це в дуже невеликих кількостях. Оскільки тирозин утворюється безпосередньо з фенілаланіну в одну стадію, потреба у фенілаланіні є фактично потребою в цих обох амінокислотах, і тирозин можна теж віднести до незамінних амінокислот. За цією ж причиною цистеїн є замінною амінокислотою тільки в тому випадку, коли в їжі є метіонін. Гліцин є замінною амінокислотою для всіх тварин, але незамінний для курчат.

Кількість білку в деяких харчових продуктах

Назва продукту	Вміст білку, %
М'ясо	18-22
Риба	17-20
Сир	20-36
Молоко	3,5
Рис	8,0
Горох	26
Соя	35
Картопля	1,5-2,0
Капуста	1,1-1,6
Морква	0,8-1,0
Яблука	0,3-0,4

У неповноцінних білках відсутні одна або кілька незамінних амінокислот. До повноцінних білків відносять казеїн молока, альбумін яйця, молочний альбумін, глютенін пшениці, до неповноцінних - багато рослинних білків, вони зазвичай бідні лізином, метіоніном, триптофаном. Недоліком рослинних білків є також те, що в рослинних продуктах вміст білків порівняно невеликий, тому при вегетаріанському харчуванні (тільки рослинними продуктами) вживати їх потрібно дуже багато, щоб

покрити добову потребу організму в білках. Крім того, деякі рослинні білки погано перетравлюються.

Продукти, багаті на рослинний білок



Продукти, багаті на тваринний білок



Перетравлення білків.

Основним сенсом перетравлення білків є їх гідроліз до вільних амінокислот, в результаті чого вони втрачають свою видову специфічність та засвоюються організмом у вигляді простих речовин – амінокислот. Цим організм захищає себе від потрапляння до нього чужорідних білків.

Винятком з цього правила є всмоктування імуноглобулінів молозива (без попереднього їх гідролізу) стінкою кишечника новонароджених тварин, завдяки якому виникає молозивний (колостральний) імунітет, який забезпечує стійкість організму в перші місяці життя.

Перетравлення білків здійснюється комплексом травних ферментів, які називаються протеолітичними або протеазами.

Організм використовує не самі потрапляючі з їжею білки, а продукти їхнього розщеплення - амінокислоти й найпростіші пептиди. У найпростіших перетравлення відбувається в травних вакуолях, у людини й тварин - у кишечнику. Таким чином, власний вміст тваринних клітин виявляється недосяжним гідролітичним травним ферментам. Останні синтезуються й секретуються у вигляді неактивних проферментів - *зимогенів*.

Перетравлення білків починається у шлунку. У дорослої людини в шлунок надходять секрети з протоків від 10 до 30 млн. шлункових залоз. Секреція здійснюється залозами, утвореними клітинами трьох типів: головними, мукозними й обкладеними. *Головні* клітини виробляють і секретують **пепсиноген**, *мукозні - слиз*, обкладочні клітини секретують соляну кислоту й у людини *внутрішній фактор* - мукопротеїн, необхідний для нормального всмоктування з кишечника вітаміну В₁₂, який потрапляє з їжею.

Основний протеолітичний фермент шлункового соку - **пепсин**. Молекулярна маса його зимогенної форми - 40 000. Процес активації пепсиногену є аутокаталітичним і здійснюється під впливом самого пепсину й різко кислого середовища шлункового вмісту. Молекулярна маса пепсину - 32 700, тобто менше, ніж у пепсиногену. При активації від N-кінцевої частини пепсиногену відщеплюється 42 амінокислотних залишки у вигляді пептидів-інгібіторів. Пепсин гідролізує пептидні зв'язки, утворені аміногрупами циклічних амінокислот: фенілаланіну, триптофану й тирозину. Пептидні зв'язки, утворені дикарбоновими амінокислотами, гідролізуються пепсином дуже повільно. Оптимальною умовою дії пепсину є рН 2-3. Якщо секреція НСІ не забезпечує такої кислотності, перетравлення білків різко погіршується.

Роль НСІ у травленні

Під дією НСІ відбувається денатурація білків корму, які не підлягають термічній обробці, що підвищує доступність пептидних зв'язків для протеаз. НСІ має бактерицидну дію і запобігає потраплянню патогенних бактерій в кишечник. Окрім того, соляна кислота активує пепсиноген і створює оптимум рН для дії пепсину.

Їжа в шлунку перебуває обмежений час, тому тут процес перетравлення білків зупиняється на стадії утворення суміші поліпептидів.

Подальшому переварюванню білки піддаються в слаболужному середовищі тонкої кишки. Тут їхній гідроліз каталізують кілька ферментів: *трипсин*, *хімотрипсин*, *еластази*, *пептидази*. Трипсин і хімотрипсин діють ефективніше після пепсину, однак вони здатні розщеплювати білок і без його попереднього гідролізу пепсином. Завдяки цьому хворі після резекції шлунку зберігають здатність використовувати харчові білки.

Підшлункова залоза секретує *трипсиноген*, *хімотрипсиноген*, *прокарбоксіпептидази А і В*, *проеластазу*. У кишечнику секретується фермент ентерокиназа, що здійснює специфічну й швидку активацію трипсиногену в трипсин. Роль ентерокинази важко переоцінити, тому що трипсин, що утвориться, служить активатором всіх інших протеолітичних ензимів у відповідні активні форми. Трипсиноген утворений одиночним поліпептидним ланцюгом. У процесі активації при гідролізі в N-кінці одного пептидного зв'язку звільнюється

гексапептид; відбувається часткова зміна конформації молекули, з'являється ферментативна активність і утворюється трипсин.

Пепсин, трипсин і хімотрипсин доповнюють один одного за субстратною специфічністю. Спільна їхня дія призводить до глибокого гідролізу білків до невеликих пептидів.

Карбоксипептидаза А - фермент, що містить цинк, в основному відщеплює С-кінцеві амінокислотні залишки з ароматичними бічними ланцюгами. Вона виділяється у вигляді прокарбоксипептидази А і активується трипсином.

Карбоксипептидаза В також виділяється в неактивній формі. Будучи активованою, вона атакує С-кінцеві залишки, що містять тільки аргінін і лізин.

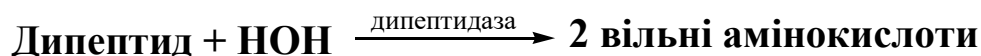
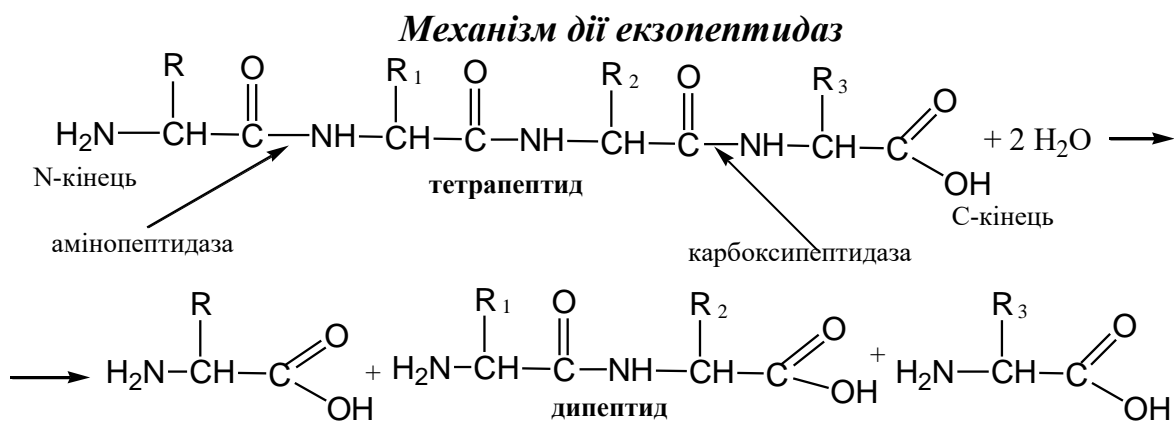
Останній етап перетравлення – гідроліз невеликих пептидів, відбувається під дією ферментів амінопептидаз і дипептидаз, які синтезуються клітинами тонкого кишечника в активній формі.

Слизова оболонка тонкого кишечника також містить протеолітичні ферменти. Вони можуть секретуватися в кишковий сік і діють переважно внутрішньоклітинно. До цього ферменту відноситься група амінопептидаз, по черзі звільняючи кінцеві амінокислоти, а також дипептидази.

Амінопептидази послідовно відщеплюють N-кінцеві амінокислоти пептидного ланцюгу. Найбільш відома лейцинамінопептидаза – Zn^{2+} - або Mn^{2+} -вмісний фермент, не дивлячись на назву, він має широкую специфічність по відношенню до N-кінцевих амінокислот.

Дипептидази розщеплюють дипептиди на амінокислоти, але не діють на трипептиди.

В результаті послідовної дії всіх травних протеаз більшість харчових білків розпадаються до вільних амінокислот.



Білок яйця та білки молока, звільнені від жиру, переварюються на 100%

М'ясо – 92-98 %

Рослинні білки – 65 %

Колагенові та еластинові волокна переварюються погано.

У результаті комбінованої дії протеолітичних ферментів, які виділяються стінкою шлунку, підшлункової й слизистої кишечника, білки, що надходять із їжею, піддаються в тонкому кишечнику майже повному гідролізу до амінокислот.

Проникнення через слизисту кишечника в кров нативних білків є виключенням.

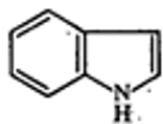
Всмоктування й розкладання амінокислот у кишечнику.

Всмоктування амінокислот відбувається в основному в тонкому кишечнику. Це активний процес, що вимагає енергії й залежить від вмісту Na^+ . Існує більше п'яти специфічних транспортних систем, кожна з яких переносить найбільш близькі за будовою амінокислоти. Амінокислоти конкурують один з одним.

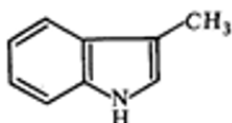
У ротовій порожнині й шлунку в нормі немає умов для розвитку гнільних бактерій. У кишечнику частина амінокислот до всмоктування використовується мікробами як джерело харчування. При надлишковому споживанні тваринних білків і ряді патологій у кишечнику можливий розвиток гнільних і бродильних процесів. При декарбоксілюванні амінокислот мікробами утворюються аміни, іноді отруйні (путресцин, кадаверин). При дезамінуванні виникають різні продукти: насичені й ненасичені кислоти, оксикислоти, кетокислоти.

Однією з основних умов декарбоксілювання амінокислот бактеріями є наявність кислого середовища (рН 3,5-5,5). У кишечнику ж при нормальному функціонуванні середовище слабо лужне. Однак у результаті інвазії деякими патогенними бактеріями виникають диспепсії (розладу травлення), при яких реакція середовища в кишечнику підкислюється до рН 3 - 5. У підкислених ділянках активно розвиваються процеси бродіння.

При бактеріальному руйнуванні цистеїну й метіоніну утворюється сірководень (H_2S), метилмеркаптан (CH_3SH) і інші сірковмісні сполуки. З тирозину шляхом поступового вкорочення його бічного ланцюга мікроорганізми можуть утворювати токсичні крезол і фенол. Ці речовини після всмоктування через зворотну вену потрапляють у печінку. Знешкодження їх відбувається при утворенні парних сполук із сірчаною або глюкуроновою кислотами. Такі парні сполуки нетоксичні й виділяються із сечею.



Індол



Скатол

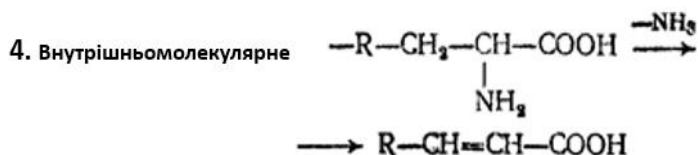
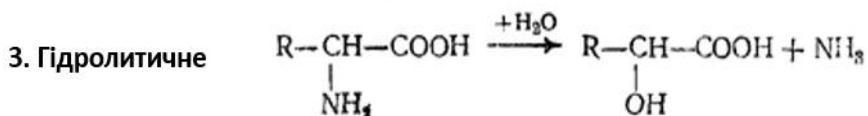
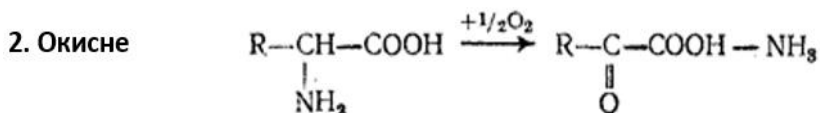
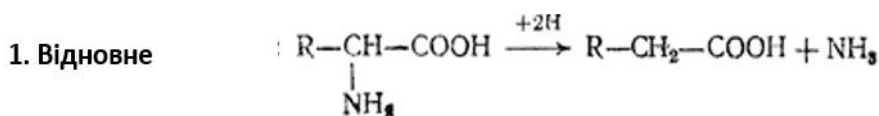
З амінокислоти триптофану при гнитті білків утворюється індол і скатол. Це - отруйні речовини, з якими пов'язаний сморід калу, вони також знешкоджуються в печінці.

2. Перетворення амінокислот у тканинах (дезамінування, переамінування, декарбоксилування).

Амінокислоти, що утворюються в результаті протеолізу білків, піддаються подальшим перетворенням. Початковою стадією катаболізму більшості амінокислот є видалення α -аміногрупи або шляхом переамінування з кетокислотою (найчастіше α -кетоглутаровою), або шляхом різних типів дезамінування.

Дезамінування.

Розрізняють кілька типів дезамінування: *відновне, окисне, гідролітичне й внутрішньомолекулярне*. По якому шляху піде реакція дезамінування залежить від конкретних умов у тканинах. Так, наприклад, у кишечнику амінокислоти піддаються відновному дезамінуванню з відщипленням аміаку й утворенням відповідних жирних кислот. У тканинах же відбувається головним чином окисне дезамінування з утворенням кетокислот і аміаку. Процеси дезамінування в загальному виді можна представити в такий спосіб:

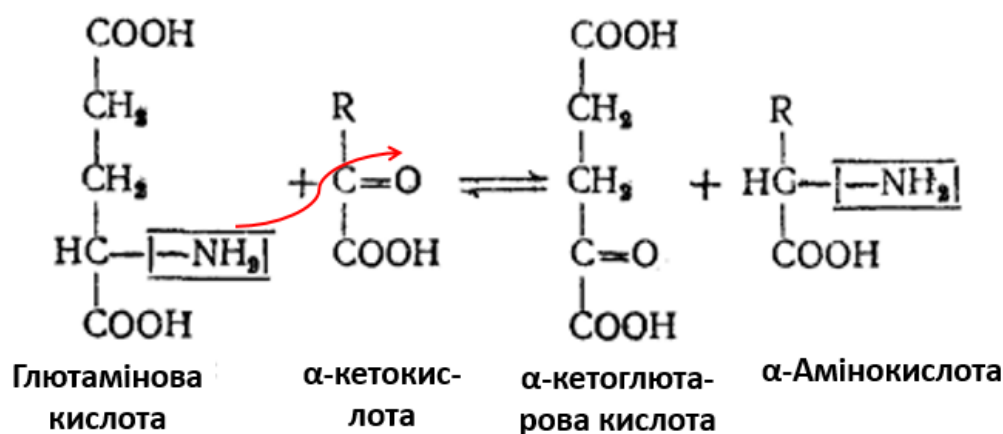


Як видно з наведеної схеми, залежно від характеру процесу з амінокислот будуть утворюватись різні сполуки - граничні й неграничні жирні кислоти,

кетокислоти, оксикислоти й аміак. Останній отруйний і знешкоджується в печінці, перетворюючись у сечовину.

Переамінування (трансамінування).

Це найважливіший шлях біосинтезу й обміну замінних амінокислот. При переамінуванні α -аміногрупа амінокислоти переноситься на α -кетокислоту з утворенням α -кетоглютарової кислоти без проміжного утворення аміаку, значно рідше з утворенням пірвіноградної або щавлевооцтової. У результаті утворюється α -кетоаналог вихідної амінокислоти й нова амінокислота. Ферменти, які каталізують цей процес, називаються аміотрансферазами. Коферментом трансаміназ є пірідоксальфосфат – похідне вітаміну B₁₂.



Реакції трансамінування є оборотними й універсальними для всіх живих організмів.

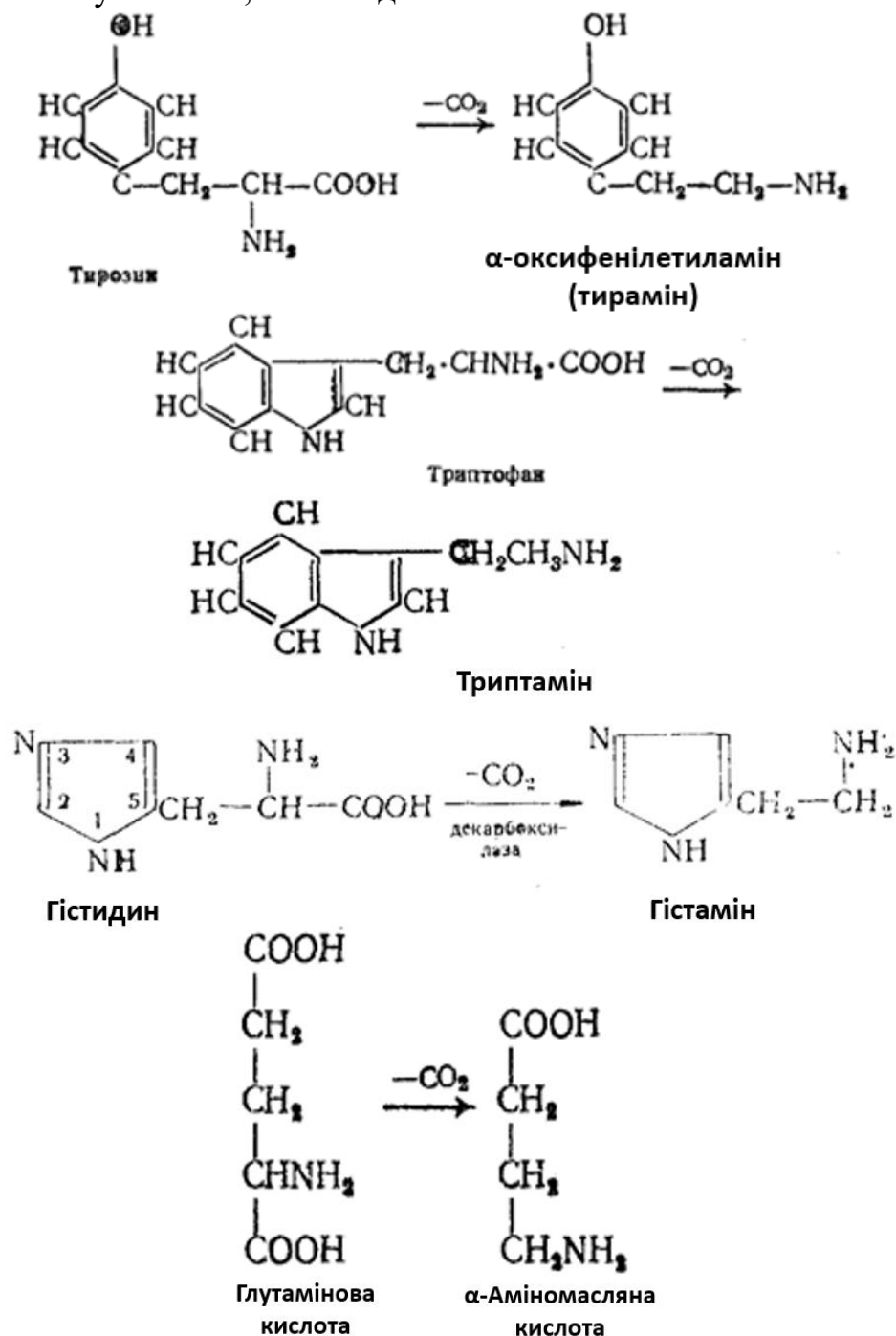
Декарбоксилування.

Декарбоксилування - відщиплення вуглекислого газу під дією відповідних декарбоксилаз. Із глютамінової кислоти в організмі утворюється γ -аміномасляна кислота, що відіграє важливу роль у функціональній діяльності центральної нервової системи. Вважають, що γ -аміномасляна кислота є природним інгібітором функції нервових клітин. Утворення γ -аміномасляної кислоти можна представити в такий спосіб:

Декарбоксилуванню піддаються й циклічні амінокислоти: тирозин, триптофан і гістидин; із глютамінової кислоти в організмі утворюється γ -аміномасляна кислота.

Всі зазначені вище сполуки відіграють важливу роль або як стимулятори, або як інгібітори функцій організму. У нормальних умовах виникли біогенні аміни

окислюються ферментами моноамінооксидазами (MAO), перетворюючись в альдегіди, а потім у кислоти, які й видаляються із сечею.

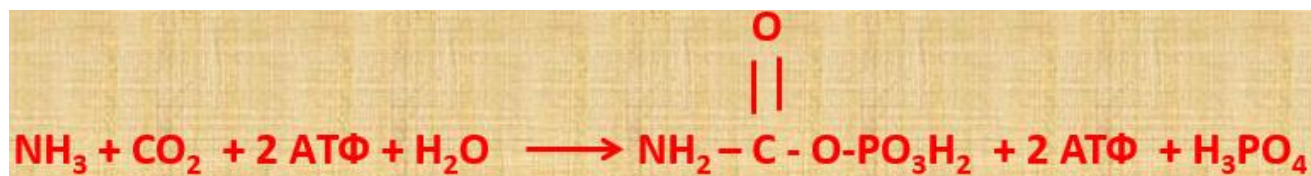


3. Синтез сечовини (орнітинів цикл)

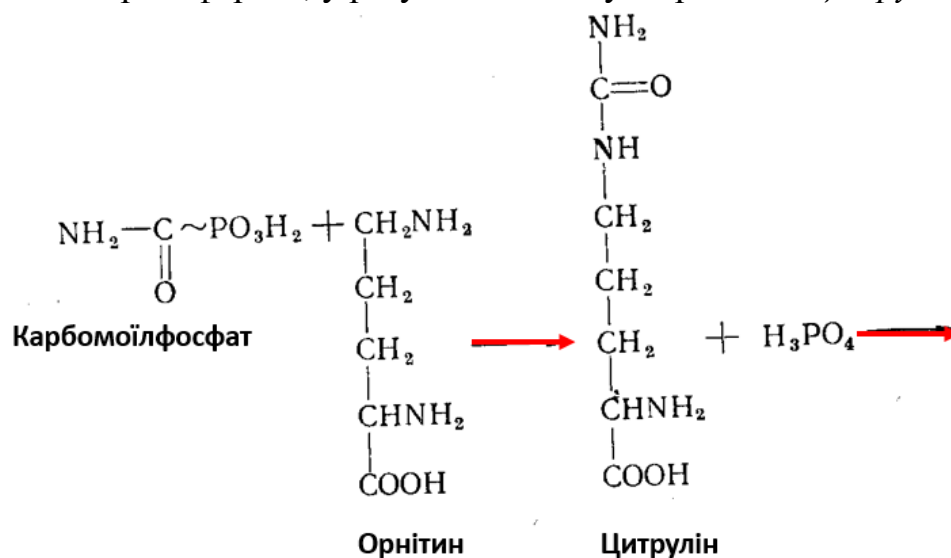
Основна маса аміаку використовується для синтезу сечовини, що відбувається в печінці з аміаку, вуглекислого газу й води. Кребс показав, що цей ланцюг має

циклічний характер і істотну роль у процесі грає орнітин. У зв'язку з останнім весь процес біосинтезу сечовини одержав назву орнітиновий цикл.

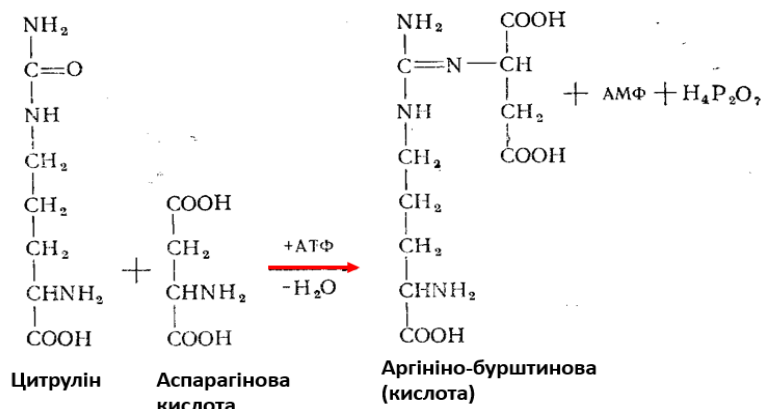
У **першій реакції** циклу відщеплений в процесі дезамінування аміак (NH_3), а також CO_2 , дві молекули АТФ взаємодіють із утворенням *карбомоїлфосфату*:



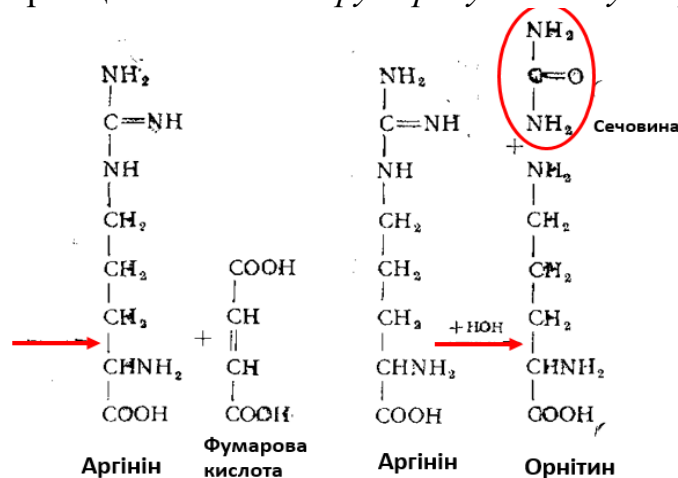
У **другій** реакції карбомоїлфосфат реагує з орнітином при участі ферменту орнітинкарбомоїлтрансферази, у результаті чого утворюється *цитрулін*.



Третя стадія складається з взаємодії цитруліну з аспарагіноювю кислотою й утворенням аргініно-буриштинової (*янтарної*) кислоти. На цій стадії процесу бере участь фермент аргінінсукцинатсинтетаза.



На четвертій стадії аргінін-бурштинова кислота під впливом ферменту аргінінсукцинатліази розщеплюється на *фумарову кислоту й аргінін*.



П'ята стадія: Останній під впливом ферменту аргінази розпадається на *орнітин і сечовину*, що легко видаляється з організму із сечею й потом.

Схематично процес можна зобразити в такий спосіб:



Сечовина є кінцевим продуктом розпаду простих білків. При вживанні 100-120 г білків на добу виділяється 20-25 г сечовини, що становить 80-86 % від загального азоту, виділеного із сечею. Утворення сечовини залежить від функціонального стану печінки, рівня білка в їжі, а також функціональної активності щитовидної залози, гормони якої підсилюють розпад білків - при гіперфункції цієї залози синтез сечовини різко збільшується.

Лабораторна робота № 10

ОБМІН ПРОСТИХ БІЛКІВ

Мета: закріпити теоретичні знання про значення білків, механізм їх перетравлення і засвоєння; закріпити знання про шляхи перетворення амінокислот, не використаних для біосинтезу білків.

Завдання: навчитися визначати кількість білків у сироватці крові тварин за методом Лоурі, з біуретовим реактивом. освоїти методики визначення креатиніну та сечовини в крові.

Питання для самопідготовки:

1. Біологічна роль білків, їх вміст у різних продуктах тваринного і рослинного походження.
2. Біологічна повноцінність білків.
3. Поняття про азотистий баланс, його види. Дати визначення позитивного та негативного азотистого балансу, азотистої рівноваги.
4. Ферменти травних соків на білки в шлунку, тонкому кишечнику, їх активування та механізм дії. Проміжні й кінцеві продукти перетравлення білків в організмі.
5. Всмоктування (засвоєння) продуктів перетравлення білків.
6. Гниття білків у товстому відділі кишківника і подальші перетворення продуктів гниття (індол, скатол, фенол, путресцин та ін.) в організмі.
7. Формування амінокислотного фонду тканин та основні шляхи використання амінокислот в організмі.
8. Ендогенні та екзогенні амінокислоти.
9. Біосинтез амінокислот. Замінні та незамінні амінокислоти.
10. Декарбоксілювання амінокислот.
11. Шляхи дезамінування амінокислот.
12. Первинне та остаточне знешкодження аміаку: місце і механізм синтезу сечовини.
13. Шляхи виведення сечовини з організму.

14. Обмін окремих амінокислот (гліцину, серину, цистеїну, метіоніну, аспарагінової кислоти, гістидину та інших).

15. Залишковий азот крові – його компоненти та кількісні зміни у зв'язку з віком і станом організму.

16. Взаємозв'язок в обміні амінокислот та інших речовин.

Креатинін є нормальною складовою частиною сечі і одним із кінцевих продуктів азотистого обміну. Він є ангідридом креатину і утворюється з макроергічної сполуки креатинфосфату при відщепленні фосфатної кислоти. Кількість креатиніну, що виводиться з сечею прямо залежить від вмісту фосфокреатину в м'язах. Кількість креатиніну в сечі буде змінюватися і залежно від вмісту креатину в їжі (особливо в білковій). Підвищеною екскрецією креатиніну (гіперкреатинінурія) супроводжуються гарячкові стани, гострі інфекції, цукровий і нецукровий діабет. Гіперкреатинінурія з одночасною креатинурією зазвичай свідчить про патологію поперечно-смугастих м'язів (м'язова дистрофія, атрофія, міастенія). Гіпокреатинурія спостерігається при захворюваннях нирок, астмі – при хронічному нефриті з уремією, при м'язовій атрофії після перенесених інфекцій, в літньому віці і при аліментарній дистрофії.

Визначення вмісту креатиніну у сироватці крові

Принцип методу. Креатинін при взаємодії з пікриновою кислотою в лужному середовищі утворює сполуки, забарвлені в помаранчево-червоний колір, інтенсивність якого визначають на ФЕК.

Хід роботи.

Визначення проводиться в центрифужних пробірках, які заповнюють наступним чином:

Дослідна проба:

1. Внести в пробірку 0,5 мл досліджуваної сироватки.
2. Додати 1,5 мл насиченого розчину пікринової кислоти.
3. Витримують 5 хвилин.
4. Поміщають колбу в киплячу водяну баню на 20 секунд.
5. Центрифугують протягом 15 хвилин.
6. У чисту пробірку відбирають 1,0 мл центрифугату.
7. Додають 0,05 мл 10 %-ного розчину NaOH.
8. Перемішують і доводять об'єм розчину дистильованою водою до 2,5 мл.
9. Витримують 10 хвилин.
10. Колориметрують на ФЕК у кюветі з товщиною 1 см (500-560 нм) проти холостої проби.

Калібрувальна проба:

1. У пробірку внести 0,5 мл калібрувального розчину креатиніну.
2. Додати 1,5 мл насиченого розчину пікринової кислоти.
3. Через 20 хвилин відбирають в іншу пробірку 1,0 мл отриманого розчину.
4. Додають 0,05 мл 10% -ного розчину NaOH.
5. Перемішують і доводять об'єм розчину дистильованою водою до 2,5 мл.
6. Витримують 10 хвилин.
7. Колориметрують на ФЕК в кюветі з товщиною 1 см (500-560 нм) проти холостої проби.

Холоста проба:

Готується аналогічно калібрувальної, з тією різницею, що замість калібрувального розчину креатиніну використовують дистильовану воду.

Розрахунок вмісту креатиніну в пробі проводять за формулою:

$$C = C_{ст.} \times \frac{E_{досл.}}{E_{кал.}} \text{ мкМоль/л, де}$$

C – концентрація креатиніну в досліджуваній сироватці;

$C_{ст.}$ – концентрація креатиніну в калібрувальній пробі – 188,4 мкМоль/л;

$E_{досл.}$ – оптична щільність дослідної проби;

$E_{кал.}$ – оптична щільність калібрувальної проби.

У нормі в сироватці крові креатиніну міститься:

- у чоловіків 61-115 мкМоль/л;
- у жінок 53-97 мкМоль/л.



Спостереження і висновки:

Сечовина (діамід вугільної кислоти) є основним кінцевим продуктом знешкодження аміаку в організмі. Нормальний вміст сечовини в крові людини коливається в межах 2,5-8,3 мМ/л. Близько 75 % сечовини виділяється з сечею. Концентрація сечовини в крові залежить від інтенсивності її синтезу і виділення.

Визначення сечовини є діагностичним тестом, який характеризує не тільки стан білкового обміну, але і функціональний стан нирок та печінки. Збільшення концентрації сечовини в крові (азотемія) відзначається при хворобах нирок (порушеннях їх видільної функції), при підвищеному розпаді білків, надмірному білковому харчуванні, у разі зневоднення організму (відносна азотемія), при отруєнні фосфором. Зниження рівня сечовини в крові та виділення її з сечею спостерігається при захворюваннях печінки (дистрофія печінки, цироз, паренхіматозна жовтяниця), пов'язаних з порушенням її здатності до утворення сечовини; при нефриті, ацидозі, уремії.

Визначення вмісту сечовини в сироватці крові колориметричним методом

Принцип методу. Сечовина утворює з діацетилмонооксимолом при наявності тіосемікарбазиду і солей феруму в сильноокислому середовищі при нагріванні комплекс рожево-червоного кольору. Інтенсивність забарвлення пропорційна вмісту сечовини в сироватці крові.

Хід роботи.

У пробірки послідовно відміряють (згідно з таблицею) розчин діацетилмонооксимола, біологічного розчину або фізіологічного розчину і тіосемікарбазиду. Для зменшення похибки аналізу рекомендується дотримуватися порядку змішування розчинів згідно з таблицею.

Розчини	Калібрувальна або дослідна проба, мл	Холоста проба, мл
Розчин діацетилмонооксимола	1,0	1,0
Біологічний розчин або калібрувальний розчин сечовини	0,01	–
Фізіологічний розчин	–	0,01
Розчин тіосемікарбазиду	1,0	1,0

Пробірки закривають алюмінієвою фольгою, перемішують і поміщають в киплячу водяну баню на 10 хвилин. Потім пробірку швидко охолоджують у холодній воді. Колориметрують в кюветі 1 см проти холостої проби.

Якщо розчин після нагрівання в першій пробірці мутніє, його центрифугують 5 хвилин або осаджують розчином ТХО. Після змішування всіх компонентів реакційного розчину не рекомендується витримувати проби до початку кип'ятіння більше, ніж 20 хвилин.



Концентрацію сечовини розраховують за формулою:

$$C = \frac{E_{\text{досл.}}}{E_{\text{кал.}}} \times 16,65$$

ммоль/л, де

C – концентрація сечовини в досліджуваній сироватці;

16,65 – концентрація сечовини в калібрувальній пробі (ммоль/л);

$E_{\text{досл.}}$ – оптична щільність дослідної проби;

$E_{\text{кал.}}$ – оптична щільність калібрувальної проби.

Спостереження і висновки:

Сечова кислота відноситься до важливих нітрогенвмісних складових частин сечі. Сечова кислота у людини, приматів, більшості тварин, птахів і деяких рептилій є кінцевим продуктом пуринового обміну. В інших рептилій і деяких ссавців сечова кислота розщеплюється до алантоїну і у риб – до алантоїнової кислоти і сечовини. Її кількість залежить як від вмісту пуринів в їжі, так і від кількості нуклеїнових кислот, які розпалися в організмі. При гарячкових станах, лейкемії виділення сечової кислоти збільшується. Солі сечової кислоти (урати) є головною складовою частиною відкладень, що виникають при подагрі в хрящах, сухожильних пазухах і слизових сумках суглобів.

Визначення сечової кислоти в сироватці крові

Принцип методу. Сечова кислота відновлює фосфорно-вольфрамовий реактив, в результаті чого утворюються нижчі оксиди вольфраму синього кольору. Інтенсивність забарвлення пропорційна кількості сечової кислоти.

Хід роботи.

Дослідна проба:

1. У пробірку наливають 1,6 мл дистильованої води.
2. Додають 0,2 мл сироватки крові та 0,1 мл розчину сульфатної кислоти.
3. Перемішують.
4. Додають 0,1 мл вольфрамату натрію.
5. Перемішують і через 10-20 хвилин центрифугують при 3000 об/хв.
6. У чисту пробірку відбирають 0,6 мл центрифугату.
7. Додають послідовно 0,3 мл розчину карбонату натрію та 0,2 мл реактиву Фоліна.
8. Перемішують і через 30 хвилин фотометрирують в кюветі 1 см при довжині хвилі 670 нм проти холостої проби.

Холоста проба:

Ставлять як дослідну, але замість центрифугату додають 0,6 мл води.

Калібрувальна проба:

Ставлять як дослідну, але замість сироватки додають 0,2 мл калібрувального розчину сечової кислоти. Стадію центрифугування виключають.



Концентрацію сечової кислоти в сироватці крові розраховують за формулою:

$$X = \frac{E_{\text{досл.}}}{E_{\text{кал.}}} \times C, \text{ де}$$

X – концентрація сечової кислоти в досліджуваній сироватці (ммоль/л);

C – концентрація сечової кислоти в калібрувальній пробі (0,3 ммоль/л);

$E_{\text{досл.}}$ – оптична щільність дослідної проби;

$E_{\text{кал.}}$ – оптична щільність калібрувальної проби.

Спостереження і висновки:

ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ З РОЗДІЛУ «ОБМІН БІЛКІВ»

- 1. Під впливом яких ферментів проходить розщеплення білків в шлунку:**
 - А. Трипсину;
 - Б. Пепсину;
 - В. Ентерокінази;
 - Г. Хімосину.
- 2. Які ферменти розщеплюють білки до поліпептидів в кишечнику:**
 - А. Трипсиноген;
 - Б. Всі перераховані
 - В. Карбоксипептидази;
 - Г. Хімотрипсиноген;
 - Д. Дипептидази.
- 3. В результаті внутрішньо молекулярного дезамінування амінокислот утворюються:**
 - А. Кетокислоти;
 - Б. Гідроксикислоти;
 - В. Насичені кислоти;
 - Г. Ненасичені кислоти.
- 4. Яка амінокислота використовується при біосинтезі порфінового ядра:**
 - А. Серин;
 - Б. Аланін;
 - В. Гліцин;
 - Г. Триптофан.
- 5. Яка амінокислота є проміжним продуктом при біосинтезі сечовини і розщеплюється з утворенням орнітину і сечовини:**
 - А. Лейцин;
 - Б. Цитрулін;
 - В. Аргінін;
 - Г. Валін.
- 6. Яка сполука є кінцевим продуктом азотистого обміну у птахів:**
 - А. Креатин;
 - Б. Аміак;
 - В. Сечова кислота.
- 7. Яка сполука є головним кінцевим продуктом азотистого обміну у ссавців:**
 - А. Сечова кислота;
 - Б. Сечовина;
 - В. Аміак.
- 8. Реакція переамінування є одною із стадій біосинтезу різних сполук, вказати яких саме:**

- А. Більшості амінокислот;
- Б. Дикарбонових кислот;
- В. Замінних амінокислот.

9. До незамінних факторів харчування належить:

- А. Глюкоза;
- Б. Холестерин;
- В. Метіонін;
- Г. Аланін.

10. Перетравлення білків у кишечнику здійснюється ферментами:

- А. Ліпазою та фосфоліпазою;
- Б. Трипсином та хімотрипсином;
- В. Пепсином та реніном;
- Г. Все перераховане правильно.

11. Активатором пепсиногену є:

- А. Бікарбонат натрію;
- Б. Соляна кислота;
- В. Трипсин;
- Г. Ентеропептидазу.

12. Активатором хімотрипсиногену є:

- А. Пепсин;
- Б. Трипсин;
- В. Амінопептидазу;
- Г. Дипептидазу.

13. Активатором трипсиногену є:

- А. Хімотрипсин;
- Б. Карбоксипептидазу;
- В. Дипептидазу;
- Г. Ентеропептидазу.

14. Оптимум рН для дії трипсину та хімотрипсину:

- А. 1,5-2,0
- Б. 4,5-6,0
- В. 6,0-7,0
- Г. 8,0-8,5

15. Аміак у печінці знешкоджується шляхом:

- А. Синтезу сечової кислоти;
- Б. Синтезу сечовини;
- В. Утворення амонійних солей;
- Г. Синтезу пуринових нуклеотидів.

РОЗДІЛ 11

ОБМІН ВУГЛЕВОДІВ

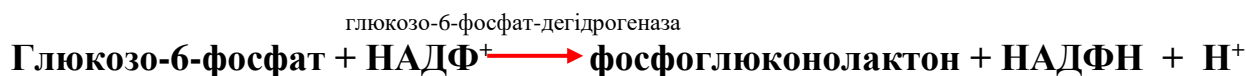
ПЛАН

1. Пентозофосфатний цикл окислювання вуглеводів
2. Глікогенез
3. Глюконеогенез.
4. Цикл трикарбовоних кислот (цикл Кребса)
5. Порушення вуглеводного обміну

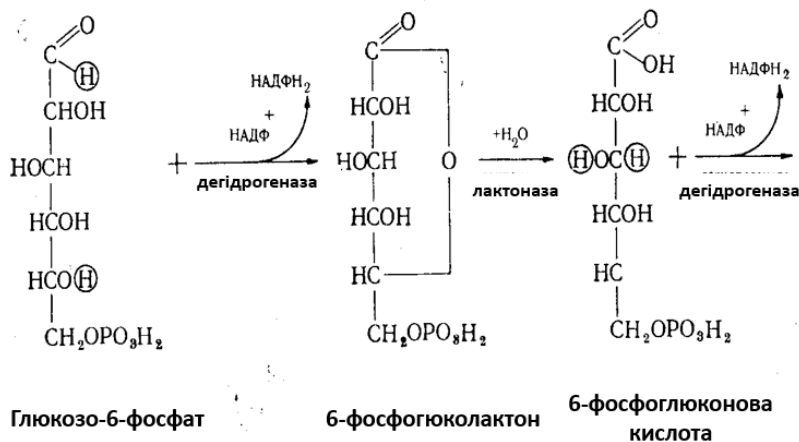
1. Пентозофосфатний цикл окислювання вуглеводів

Пентозофосфатний шлях має дві фази, всі реакції протікають у цитоплазмі, ядрах і мітохондріях. Перша фаза **окислювальна**: глюкозо-6-фосфат окисляється до пентозофосфатів. Друга фаза - **неокислювальна**, вона являє собою взаємоперетворення трьох-, чотирьох-, п'яти-, шести-, семи- і восьмиуглецевих цукрофосфатів, у результаті яких регенерується глюкозо-6-фосфат.

1. Перша реакція окислювальної фази являє собою дегідратування глюкозо-6-фосфату, яка каталізується глюкозо-6-фосфат-дегідрогеназою, що містить як кофермент НАДФ. У результаті утвориться 6-фосфоглюконолактон. Відщеплені 2 атоми водню приєднуються до НАДФ⁺, відновлюючи його до НАДФН + Н⁺.

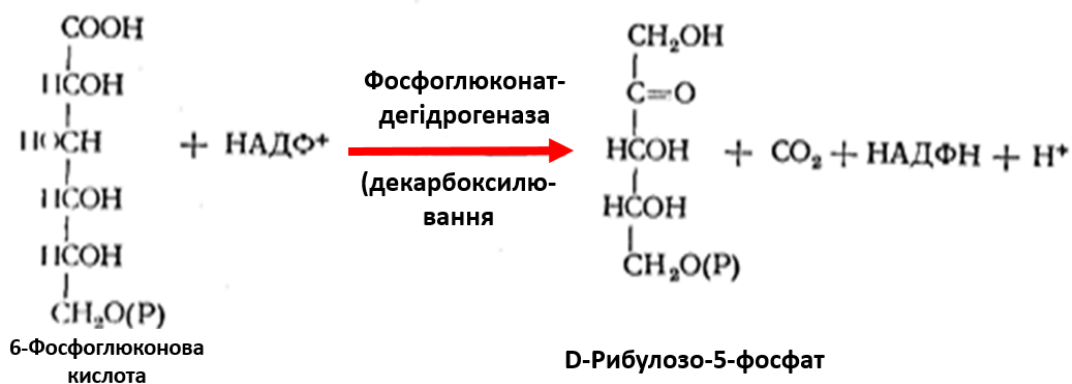


2. 6-фосфоглюконолактон при участі лактонази переходить в 6-фосфоглюконовою кислоту

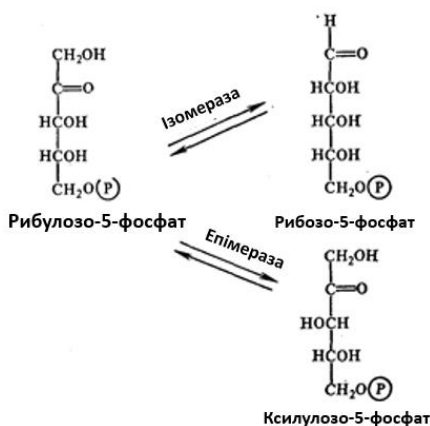


3. У наступній окисній реакції 6-фосфоглюконова кислота дегідратується й декарбоксілюється з утворенням рибулозо-5-фосфат.

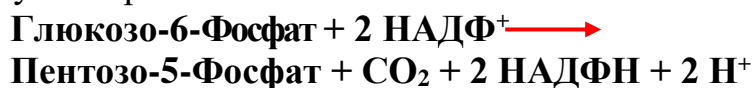
Реакція супроводжується утворенням ще однієї молекули НАДФН:



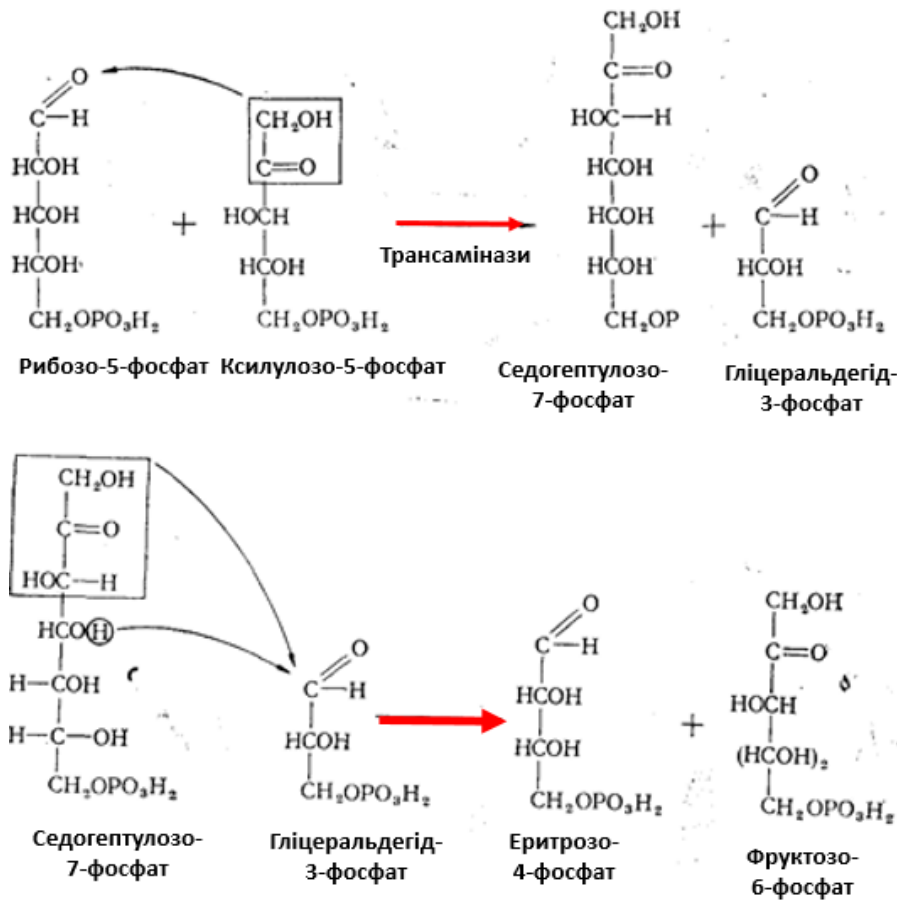
Під дією ферменту рибулозофосфат-3-епімерази рибулозо-5-фосфат може зворотно перетворюватися у своєї 3-епімер - ксилулозо-5-фосфат. При участі особливо рибозофосфат-ізомерази рибулозо-5-фосфат здатний також зворотно перетворюватися у свій альдоізомер - рибозо-5-фосфат:



За певних умов фосфоглюконатний шлях на цьому завершується, і тоді сумарний підсумок описується рівнянням

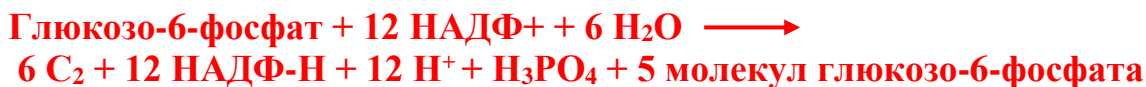


В інших умовах настає неокислювальна стадія пентозо-фосфатного шляху. Вона протікає в анаеробних умовах. Основні реакції цієї стадії здійснюються за участю специфічних ферментів - *транскетолази* й *трансальдолази*. Транскетолаза здійснює перенос глікоальдегідної групи ($\text{CH}_2\text{CO}-$) від ксилулозо-5-фосфату до рибозо-5-фосфату, проміжним переносником глікоальдегідної групи є тіаминдифосфат (ТДФ):



Седогептулозо-7-Фосфат взаємодіє із гліцеринальдегид-3-фосфатом, при участі ферменту *трансальдолази* виникає молекула еритрозо-4-фосфат і фруктозо-6-фосфат, фруктозо-6-фосфат перетворюється в глюкозо-6-фосфат.

Якщо вважати, що при розщепленні глюкозо-6-фосфату утвориться одна - молекула вуглекислого газу, то з 6 молекул глюкозо-6-фосфату утвориться 6 молекул CO_2 , 12 молекул НАДФ- H_2 , 6 молекул рибулозо-5-фосфата. Якщо молекули рибулозо-5-фосфату перетворюються надалі по шляху, описаному вище, те зрештою утвориться 5 молекул глюкозо-6-фосфата, тому що одна з 6 молекул розпадається повністю до CO_2 .



Окислювання 12 молекул НАДФ- H_2 приводить до біосинтезу 36 молекул АТФ (окислювання однієї молекули НАДФ- H_2 дає 3 молекули АТФ).

Значення пентозофосфатного циклу досить важливо для організму, тому що при цьому:

1) утворюються пентози, які використовуються в синтезі нуклеїнових кислот ДНК і РНК, а також відновлені форми коферменту НАДФ-Н, які необхідні для

біосинтезу ліпідів (жирних кислот і холестеролу), тому активність пентозофосфатного циклу висока в клітинах печінки, молочної залози, жирової тканини й кори наднирників.

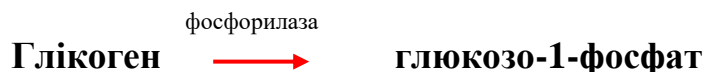
2) потрапляя у цикл клітинного дихання, пентози можуть забезпечувати синтез АТФ.

3) крім того, через пентозний цикл регенеруються моносахариди.

2. Глікогенез

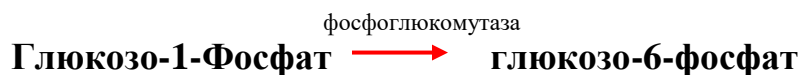
Процес розпаду глікогену й звільнення глюкози одержав назву глікогенезу.

Залучення 3-глюкозних одиниць глікогену в процес обміну речовин відбувається при участі трьох ферментів - *глікогенфосфорилази* (або фосфорилази «а»), *амило-1,6-глюкозидази* й *фосфоглюкомутази*.



Варто помітити, що фосфорилаза «а» відщеплює глюкозидні залишки, починаючи від периферичного кінця зовнішніх галузей молекули глікогену, і при наближенні до (1-6) зв'язків її дія припиняється. Іншими словами, фосфоролиз триває тільки до крапок розгалуження в молекулі глікогену. Фермент амило-1,6-глюкозидаза здатний розщеплювати 1-6-зв'язок у крапки розгалуження, після чого фосфорилаза «а» знову одержує можливість діяти доти, поки не дійде до наступної крапки розгалуження, і т.п.

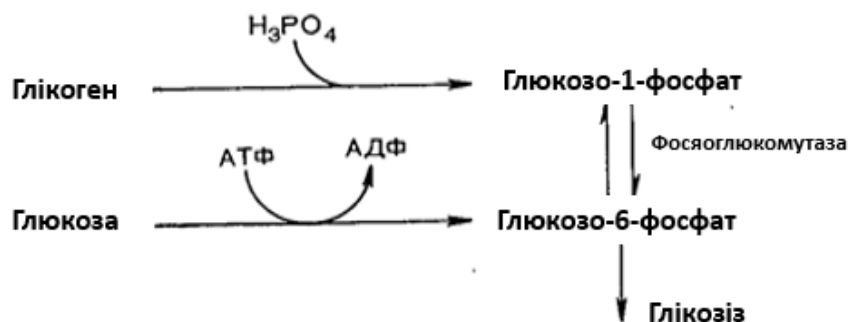
Глюкозо-1-фосфат перетворюється далі під дією *фосфоглюкомутази* в глюкозо-6-фосфат:



Утворення вільної глюкози із глюкозо-6-фосфату в печінці відбувається під впливом глюкозо-6-фосфатази. Даний фермент каталізує гідролітичне відщеплення фосфату:



Утворений в ході фосфоглюкомутазної реакції глюкозо-6-фосфат може включатися в процес гліколізу. Після утворення глюкозо-6-фосфату подальші шляхи гліколізу до глікогенолізу повністю збігаються:



3. Глюконеогенез

Анаеробна фаза розщеплення глюкози - гліколіз - закінчується утворенням пірвіноградної кислоти (ПВК) або молочної кислоти. Вони за певних умов можуть знову ресинтезуватися в глюкозу. Із двох молекул молочної кислоти може утворитися одна молекула глюкози, тобто відбувається якби обіг гліколізу. *Цей процес називається глюконеогенезом.* Якщо гліколіз - центральний шлях метаболізму вуглеводів, то глюконеогенез - анаболічний процес, найбільш важливий загальний шлях біосинтезу моносахаридів і полісахаридів у людини, тварин, багатьох бактерій. У хребетних найбільше інтенсивно глюконеогенез протікає в клітинах печінки й нирок (кіркова речовина). У фотосинтезуючих організмів він грає звичайно другорядну роль.

Глюконеогенез - синтез глюкози з неуглеводних продуктів.

Більшість стадій глюконеогенезу являє собою обіг реакцій гліколізу. Однак існують три необоротні стадії гліколізу, що протікають із виділенням значної кількості енергії, тому глюконеогенез йде в обхід цих стадій.

Розглянемо шлях синтезу глюкози з пірвату.

Перша необоротна стадія, що переборюється в результаті глюконеогенезу, - перетворення ПВК у фосфоенолпірвіноградну кислоту. Синтез фосфоенолпірвату здійснюється в кілька етапів.

1. Спочатку пірват під впливом *пірваткарбоксілази* й при участі 3 O_2 і АТФ карбоксилюється з утворенням оксалоацетату (щавлевооцтової кислоти - ЩУК):



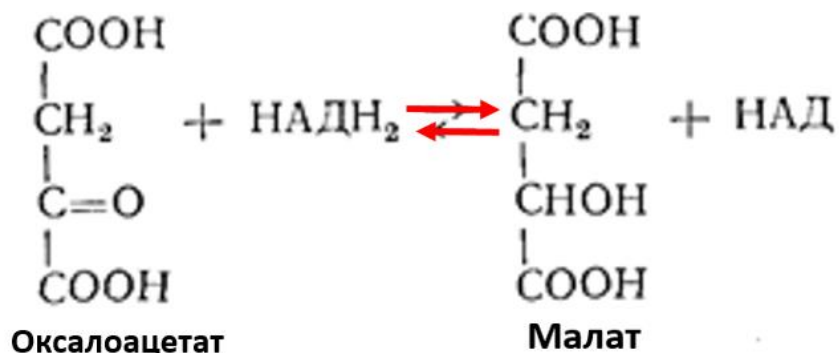
Пірват

Оксалоацетат

Пірваткарбоксілаза - регуляторний фермент у тварин активний тільки в присутності ацетил- КоА.

Перший етап локалізується в мітохондріях

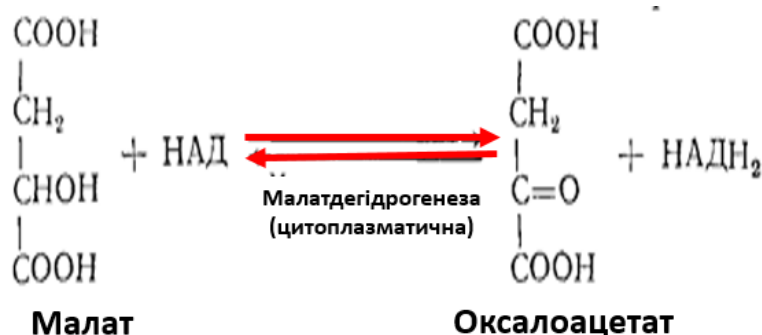
2. Мембрана мітохондрій непроникна для щойно відтвореного оксалоацетату. Останній тут же в мітохондріях відновлюється в малат.



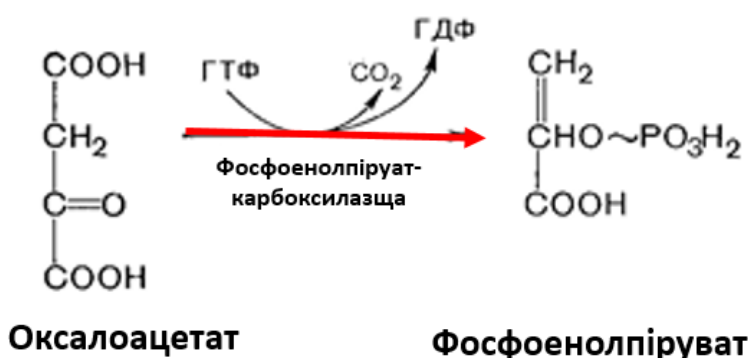
Реакція протікає при участі мітохондріальної НАД-залежної *малатдегідрогенази*. У мітохондріях відношення НАДН₂/НАД відносно велике, у зв'язку із чим внутришньомітохондріальний оксалоацетат легко відновлюється в малат, який легко виходить із мітохондрії, проходячи мітохондріальну мембрану.



3. У цитоплазмі відношення НАДН₂/НАД дуже мале й малат знову окисляється в оксалоацетат при участі цитоплазматичної НАД-залежної *малатдегідрогенази*:



4. Подальше перетворення оксалоацетату у фосфоенолпіруват відбувається в цитоплазмі клітини під впливом ферменту *фосфоенолпіруваткарбоксикинази*.



6. Щойно відтворений фосфоенолпіруват далі легко перетворюється у фруктозо-1,6-дифосфат у результаті ряду оборотних реакцій гліколізу (див. схему гліколізу).

7. Потім фермент *фруктозо-дифосфатаза* каталізує гідролітичне відщиплення фосфатної групи, що перебуває першому положенні:



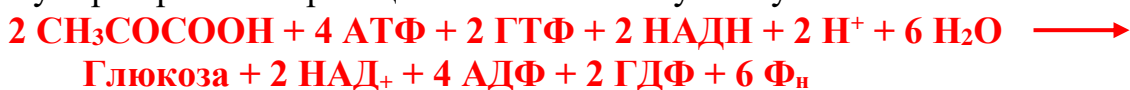
Так переборюється друга необоротна стадія гліколізу

7. У наступній оборотній стадії біосинтезу глюкози фруктозо-6-фосфат перетворюється в глюкозо-6-фосфат. Останній може дефосфорилуватися (тобто реакція йде в обхід гексокиназній реакції) під впливом ферменту *глюкозо-6-фосфатази*:

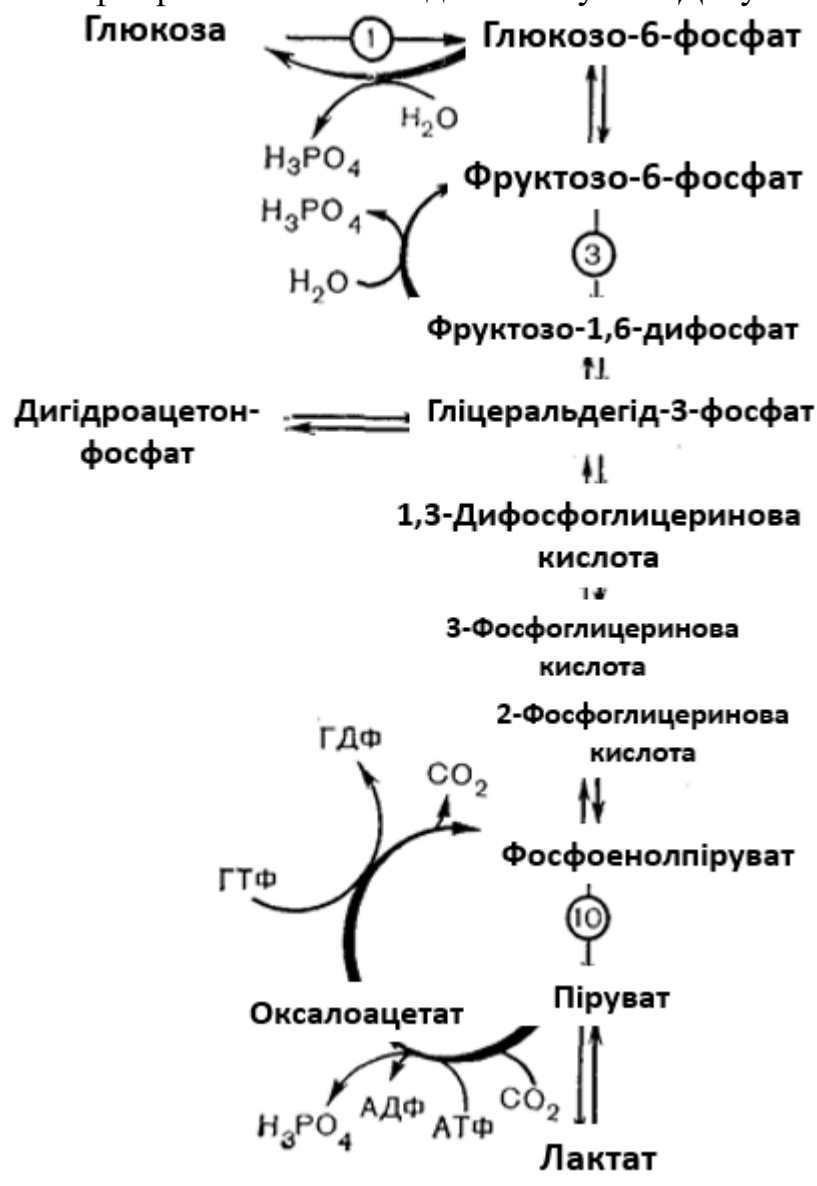


Це третій, обхідний шлях, що використовується для синтезу глюкози із ПВК.

Сумарне рівняння реакцій глюконеогенезу наступне:



Таким чином, на синтез однієї молекули глюкози витрачається шість високоенергетичних фосфатних зв'язків і дві молекул НАДН у якості відновника.



Взаємозв'язок гліколізу й глюконеогенезу. Цікаво відзначити, що між гліколізом, що інтенсивно протікає в м'язовій тканині при її активній діяльності, і глюконеогенезом, особливо характерним для печіночної тканини, існує тісний взаємозв'язок. При максимальній активності м'язів у результаті посилення гліколізу утворюється надлишок молочної кислоти, що дифундує в кров. Значна частина надлишку лактату в печінці перетворюється в глюкозу (глюконеогенез). глюкоза, що утворилася в печінці, потім може бути використана як енергетичний субстрат, необхідний для діяльності м'язової тканини.

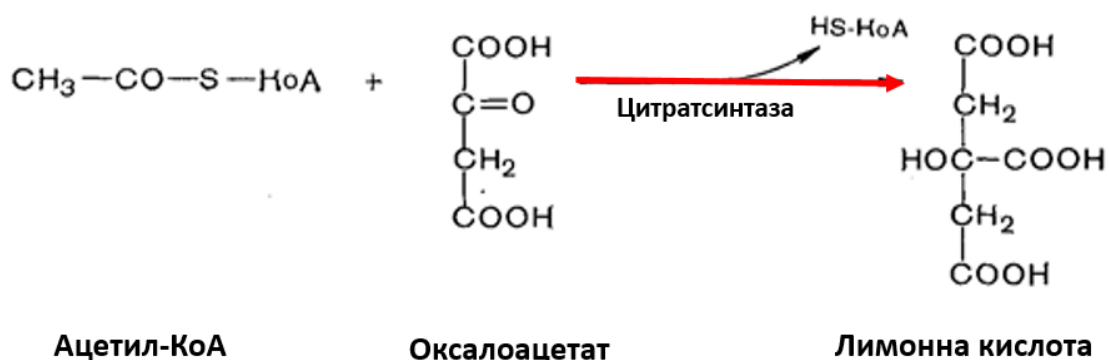
4. Цикл трикарбонових кислот (цикл Кребса)

Цикл трикарбонових кислот уперше був відкритий англійським біохіміком Хансом Кребсом. Надалі було показано, що цикл трикарбонових кислот є тим «фокусом», у якому сходяться практично всі метаболічні шляхи.

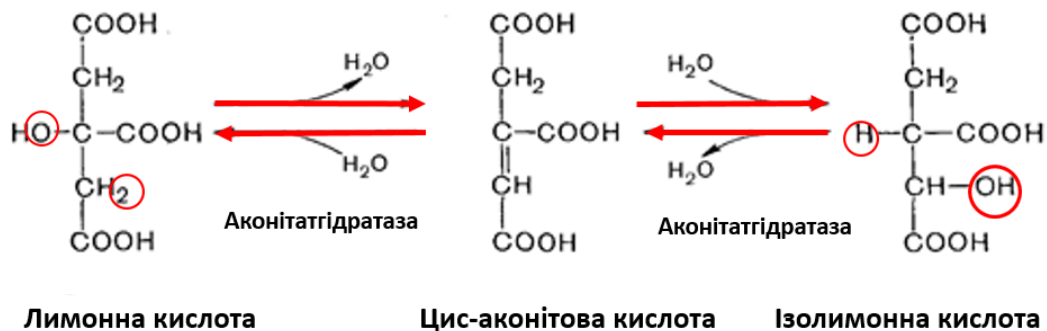
Всі реакції циклу протікають у матриксі мітохондрій. Безпосереднім реакціям циклу передують підготовча фаза - окислювання ПВК до ацетил-КоА.

Отже, ацетил-КоА вступає в цикл Кребса. Даний цикл складається з восьми послідовних реакцій. Починається цикл із конденсації ацетил-КоА з оксалоацетатом і утворення лимонної кислоти. Потім лимонна кислота (шестивуглецева сполука) шляхом ряду дегідрувань (відібрання водню) і декарбоксилювань (відщиплення CO_2) втрачає два вуглецевих атоми й знову в циклі Кребса з'являється оксалоацетат (чотиревуглецева сполука), тобто в результаті повного обороту циклу молекула ацетил-КоА згорає до CO_2 і H_2O , а молекула оксалоацетату регенерується. Нижче розглянемо всі вісім послідовних реакцій (етапів) циклу Кребса.

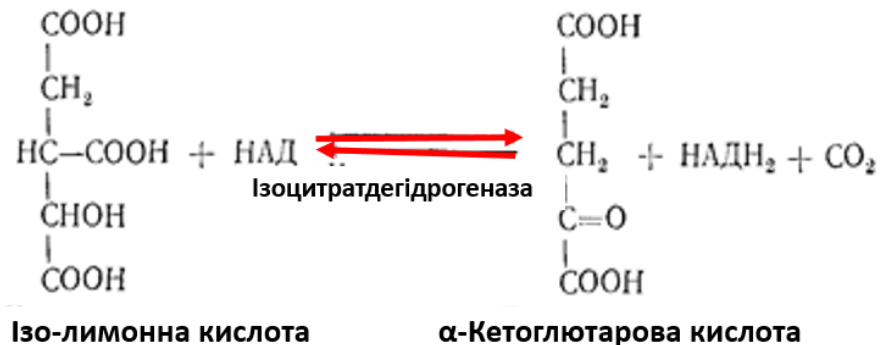
1. У першій реакції, яка каталізується ферментом *цитратсинтетазою*, ацетил-КоА конденсується з оксалоацетатом. У результаті утворюється лимонна кислота:



2. У другій реакції циклу лимонна кислота, що утворилася, піддається дегідратації з утворенням *цис*-аконітової кислоти, що, приєднуючи молекулу води, переходить у *ізо*-лимонну. Каталізує ці оборотні реакції гідратації - дегідратації фермент *аконітатгідратаза*.



3. У третій реакції, що лімітує швидкість циклу Кребса, *ізо*-лимонна кислота дегідратується в присутності НАД-залежної *ізоцитратдегідрогенази* з утворенням α -кетоглутарової кислоти.



4. У четвертій реакції відбувається окисне декарбоксілювання α -кетоглутарової кислоти до сукциніл-КоА. Кінцевий продукт цієї реакції - сукциніл-КоА - являє собою високоенергетичний тіоефір.

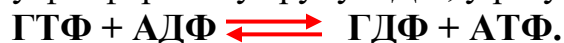


5. П'ята реакція каталізується ферментом *сукциніл-КоА-синтетазою*. У ході цієї реакції сукциніл-КоА при участі ГДФ і неорганічного фосфату перетворюється в бурштинову кислоту (сукцинат).

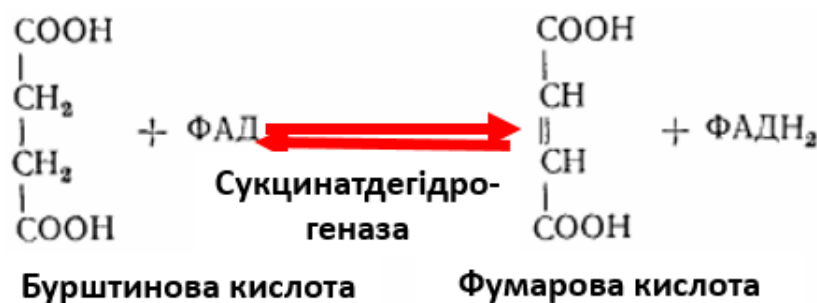


Одночасно відбувається утворення високергичного фосфатного зв'язку ГТФ за рахунок високоергичного тіо-ефірного зв'язку сукциніл-КоА. Реакція відноситься

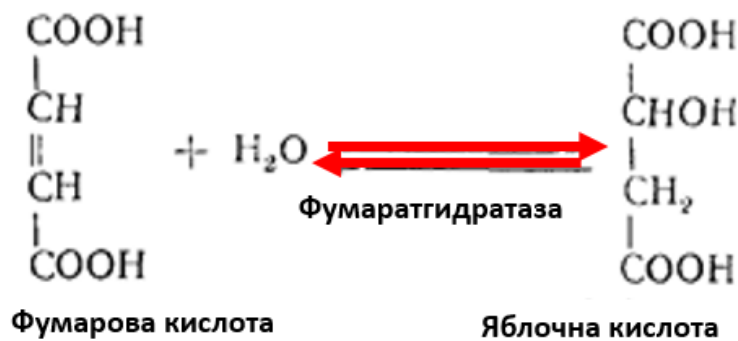
до реакцій субстратного фосфорилування: енергія окислювання, що була накопичена в сукциніл-КоА, переноситься на ГТФ. ГТФ може віддавати свою кінцеву фосфорильну групу АДФ, у результаті чого утворюється АТФ:



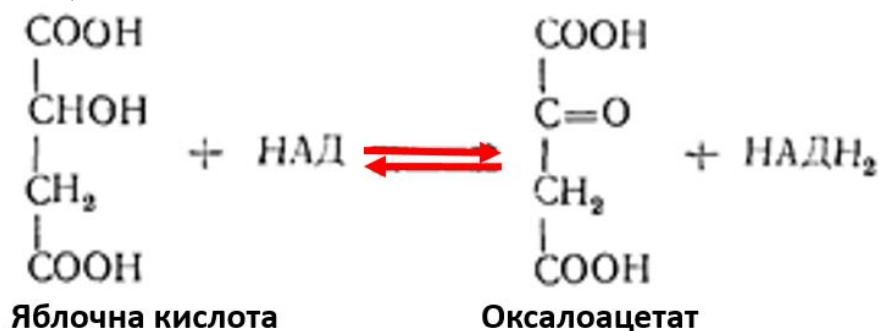
6. У шостій реакції сукцинат перетворюється у фумарову кислоту. Окислювання сукцинату каталізується *сукцинатдегідрогеназою*. На відміну від інших ферментів ЦТК, що перебувають у матриксі мітохондрій, сукцинатдегідрогеназа - білок внутрішньої мембрани мітохондрій.

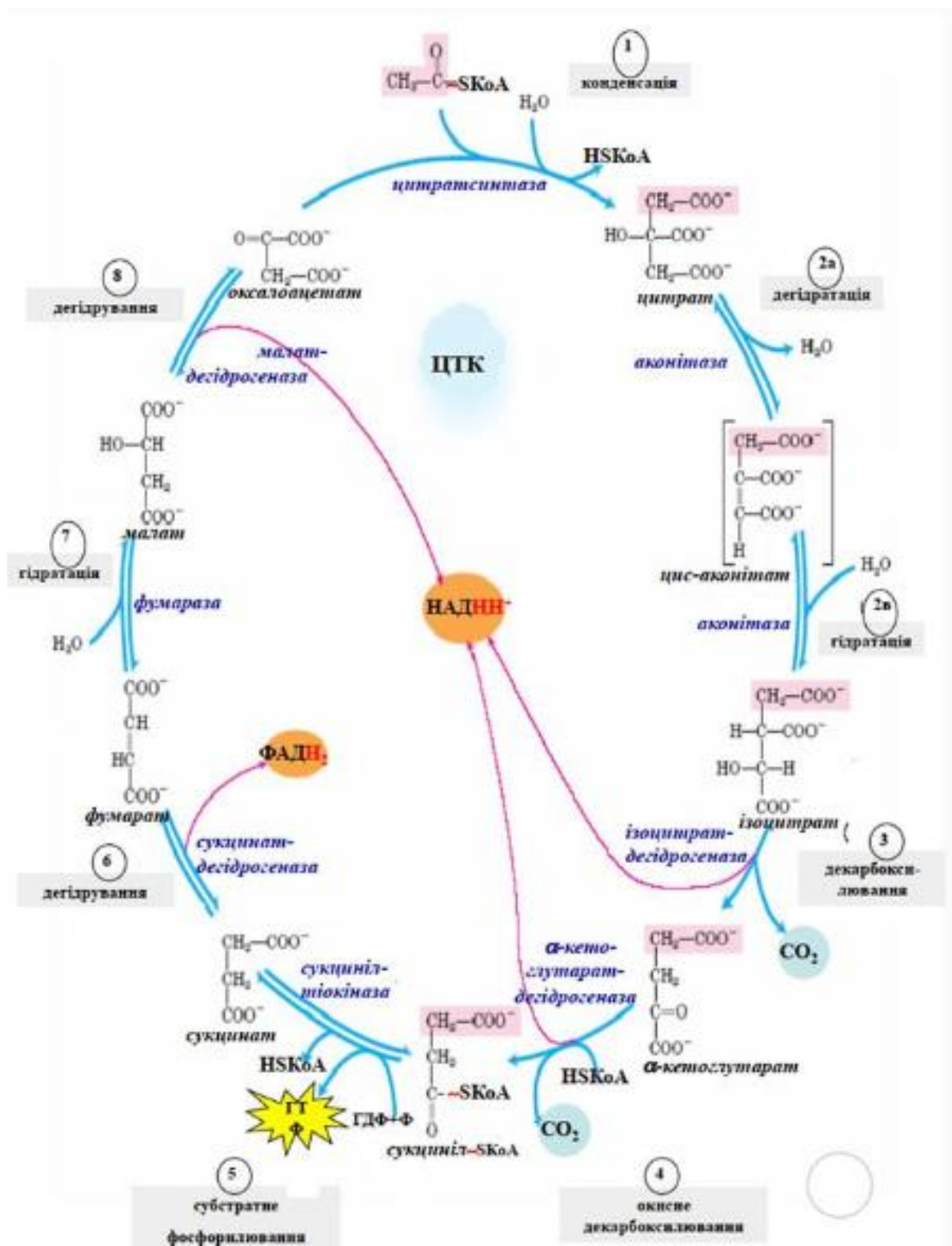


7. У сьомій реакції фумарова кислота гідратується під впливом ферменту *фумаратгідратази* з утворенням яблучної кислоти (малату).



8. Нарешті, у восьмій реакції циклу трикарбонових кислот під впливом мітохондріальної НАД-залежної *малатдегідрогенази* відбувається окислювання L-малату в оксалоацетат.





Баланс енергії в циклі трикарбонових кислот. За один оборот ЦТК молекула ПВК виявляється повністю окисленою до CO_2 і H_2O .

Можна розрахувати енергетичний вихід окислювання глюкози через ПВК у процесі подиху. При окислюванні ПВК чотири пари атомів водню надходять на НАД^+ . Окислювання однієї молекули НАДН дає три молекули АТФ. Одна пара атомів водню окисляється через ФАД, що дає додатково дві молекули АТФ. Одна молекула АТФ утвориться шляхом субстратного фосфорилування. Усього $3 \times 4 + 2 + 1 = 15$ молекул АТФ. Отже, за рахунок окислювання 1 моля ПВК синтезується 15 молей АТФ. Варто врахувати, що з однієї молекули глюкози утворюється дві молекули ПВК, тому необхідно ввести коефіцієнт 2×15 молекул АТФ $\times 2 = 30$ молекул АТФ.

Крім того, в анаеробній фазі (при гліколізі) утворюються ще дві молекули АТФ і дві молекули цитоплазматичного НАДН . Залежно від механізму надходження відбудовних еквівалентів у матрикс мітохондрій і далі в дихальний ланцюг утвориться ще 4 або 6 молекул АТФ. Таким чином, при аеробному окислюванні 1 моля глюкози клітина одержує до 38 молів АТФ, тобто значно більше, ніж при гліколізі.

Таким чином, при аеробному перетворенні глюкози у високоенергетичних зв'язках акумулюється більше 45 % вільної енергії, що виділилася.

Цикл трикарбонових кислот виявлений у тварин, рослин, мікроорганізмів. Він може протікати не тільки в аеробних, але й в анаеробних умовах, наприклад у фотосинтезуючих бактерій, однак за умови, що є присутнім підходящий акцептор водню. Анаеробні варіанти ЦТК відомі також у тваринних клітинах. При нестачі кисню в органах ссавців НАДН може витрачатися на відновлення фумарової кислоти до бурштинової. Філогенетично древні синьо-зелені водорості не мають повного циклу.

5. Порушення вуглеводного обміну

Шляхи регуляції обміну вуглеводів у край різноманітні. На будь-яких рівнях організації живого вуглеводний обмін регулюється факторами, що впливають на активність ферментів, які беруть участь у реакціях вуглеводного обміну. До цих факторів ставляться: концентрація субстратів, вміст продуктів (метаболітів) окремих реакцій, кисневий режим, температура, проникність біологічних мембран, концентрація коферментів, необхідних для окремих реакцій і т.п.

При ряді станів можна спостерігати підвищення вмісту цукру в крові - гіперглікемію, а також зниження концентрації цукру - гіпоглікемію.

Гіперглікемія є досить частим симптомом при різних захворюваннях, насамперед пов'язаних з поразкою ендокринної системи.

Цукровий діабет. У регуляції гліколізу й глюконеогенезу більшу роль грає інсулін. При недостатності інсуліну виникає захворювання, що має назву цукрового діабету. Підвищується концентрація глюкози в крові (гіперглікемія), з'являється глюкоза в сечі (глюкозурія) і зменшується вміст глікогену в печінці. При цьому м'язова тканина втрачає здатність утилізувати глюкозу крові. При введенні інсуліну хворим діабетом відбувається корекція метаболічних зрушень: нормалізується проникність мембран м'язових клітин для глюкози, відновлюється співвідношення між гліколізом і глюконеогенезом. Інсулін контролює ці процеси на генетичному рівні як індуктор синтезу ключових ферментів гліколізу: *гексокінази, фосфофруктокінази й піруваткінази.*

Гіпоглікемія

Гіпоглікемія нерідко пов'язана зі зниженням функцій тих ендокринних залоз, підвищення функції яких приводить, як це було відзначено вище, до гіперглікемії. Гіпоглікемія може виникнути також при введенні хворим цукровим діабетом більших доз інсуліну.

Глюкозурія

Найчастіше присутність глюкози в сечі (глюкозурія) є результатом розладу вуглеводного обміну на ґрунті патологічних змін у підшлунковій залозі (цукровий діабет, гострий панкреатит і т.п.). Рідше зустрічається глюкозурія ниркового походження, пов'язана з недостатністю резорбції глюкози в ниркових каналцях. Як тимчасове явище глюкозурія може виникнути при деяких гострих інфекційних і нервових захворюваннях, після приступів епілепсії, струсу мозку.

Отруєння морфіном, стрихніном, хлороформом, фосфором також супроводжуються глюкозурією. Нарешті, необхідно пам'ятати про глюкозурію аліментарного походження, глюкозурію вагітних і глюкозурію на ґрунті нервових стресових станів (емоційна глюкозурія).

Лабораторна робота № 11

ОБМІН ВУГЛЕВОДІВ

Мета: закріпити теоретичні знання з теми «Обмін вуглеводів», підтвердити експериментально перетворення глюкози гліколітичним шляхом.

Завдання: ознайомитися з сучасними методами кількісного визначення глюкози в крові тварин.

Основні теоретичні відомості

Гліколіз – це метаболічний шлях перетворення глюкози на піруват (в аеробних умовах) або на лактат (в анаеробних умовах). Анаеробний гліколіз – основний шлях

енергетичного метаболізму за відсутності кисню. Сумарний енергетичний ефект гліколізу – утворення двох молекул АТФ у розрахунку на одну молекулу глюкози.

Ферменти гліколізу містяться в цитоплазмі. Гліколіз складається з двох стадій. У результаті першої стадії – фосфорилувань – з глюкози, що є гексозою, утворюються дві фосфотріози. Одна з них – гліцеральдегід-3-фосфат – є субстратом другої стадії гліколізу, яка називається стадією гліколітичної оксидоредукції. Гліцеральдегід-3-фосфат окиснюється, відновні еквіваленти від нього та від неорганічного фосфату акцептуються коферментом НАД⁺, який переносить два атоми водню на піруват, що перетворюється в лактат.

Перебіг процесу гліколізу можна експериментально підтвердити утворенням молочної кислоти і зменшенням вмісту неорганічного фосфату в інкубаційній суміші за наявності в ній гліколітичних ферментів та субстрату – глюкози.

Концентрація глюкози в крові різних видів тварин

Вид тварин	Кількість глюкози	
	ммоль/л	мг%
Велика рогата худоба (корови)	3,3-4,4	60-80
Дрібна рогата худоба (вівці, кози)	2,2-3,33	40-60
Свині	3,33-5,55	80-100
Кролики	5,54-11,09	100-200
Коні	3,05-5,27	75-95
Собаки	3,03-4,83	60-87
Кішки	3,9-6,1	70-110
С.-г. птиця (кури, качки, гуси та ін.)	5,34-8,40	120-200

В результаті процесів гідролізу вуглеводів в шлунково-кишковому тракті в кров активно всмоктуються моносахариди, в основному – глюкоза.

Наявність глюкози в крові називається *глюкоземією*. Рівень глюкози в крові – величина постійна, яка регулюється ендокринною системою (гормонами). Підвищений рівень глюкози в крові називається *гіперглікемією*, знижений – *гіпоглікемією*.

Гіперглікемія може бути *аліментарною*, тобто не патологічною, яка виникає відразу після великого прийому з їжею вуглеводів. У цьому випадку рівень цукру знижується до норми протягом 2 годин.

Також гіперглікемія може бути *патологічною*, пов'язаною з недостатнім синтезом або не активацією основного гіпоглікемічного гормону підшлункової залози – інсуліну. В цьому випадку розвивається важке захворювання – *цукровий діабет*.

Для визначення цукру в крові запропоновано багато способів. В даний час більш розповсюдженим, зручним і інформативним у плані визначення саме рівня вмісту глюкози є *глюкозооксидазний метод*.

Питання для самопідготовки:

1. Біологічна роль вуглеводів.
2. Перетравлення вуглеводів у різних відділах шлунково-кишкового тракту тварин.
3. Основні шляхи використання глюкози в організмі.
5. Глікогенез, гліконеогенез.
6. Окиснення вуглеводів за анаеробних умов. Гліколіз та глікогеноліз. Молекулярні механізми. Біологічне призначення, енергетична ефективність.
7. Шляхи використання молочної кислоти, що виникла при анаеробному окисненні глюкози.
8. Механізм окиснювального декарбоксилування піровиноградної кислоти та інші шляхи її перетворення. Утворення та роль щавлевооцтової кислоти.
9. Цикл трикарбонових кислот: визначення, послідовність реакцій, біологічне призначення.
12. Енергетична ефективність аеробного окиснення глюкози – повного та на окремих етапах.
13. Пентозний шлях окислення глюкози і гліколіз – біологічне призначення.
14. Можливі причини порушення вуглеводного обміну.
15. Зв'язок обміну вуглеводів та інших речовин.

Вивчення процесу гліколізу в суспензії дріжджів

Матеріали та реактиви: пивні дріжджі (5 г) розтирають у фарфоровій ступці з 2–3 мл дистильованої води та невеликою кількістю скляного піску, додають 8–10 мл води та фільтрують крізь вату; фосфатний буфер 1/15 М, рН = 7,4 (9,46 г/л Na_2HPO_4 ; 10,40 г/л $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$, доводять рН до 7,4, змішуючи розчини), 1 %-й розчин глюкози, вазелінове масло, 2 %-й розчин трихлороцтової кислоти (ТХО), 1 %-й розчин FeCl_3 , 1 %-й розчин фенолу, розчин молібдату амонію (0,5 г чистого молібдату амонію розчиняють у 100 мл води, фільтрують, змішують із 100 мл 10 М розчину сірчаної кислоти), 0,1 %-й розчин аскорбінової кислоти.

В одну з пробірок (контрольна проба) відразу вносять 2 мл розчину трихлороцтової кислоти для інактивації ферментів і перемішують.

Вазелінове масло нашаровують в обидві пробірки для створення анаеробних умов. Інкубують у термостаті за температури 37 °С. Через 1 год. у пробірку з досліджуваною пробою додають 2 мл розчину трихлороцтової кислоти і перемішують. Уміст обох пробірок фільтрують, звільняючи від білка.

Після інкубації визначають утворену молочну кислоту, яка є кінцевим продуктом гліколізу, і зменшення вмісту неорганічного фосфору (використаного в реакціях фосфорилювання).

Хід роботи.

Вміст контрольної та дослідної пробірок

Вміст, мл	Пробірки	
Суспензія дріжджів	1	1
Фосфатний буфер	2	2
Розчин глюкози	2	2
Розчин ТХО	2	–
Нашаровують на вміст пробірок по 10 крапель вазелінового масла та інкубують 60 хв за температури 37 °С		
Розчин ТХО	–	2
Вмісту пробірок фільтрують		
Визначення молочної кислоти і зменшення вмісту неорганічного фосфору		

Визначення молочної кислоти в інкубаційному середовищі

Із кожної пробірки беруть по 1,0 мл розчину, додають по 5 крапель 1 %-го FeCl_3 і по 1,0 мл 1 %-го розчину фенолу. Унаслідок взаємодії феноляту заліза фіолетового кольору з молочною кислотою утворюється лактат заліза жовто-зеленого кольору.

Спостерігають появу жовто-зеленого забарвлення.

Визначення неорганічного фосфору в інкубаційному середовищі

Із кожної пробірки беруть по 1,0 мл рідини, додають по 1,0 мл молібдату амонію і спостерігають зміну кольору. Взаємодія неорганічного фосфору з молібдатом амонію зумовлює утворення в кислому середовищі амонійної солі фосфорномолібденової кислоти – $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4 \times 12 \text{MoO}_3 \times 6 \text{H}_2\text{O}$ характерного жовтого кольору.

Додають по 1 мл розчину аскорбінової кислоти. Уміст пробірок добре перемішують. Молібдат амонію внаслідок відновлення аскорбіновою кислотою перетворюється на фосфорномолібденову синь, інтенсивність забарвлення якої пропорційна вмісту фосфору в досліджуваному матеріалі.

Через 10 хв проби фотометрують із червоним світлофільтром.

Оброблення експериментальних даних

Напишіть послідовно всі реакції анаеробного гліколізу, виділіть стадії, покажіть реакції фосфорилування, субстратного фосфорилування, окисно-відновні реакції. Покажіть реакцію, у якій використовується неорганічний фосфат; утворюється лактат.

Результати експерименту занесіть до табл.

Таблиця. Визначення молочної кислоти (утворюється в ході гліколізу) та неорганічного фосфату (використовується в ході гліколізу)

Уміст пробірок	Джерело ферментів гліколізу	Субстрат	Реакція на молочну кислоту	Інтенсивність реакції на Р
Контроль	Дріжджі	Глюкоза		
Дослід	Дріжджі	Глюкоза		

Контрольні запитання та завдання

1. Напишіть реакцію утворення феноляту заліза, лактату заліза.
2. Поясніть принцип визначення неорганічного фосфату.
3. Поясніть необхідність розтирання дріжджів із скляним піском.
4. Поясніть відмінність між аеробним та анаеробним гліколізом. Якою реакцією вони розрізняються?

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ПІДТВЕРДЖЕННЯ ФУНКЦІОНУВАННЯ ЦИКЛУ ТРИКАРБОНОВИХ КИСЛОТ

Дослідження функціонування ЦТК мітохондрій за швидкістю утворення CO₂ та вплив малонової кислоти на цей процес.

Принцип методу. Перетворення ацетил-S-CoA в присутності мітохондрій, що містять ферменти ЦТК, супроводжується виділенням CO₂. В якості джерела ацетил-S-CoA, що вступає в ЦТК, використовують піровиноградну кислоту (ПВК), яка під дією мультиферментного піруватдегідрогеназного комплексу мітохондрій піддається окисному декарбоксилуванню з утворенням ацетил-S-CoA. Якщо блокувати ЦТК малонатом (малоною кислотою), то CO₂ не утворюється і бульбашки газу не виділяються. Малонат є класичним конкурентним інгібітором сукцинатдегідрогенази – ферменту ЦТК, оскільки зв'язується з її активним центром

та перешкоджає приєднанню субстрату – сукцинату (бурштинової кислоти).

Для зв'язування утвореного CO_2 в інкубаційне середовище додають $\text{Ca}(\text{OH})_2$. Після закінчення інкубації зв'язаний CO_2 виявляють за виділенням бульбашок газу, що утворюються після додавання до інкубаційного середовища сульфатної кислоти.

Матеріали та реактиви: фосфатний буфер $\text{pH} = 7,4$, розчин пірувату натрію, маленова кислота, фізіологічний розчин, розчин $\text{Ca}(\text{OH})_2$, суспензія мітохондрій, $0,1 \text{ M}$ розчин H_2SO_4 , термостат, штатив із пробірками, піпетки

Хід роботи. Три пробірки – контрольну, дослідну № 1 та дослідну № 2 заповнюють реактивами за таблицею:

Вміст пробірок	Пробірки		
	Контроль	Дослід № 1	Дослід № 2
Фосфатний буфер, $\text{pH} = 7,4$, мл	2,0	2,0	2,0
Розчин пірувату натрію, мл	0,5	0,5	0,5
Маленова кислота, мл	–	–	0,5
Фізіологічний розчин, мл	0,5	0,5	–
Розчин $\text{Ca}(\text{OH})_2$, мл	0,5	0,5	0,5
Суспензія мітохондрій, мл	–	0,5	0,5
Суспензія мітохондрій після кип'ятіння мл	0,5	–	–
Інкубація в термостаті: 15 хв. при температурі 37°C			
$0,1 \text{ M}$ розчин H_2SO_4 , мл	1,0	1,0	1,0
Результати: виділення бульбашок CO_2			

Всі пробірки поміщають у термостат на 15 хв при 37°C . Після інкубації в кожну пробірку додають по 1,0 мл $0,1 \text{ M}$ розчину H_2SO_4 і спостерігають за вивільненням бульбашок CO_2 . За результатами проведеного експерименту зробити висновки.

Дослідження функціонування ЦТК мітохондрій за швидкістю утворення атомів водню та вплив маленової кислоти на цей процес

Принцип методу. При окисненні ацетил-S-КоА в ЦТК вивільняється водень, який відновлює метиленову синьку та перетворює її на безбарвну лейкосполуку.

Час, впродовж якого відбувається знебарвлення розчину, є показником інтенсивності перебігу ЦТК у мітохондріях. При блокуванні ЦТК малонатом вивільнення водню не відбувається і метиленова синька не знебарвлюється.

Матеріальне забезпечення: фосфатний буфер рН = 7,4, розчин пірувату натрію, малонова кислота, фізіологічний розчин, розчин метиленової синьки, суспензія мітохондрій, термостат, штатив із пробірками, піпетки.

Хід роботи. Три пробірки – контрольну, дослідну № 1 та дослідну № 2 заповнюють реактивами за таблицею:

Вміст пробірок	Пробірки		
	Контроль	№1	№ 2
Фосфатний буфер, рН = 7,4, мл	2,0	2,0	2,0
Розчин пірувату натрію, мл	0,5	0,5	0,5
Малонова кислота, мл	–	–	0,5
Фізіологічний розчин, мл	0,5	0,5	–
Суспензія мітохондрій, мл	–	0,5	0,5
Суспензія мітохондрій після кип'ятіння	0,5 мл	–	–
Розчин метиленової синьки, мл	0,5	0,5	0,5
Інкубація в термостаті при температурі 37 °С			
Час знебарвлення розчину			

За результатами проведеного експерименту зробити висновки.

Значення. Багато речовин, у тому числі і лікарські засоби, можуть змінювати енергетику клітин, інтенсивність окиснювального фосфорилування – утворення АТФ. Їх можна поділити на активатори та інгібітори енергетичного обміну. До активаторів належать метаболіти ЦТК (цитратна, яблучна, бурштинова кислоти) та низка інших сполук (глюкоза, амінокислоти тощо), тому вони знайшли застосування у якості лікарських засобів.

Цитратну кислоту у вигляді солі (цитрат натрію) використовують в якості препарату, який запобігає згортанню крові.

Контрольні запитання та завдання

1. Яка внутрішньоклітинна локалізація ферментів ЦТК?

2. Поясніть будову та функції мітохондрій.
3. Наведіть визначення лімітуючої реакції метаболічного процесу. Назвіть лімітуючу реакцію ЦТК.
4. Які вітаміни необхідні для функціонування ЦТК?

ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ З РОЗДІЛУ «ОБМІН ВУГЛЕВОДІВ»

- 1. Які моносахариди утворюються при кислотному гідролізі лактози:**
 - А. Два залишки D-глюкози;
 - Б. α -D-глюкоза і β -D-галактоза;
 - В. D-глюкоза і D-фруктоза;
 - Г. D-глюкоза і D-маноза;
 - Д. Два залишки D-манози.
- 2. Який моносахарид є продуктом повного гідролізу глікогену:**
 - А. D-фруктоза;
 - Б. Глюкозо-1-фосфат;
 - В. Глюкозо-6-фосфат;
 - Г. D-глюкоза.
- 3. Який моносахарид утворюється при повному гідролізі целюлози:**
 - А. β -D-глюкоза;
 - Б. α -D-глюкоза;
 - В. D-фруктоза;
 - Г. D-галактоза.
- 4. При повному гідролізі крохмалю утворюється:**
 - А. Амілоза;
 - Б. Фруктоза;
 - В. Глюкоза;
 - Г. Рибоза;
 - Д. Глюкозо-1-фосфат.
- 5. Яка кількість макроергічних зв'язків утворюється при окисненні молекули D-глюкози до лактату:**
 - А. Три;
 - Б. Чотири;
 - В. Два;
 - Г. Шість.
- 6. Що таке ефект Пастера:**
 - А. Зниження засвоєння глюкози і припинення накопичення лактату у зв'язку з початком дихання - гальмування гліколізу диханням;

- Б. Гальмування окислення D-гліцеральдегід-3-фосфату синільною кислотою;
В. Гальмування процесу окислювального фосфорилювання на рівні субстрату при гліколізі.
- 7. Реакція: АТФ + глюкоза → АДФ + глюкозо-6-фосфат здійснюється за участю:**
- А. Альдолази;
 - Б. Фосфоглюко-мутази;
 - В. Фосфорилази;
 - Г. Фруктокінази;
 - Д. Глюкокінази.
- 8. Для перетворення фруктозо-6-фосфату в фруктозо-1,6-дифосфат, крім відповідного ферменту, необхідні:**
- А. АДФ;
 - Б. НАДФ;
 - В. Коензим А;
 - Г. АТФ;
 - Д. Фруктозо-1-фосфат.
- 9. На якому етапі в циклі Кребса синтезується ГТФ при перетворенні:**
- А. Цитрату в цис-аконітат;
 - Б. β -кетоглутарату в сукцинат;
 - В. Сукцинату в фумарат;
 - Г. Малату в оксалоацетат.
- 10. Який кінцевий продукт утворюється при окиснювальному декарбоксілюванні пірувату в аеробних умовах:**
- А. Цитрат;
 - Б. β -кетоглутарат;
 - В. Ацетилфосфат;
 - Г. Ацетил-КоА;
 - Д. Пропіонат.
- 11. В результаті якої реакції утворюється у пентозофосфатному шляху седогептулозо-7-фосфат і D-гліцеральдегід-3-фосфат із рибозо-5-фосфату і ксилулозо-5-фосфату:**
- А. Трансамінування;
 - Б. Трансглікозилювання;
 - В. Трансальдолазна реакція;
 - Г. Транскетолазна реакція;
 - Д. Транс-фосфорилювання.
- 12. Яка основна функція циклу трикарбонових кислот (ЦТК):**

- А. Окиснення ацетил-КоА з утворенням двох молекул CO_2 , моля ГТФ (АТФ), 3 НАД $\cdot\text{H}_2$ (або 2 НАД $\cdot\text{H}_2$ і НАДФ $\cdot\text{H}_2$) і ФАД $\cdot\text{H}_2$;
- Б. Окиснення ацетону до CO_2 і H_2O ;
- В. Окиснення пірувату до CO_2 і H_2O ;
- Г. Окиснення лактату до CO_2 і H_2O з виділенням енергії.
- 13. Що є кінцевим продуктом гліколізу:**
- А. Піруват;
- Б. Лактат;
- В. Піруват і лактат;
- Г. Етанол і CO_2 ;
- Д. Пропіонат.
- 14. Який із перерахованих ферментів каталізує реакцію біосинтезу глікогену:**
- А. α -1,6-глюкозидаза;
- Б. Глікоген-фосфорилаза;
- В. Глікогенсинтаза;
- Г. Глікоген-фосфорилаза і фосфоглюкомутаза.
- 15. Який фермент каталізує розщеплення фруктозо-1,6-дифосфату на дві тріози:**
- А. Тріозофосфатізомераза;
- Б. Альдолаза;
- В. Гексокіназа;
- Г. Фосфо-фруктокіназа.
- 16. Який фермент каталізує перетворення ПВК у молочну кислоту:**
- А. Лактатдегідрогеназа;
- Б. Сукцинатдегідрогеназа;
- В. Піруватдегідрогеназа;
- Г. Малатдегідрогеназа;
- Д. Ізоцитратдегідрогеназа.
- 17. Які ферменти шлунково-кишкового тракту приймають участь в перетворенні глікогену і крохмалю до молекул глюкози:**
- А. β -амілаза;
- Б. α -амілаза, мальтаза;
- В. α -амілаза;
- Г. Всі перераховані.
-

РОЗДІЛ 12

ОБМІН ЛІПІДІВ

ПЛАН

1. Обмін ліпідів - β -окислювання жирних кислот.
2. Біосинтез жирних кислот і тригліцеридів
3. Регуляція ліпідного обміну

1. Обмін ліпідів - β -окислювання жирних кислот.

Теорія окислювання жирних кислот у тканинах була висунута вперше Францем Кноопом в 1904 р. і названа теорією β -окислювання, тому що окислювання жирної кислоти відбувається біля β -вуглецевого атома.

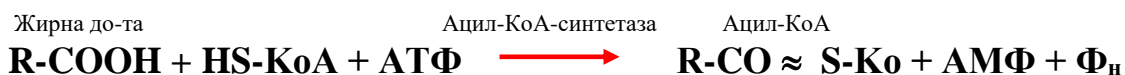
Ф. Кнооп висловив припущення, що окислювання молекули жирної кислоти в тканинах організму відбувається в β -положенні; в результаті відбувається послідовне відсікання від молекули жирної кислоти двувуглецевих фрагментів з боку карбоксильної групи.

Жирні кислоти, що входять до складу природних жирів тварин і рослин, належать до ряду з парним числом вуглецевих атомів. Будь-яка така кислота, відщеплюючи по парі вуглецевих атомів, зрештою проходить через стадію масляної кислоти, що після чергового β -окислювання повинна дати ацетооцтову кислоту. Остання потім гідролізується до двох молекул оцтової кислоти.

Встановлено, що окислювання жирних кислот у клітинах відбувається в мітохондріях при участі мультиферментного комплексу. Відомо також, що жирні кислоти спочатку активуються при участі АТФ і HS-КоА. Процес окислювання жирних кислот складається з наступних основних етапів.

Активация жирних кислот і їхнє проникнення із цитоплазми в мітохондрії.

1. Утворення «активної форми» жирної кислоти (ацил-КоА) з КоА та жирної кислоти є процесом, що протікає за рахунок використання енергії АТФ:

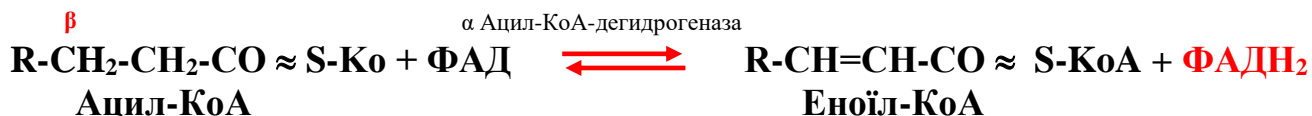


2. Ацил-КоА, з'єднуючись із карнітином, при участі специфічного цитоплазматичного ферменту (ацил-КоА-трансферази) утворює ацилкарнітин який має здатність проникати усередину мітохондрії.

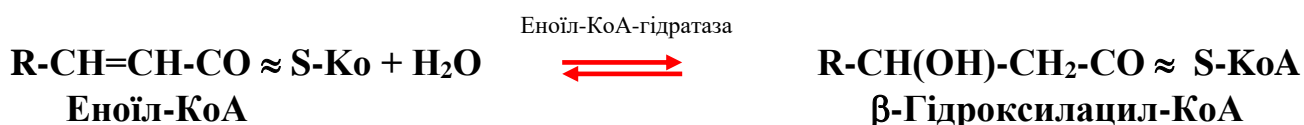
3. Після проходження ацилкарнітину через мембрану мітохондрії відбувається зворотна реакція - розщеплення ацилкарнітину при участі HS-КоА й

мітохондріальної *карнітин-ацил-КоА-трансферази*. При цьому карнітин вертається в цитоплазму клітини, а ацил-КоА піддається в мітохондріях окислюванню.

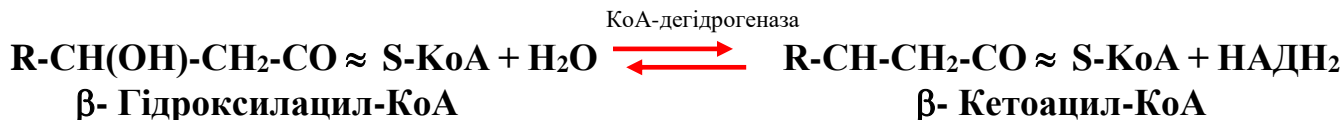
4. Перша стадія дегідрування. Ацил-КоА в мітохондріях насамперед піддається ферментативному дегідруванню, при цьому ацил-КоА втрачає два атоми водню в α - і β -положенні, перетворюючись у КоА-ефір ненасиченої кислоти (еноїл-КоА):



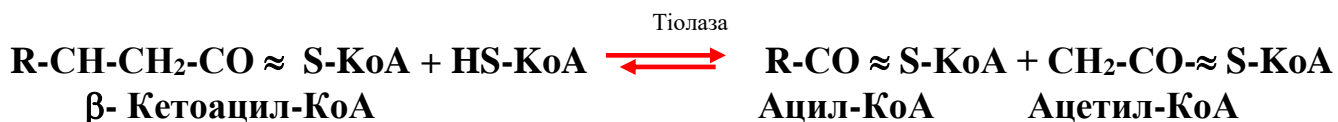
5. Ненасичений ацил-КоА (еноїл-КоА) при участі ферменту еноїл-КоА-гідратази приєднує молекулу води. У результаті утвориться β -гідроксиацил-КоА:



6. Друга стадія дегідрування. β -гідроксиацил-КоА, що утворився, потім дегідрується з утворенням β -кетואцил-КоА. Цю реакцію каталізують НАД-залежні *дегідрогенази*. Реакція протікає за наступним рівнянням:



7. Тіолазна реакція. У цій реакції β -кетואцил-КоА взаємодіє з КоА. У результаті відбувається розщеплення β -кетואцил-КоА й утвориться вкорочений на два вуглецевих атоми ацил-КоА й двувуглецевий фрагмент у вигляді ацетил-КоА. Дана реакція каталізується ацетил-КоА-*ацилтрансферазою* (або *тіолазою*):



Ацетил-КоА, який утворився піддається окислюванню в циклі трикарбонових кислот (циклі Кребса), а ацил-КоА, що вкоротився на два вуглецевих атоми, знову багаторазово проходить весь шлях β -окислювання.

Баланс енергії. При кожному циклі β -окислювання утворюється 1 молекула ФАДН₂ і 1 молекула НАДН₂. Останні в процесі окислювання в дихальному ланцюзі й сполученого з ним фосфорилування дають: ФАДН₂ - дві молекули АТФ і – три молекули АТФ, тобто в сумі за один цикл утвориться 5 молекул АТФ. У випадку окислювання пальмітинової кислоти проходить 7 циклів β -окислювання, що веде до утворення $5 \times 7 = 35$ молекул АТФ. У процесі β -окислювання пальмітинової кислоти утвориться крім того 8 молекул ацетил-КоА,

кожна з яких, згоряючи в циклі трикарбонних кислот, дає 12 молекул АТФ, а 8 молекул дадуть $12 \times 8 = 96$ молекул АТФ.

Таким чином, усього при повному окислюванні пальмітинової кислоти утвориться $35 + 96 = 131$ молекула АТФ. Однак з урахуванням однієї молекули АТФ, витраченої на самому початку на утворення активної форми пальмітинової кислоти (пальмітоїл-КоА), загальний енергетичний вихід при повному окислюванні однієї молекули пальмітинової кислоти в умовах тваринного організму складе **130** молекул АТФ (помітимо, що при повному окислюванні однієї молекули глюкози утвориться лише 36 молекул АТФ).

Виходить, що приблизно 45 % всієї потенційної енергії пальмітинової кислоти при її окислюванні в організмі може бути використане для ресинтезу АТФ, а частина, що залишилася, мабуть, губиться у вигляді тепла.

Окислювання ненасичених жирних кислот

Окислювання ненасичених жирних кислот у принципі відбувається так само, як і окислювання насичених жирних кислот. Однак тут є деякі особливості. Подвійні зв'язки природних ненасичених жирних кислот мають *цис-конфігурацію*, а в КоА-ефірах ненасичених кислот, що є проміжними продуктами при β -окислюванні насичених жирних кислот, подвійні зв'язки мають *транс-конфігурацію*.

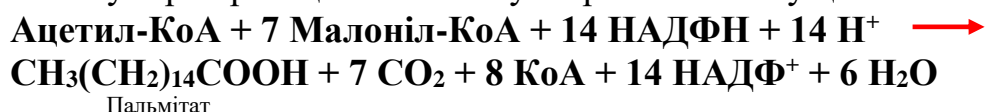
Виявилося, що в тканинах існує фермент, що змінює конфігурацію подвійного зв'язку із *цис-* у *транс-*. Цей фермент одержав назву *цис-транс-еноїл-КоА-ізомерази*.

2. Біосинтез жирних кислот

Синтез насичених і мононенасичених жирних кислот легко відбувається в будь-якому живому організмі. Основним місцем їхнього синтезу на відміну від окислювання, локалізованого тільки в мітохондріях, є цитоплазма. У мітохондріях же в основному відбувається подовження існуючих ланцюгів жирних кислот. Сировиною для біосинтезу служить ацетил-КоА. У якості відновника в біосинтезі жирних кислот витрачається НАДФН, що утвориться в пентозофосфатному циклі.

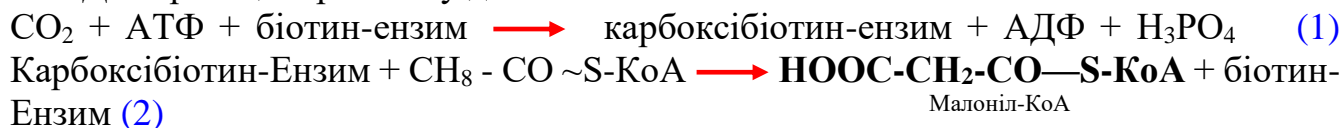
Основний шлях біосинтезу жирних кислот, що протікає у цитоплазмі, каталізується особою синтетазною системою, що складається з 7 ферментів. Кінцевий продукт цього шляху - пальмітинова кислота, що представляє собою джерело всіх інших насичених жирних кислот ссавців і всіх жирних кислот мікроорганізмів.

Сумарна реакція біосинтезу жирних кислот у цитоплазмі має такий вигляд:



Найважливішим кроком у розумінні процесу синтезу жирних кислот було відкриття ферменту *ацетил-КоА-карбоксилази*. Цей складний фермент, що містить біотин, каталізує АТФ-залежний синтез малоніл-КоА ($\text{HOOC-CH}_2\text{-CO}\sim\text{S-CoA}$) з ацетил-КоА й CO_2 .

Дана реакція протікає у два етапи:



Малоніл-КоА являє собою перший специфічний продукт біосинтезу жирних кислот. Він швидко перетворюється в жирні кислоти.

В останні роки було з'ясовано, що в процесі біосинтезу жирних кислот особливу роль грає специфічний білок, що одержав назву ацилпереносного білка, скорочено HS-АПБ.

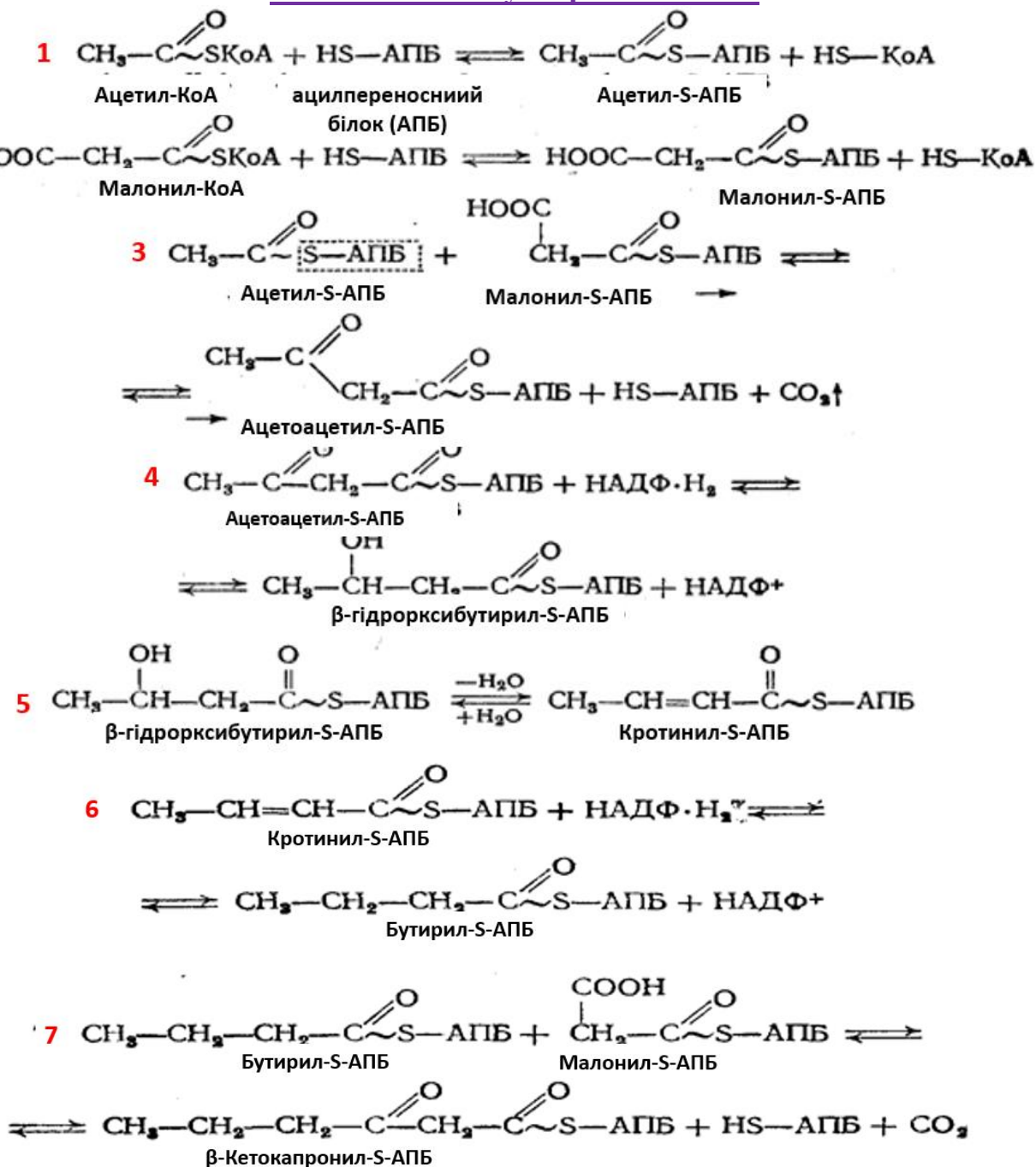
Він виконує функцію переносника ацильних груп замість ацетил-КоА.

Після утворення бутирил-S-АПБ із чотирма С-атомами процес повторюється із приєднанням малоніл-S-АПБ, утворенням β -кетокапроніл-S-АПБ, HS-АПБ і CO_2 .

Такий шлях біосинтезу буде протікати доти, поки не сформується жирна кислота, характерна для ліпідів даної тканини.

Встановлено, що біосинтез жирних кислот відокремлений від їхнього розпаду. Якщо синтез жирних кислот відбувається в цитоплазмі, в ендоплазматичних мембранах - мікосомах, та розпад їх - у мембранах мітохондрій.

Схема біосинтезу жирних кислот:



БІОСИНТЕЗ ТРИГЛЦЕРИДІВ

Біосинтез тригліцеридів протікає в мікросомах.

Біосинтез тригліцеридів здійснюється у всіх тканинах при наявності гліцерину й вищих жирних кислот. Гліцерин у тканинах може виникнути при відновленні

тріозофосфатів - продуктів розпаду вуглеводів. Ця обставина є доказом того, що між обміном вуглеводів і ліпідів є тісний зв'язок.

Фосфатидна кислота є попередником у біосинтезі як гліцеридів, так і фосфатидів; все залежить від потреби клітин у даний відрізок часу. Фосфатидна кислота під впливом ферменту *фосфогідролази* втрачає фосфорну кислоту й перетворюється у відповідний дигліцерид, що надалі може взаємодіяти з молекулою жирної кислоти й перетворитися в тригліцерид, а при взаємодії з азотистими основами (холіном) і етаноламіном, серіном і інозитом - у відповідні фосфати.

3. Регуляція ліпідного обміну

Ліпідний обмін, як і інші, перебуває під регулюючим впливом центральної нервової й ендокринної систем. Особливо важливу роль в обміні ліпідів грають гіпофіз, статеві залози, наднирники, щитовидна й підшлункова залози.

Доказом того, що статеві залози відіграють важливу роль у ліпідному обміні, служать досліди з видаленням статевих залоз (кастрація). У цьому випадку настає порушення «згоряння» (окислювання) ліпідів, наслідком чого є ожиріння.

При порушенні функції гіпофіза відбувається відкладення жиру в підшкірній клітковині в області живота й тазового поясу, відоме за назвою гіпофізарного ожиріння.

Гіпофізарне ожиріння є наслідком недостатньої продукції гормонів поліпептидної природи. Адренкортикотропний, тиреотропний і соматотропний гормони в нормальних умовах володіють жиромобілізуючою властивістю, у результаті чого в жировій тканині підсилюється розпад тригліцеридів і в кров надходить велика кількість вільних неестерифікованих жирних кислот (НЭЖК). Жиромобілізуючі гормони по своїй ефективності розташовуються в наступному порядку: АКТГ, ТТГ, СТГ. Крім того, гіпофіз виробляє гормон *ліпометронін*, що містить 59 амінокислотних залишків, - *адипозин*, що підсилює ліполіз жиру в тканинах і запобігає гіпофізарному ожирінню.

Гіперфункція щитовидної залози викликає різке схуднення внаслідок посиленого згоряння жирів в організмі, а підшлункова залоза виділяє в нормі *ліпокаїнову субстанцію*, що виконує аналогічну функцію.

Інсулін підсилює біосинтез жиру, впливаючи на розпад глюкози в жировій тканині. Активуючи *гексокіназу*, він прискорює процес утворення глюкозо-6-фосфату, що буде розпадатися як по пентозному циклу з утворенням НАДФ-Н₂, так і по гліколітичному шляху, перетворюючи глюкозу в гліцериновий альдегід, з якого легко виникає гліцерин. Таким чином, буде підсилюватися й біосинтез ліпідів. Звідси можна сказати, що інсулін є антагоністом гормонів гіпофіза відносно розпаду жирів у тканинах.

Андрогени - гормони чоловічих половых залоз підсилюють розпад ліпідів і гальмують перетворення вуглеводів у жири. При недостатній функції чоловічих статевих залоз може наступити надлишкове відкладення жиру. Аналогічна картина відзначається й відносно жіночих гормонів, коли при зниженні функції статевих залоз у певні вікові періоди (клімактеричний період) активуються процеси синтезу. Тому заняття фізичною працею й спортом у певні вікові періоди вкрай важливі й корисні.

У порушеннях ліпідного обміну є причини й аліментарний характер. Якщо в їжі міститься мало деяких амінокислот, зокрема метіоніну, що є ліпотропним фактором, то буде відбуватися повільне згоряння жирів. Надлишкове надходження вуглеводів з їжею й малою рухливістю людини сприяють відкладенню жиру в організмі. Необхідно пам'ятати, що під час фізичного навантаження відбувається швидке згоряння жиру, тому фізична культура, спорт і фізична праця є потужними факторами в попередженні ожиріння.

Дослідженнями останнього років встановлено, що ацетил-КоА в різних тканинах дає початок численним біологічним сполукам, з яких утворюються жирні кислоти, тригліцериди, фосфатиди, холестерол, цереброзиди й інші сполуки. Це видно із представленої схеми:



Таким чином, ліпіди – це нерозчинні у воді органічні речовини, які можна витягти з клітин тільки органічними розчинниками. Хімічно дуже різноманітна група, але практично всі є складними ефірами жирних кислот і якого-небудь спирту. Більша частина ліпідів клітини - це складні ефіри органічних кислот і спирту гліцеролу (гліцерину). Всі групи ліпідів є висококалорійними джерелами енергії клітини.

Лабораторна робота № 12

ОБМІН ЛІПІДІВ

Мета: закріпити знання про обмін ліпідів, енергетичну ефективність окиснення жирів, молекулярні механізми синтезу жирних кислот, жирів, гліцерофосфатидів та деяких сторонах порушення молекулярних механізмів обміну карбонових кислот.

Завдання: засвоїти напівкількісні експрес-методи визначення кетонових тіл в молоці, сечі, сироватці крові.

Питання для самопідготовки:

1. Хімічна будова і біологічна роль ліпідів (жирів, фосфоліпідів, стеролів, гліколіпідів).
2. Перетравлення ліпідів у різних відділах шлунково-кишкового тракту, роль у цьому процесі жовчних кислот.
3. Засвоєння продуктів перетравлення ліпідів.
4. Гідроліз жирів у тканинах і подальше використання продуктів гідролізу.
5. Окиснення карбонових кислот. β -Окиснення та окиснення в циклі трикарбонових кислот. Енергетичний ефект.
6. Як розрахувати кількість АТФ, яка утворюється при повному окисненні тригліцеридів (на прикладі трипальмітату, тристеарату).
7. Кетонові тіла – місце та механізм утворення, використання в організмі.
8. Порушення утворення і використання кетонових тіл. Причини і наслідки. Кетонемія, кетонурія.
9. Роль вуглеводів в обміні жирів.
10. Біосинтез жирних кислот.
16. Особливості окиснення ненасичених карбонових кислот.

Жовчні кислоти відіграють важливу роль в процесах травлення і всмоктування ліпідів: емульгування жирів, активація панкреатичної ліпази, утворення змішаних транспортних міцел.

У нормі жовчні кислоти підлягають ентерогепатичній циркуляції і виводяться з організму через кишечник. Нормальна сеча, як правило, їх не містить. При механічній жовтяниці жовчні кислоти з'являються в сечі і їх кількість збільшується, якщо закупорка жовчних проток триває протягом більш значного проміжку часу. Жовчні кислоти в сечі можуть виявлятися і при паренхіматозній (вірусній) жовтяниці.

1. Виявлення жовчних кислот у сечі

1.1. Проба Гея

Принцип методу. Жовчні кислоти мають властивість знижувати поверхневий натяг сечі.

Хід роботи.

1. У склянку налити 20-30 мл сечі.
2. На її поверхню просіяти через марлю тонко подрібнений порошок сірки.
3. Спостерігати як швидко осяде порошок на дно склянки.

За відсутності жовчних кислот у сечі сірка залишиться на поверхні сечі навіть при струшуванні склянки.

Проба стає позитивною при концентрації жовчних кислот і їх солей в сечі вище 0,01 %.

1.2. Реакція Петенкофера

Принцип методу. При взаємодії жовчних кислот з оксиметилфурфуролом утворюються продукти їх конденсації, що обумовлює червоно-фіолетове забарвлення. Оксиметилфурфурол утворюється з фруктози (сахарози) при взаємодії її з концентрованою сульфатною кислотою.

Хід роботи.

1. На чашку Петрі наносять 2-3 краплі сечі.
2. Додають 2 краплі 10 % розчину сахарози і ретельно перемішують скляною паличкою.
3. Додають 7 крапель концентрованої сульфатної кислоти і знову перемішують.
4. Через кілька хвилин спостерігають появу червоного забарвлення, яке при стоянні переходить у червоно-фіолетове.

Спостереження і висновки:

Ліпіди крові представлені холестеролом, його ефірами і фосфатидами. Виділення всіх цих речовин з крові засновано на їх розчинності в органічних розчинниках.

Порушення вуглеводного обміну (цукровий діабет) і супроводжується порушенням обміну жирів, що веде до утворення кетонових тіл. Тому при появі глюкозурії (присутності цукру в сечі) або гіперглікемії виникає необхідність визначення кетонових тіл (ацетону, ацетооцтової і β -гідроксимасляної кислот) в сечі. Глюкозурія без ацетонурії можлива при підвищеному вживанні в їжу вуглеводів, ацетонурія без глюкозурії – при голодуванні.

Підвищені показники можуть виникати при: кетозі, голодуванні, кахексії, токсичній диспепсії, передпологових токсикозах, гіпотонії, атонії передшлунків, тимпанії рубця, лейкозі.

2. Якісні реакції на ацетоніві (кетоніві тіла)

2.1. Реакція Лібена

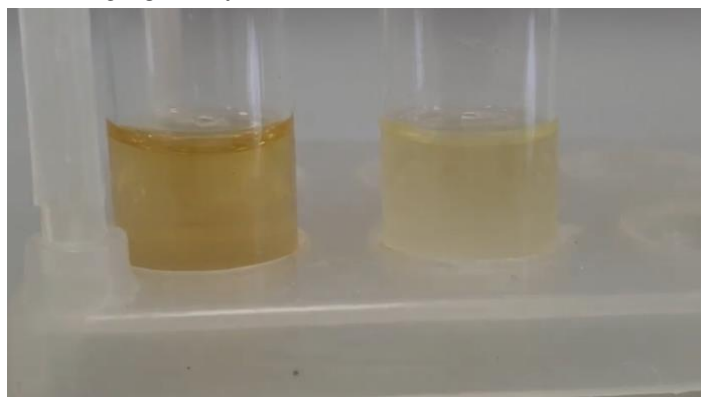
Хід роботи.

1. До 1-2 мл розчину сечі (патологічної) додати 5-6 крапель 10 % розчину NaOH.

2. Додати кілька крапель розчину Люголя.

3. За запахом виявити наявність йодоформу.

Спостереження і висновки:



2.2. Реакція Легаля

Хід роботи.

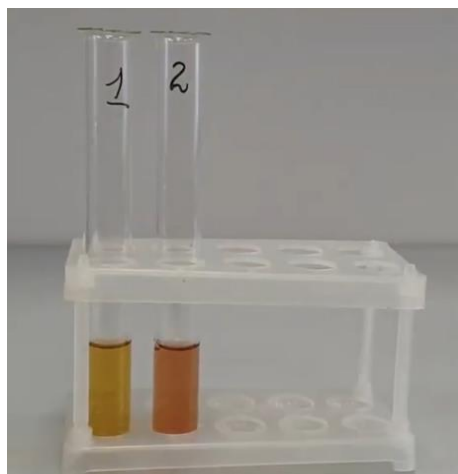
1. До 1-2 мл розчину сечі (патологічної) додати 5-6 крапель 10 % розчину NaOH.

2. Додати кілька крапель нітропрусиду натрію.

3. Спостерігати появу або відсутність червоного забарвлення, яке свідчить про наявність ацетону.

Інтенсивність забарвлення посилюється від додавання оцтової кислоти.

Спостереження і висновки:

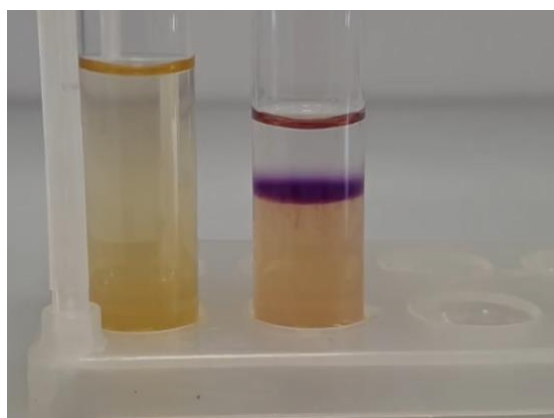


2.3. Проба Ланге

Хід роботи.

1. До 1-2 мл розчину сечі (патологічної) додати 0,5 мл концентрованої оцтової кислоти.
2. Додати кілька крапель нітропрусиду натрію.
3. Перемішати і обережно напарувати 1-2 мл 30 % розчину NaOH.
4. На межі розділу двох рідин спостерігаємо утворення червоно-фіолетового кільця.

Спостереження і висновки:



3. Експрес-метод напівкількісного визначення кетонових тіл в крові, сечі і молоці

Принцип методу. Ацетон та ацетооцтова кислота з нітропрусидом натрію в лужному середовищі утворюють комплексну сполуку, яка забарвлена в рожево-фіолетовий колір. Час появи забарвлення залежить від кількості кетонових тіл.

3.1. Визначення ацетону і ацетооцтової кислоти

Хід роботи.

1. На 3 предметних скла наносять 0,1-0,2 г сухого реактиву на кетоніві тіла.
2. У 1-ю пробу додають 2-3 краплі сироватки крові, в 2-у пробу – 2-3 краплі сечі, в 3-ю – 2-3 краплі молока.

Оцінка отриманого результату. Якщо рожево-фіолетове забарвлення виникає негайно – в пробі 50-80 мг% кетонових тіл і більше; через одну хвилину – 30-50 мг%; слабке забарвлення через 3 хвилини – 10-30 мг% кетонових тіл; через 5 хвилин – до 10 мг%.

Після якісної оцінки концентрації кетонових тіл пробу розводять дистильованою водою у співвідношенні 1:3, 1:4, 1:5, 1:6 і т.п. з таким розрахунком,

щоб при остаточному розведенні проби в ній орієнтовно містилося 10 мг% кетонівих тіл.

Слід пам'ятати, що реакція на ацетооцтову кислоту в пробі втричі чутлива, ніж на ацетон.

Спостереження і висновки:



ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ З РОЗДІЛУ « ОБМІН ЛІПІДІВ »

- 1. В результаті дії яких ферментів утворюються вільні жирні кислоти:**
 - А. Фосфоліпаз;
 - Б. Ацетилхолінестерази;
 - В. Неспецифічної естерази;
 - Г. Ліпази;
 - Д. Аліестерази.
- 2. Під впливом яких сполук відбувається емульгування жиру в кишечнику:**
 - А. Ненасичених жирних кислот;
 - Б. Насичених жирних кислот;
 - В. Фосфатів;
 - Г. Жовчевих кислот;
 - Д. Бікарбонатів.
- 3. Жовчеві кислоти у складі жовчі знаходяться у кон'югованому стані з:**
 - А. Холестерином;
 - Б. Білірубіном;
 - В. Гліцином і аланіном;
 - Г. Гліцином і таурином;
 - Д. Таурином і валіном.
- 4. Яка кислота належить до жовчевих:**
 - А. Арахідонова;
 - Б. Лінолева;

- В. Холева;
- Г. Олеїнова;
- Д. Ліноленова.

5. Жовчеві кислоти є продуктом обміну:

- А. Фосфоліпідів;
- Б. Гліколіпідів;
- В. Холестерину;
- Г. Тригліцеридів;
- Д. Глікогену.

6. В яких клітинних компонентах відбувається окиснення жирних кислот:

- А. В ядрі;
- Б. В мітохондріях;
- В. В рибосомах;
- Г. В мікросомах;
- Д. В цитоплазмі.

7. Які низькомолекулярні азотисті основи приймають участь в перенесенні залишку жирної кислоти через мембрану мітохондрій:

- А. Карнозин;
- Б. Карнітин;
- В. Креатинін;
- Г. Анзерин.

8. Яку назву мають ферменти, що каталізують утворення КоА- ефірів жирних кислот:

- А. Ацилтрансфераза;
- Б. Ацетил-КоА-синтетаза;
- В. Тіокіназа жирних кислот;
- Г. Ацил-КоА-дегідрогеназа;
- Д. β -кетотіолаза.

9. Які шляхи окиснення жирних кислот, крім β -окиснення, відбуваються в живих клітинах:

- А. Окиснювальне фосфорилування;
- Б. α -окиснення;
- В. ω -окиснення

10. Яка сполука є продуктом першої реакції β -окиснення жирних кислот:

- А. Ацетил-КоА;
- Б. Ацил-КоА;
- В. Ацето-ацетат;
- Г. Сукциніл-КоА;
- Д. Гліцерофосфат.

11. Яка сполука є кінцевим продуктом розпаду вищих жирних кислот:
- А. α -гліцеролфосфат;
 - Б. β -гідрокси-бутират;
 - В. Ацетил-КоА;
 - Г. Метилмалоніл-КоА;
 - Д. Ацил-КоА.
12. Скільки молекул ацетил-КоА утворюється в результаті β - окиснення стеаринової кислоти:
- А. 8;
 - Б. 9;
 - В. 9;
 - Г. 10;
 - Д. 7.
13. Яку назву має мультиферментний комплекс, здатний здійснювати весь цикл реакцій біосинтезу вищих жирних кислот:
- А. Ацетил-КоА-карбоксилаза;
 - Б. Гідратаза вищих жирних кислот;
 - В. Ацил-трансфераза;
 - Г. Трансацилаза;
 - Д. Синтетаза вищих жирних кислот.
14. В якій реакції використовується CO_2 при біосинтезі вищих жирних кислот:
- А. Синтезу ацетил-КоА із одновуглецевих фрагментів;
 - Б. АТФ-залежного синтезу малоніл-КоА із ацетил-КоА;
 - В. Утворення пірувату;
 - Г. Перетворення малоніл-КоА в β -кетобутирил-КоА;
 - Д. Переходу β -кетואцилпохідних в β -гідроксиацил похідні.
15. Що є джерелом НАДФН₂ для синтезу жирних кислот:
- А. Окиснення цитоплазматичного глюкозо-6-фосфату пентозофосфатним шляхом;
 - Б. Окиснення малату до пірувату і CO_2 ;
 - В. Фотоокиснення НАДФ • Н₂ в листях рослин.
16. Яка сполука є попередником для всіх фосфогліцеридів:
- А. Фосфатидна кислота;
 - Б. Діацилгліцерол;
 - В. Фосфатидилгліцерол;
 - Г. Цитидиндифосфатидилгліцерол;
 - Д. Дигідроксиацетонфосфат.
17. Попередником яких сполук є ацетил-КоА:

- А.** Гліцеролу;
- Б.** Жирних кислот;
- В.** Стероїдів;
- Г.** Терпенів;
- Д.** Інозиту.

РОЗДІЛ 13

ОБМІН НУКЛЕЇНОВИХ КИСЛОТ

ПЛАН

1. Синтез і розпад компонентів нуклеїнових кислот (пуринових і піримідинових основ).
2. Механізм біосинтезу ДНК. Реплікаційна вилка і її робота.
3. Біосинтез РНК.

1. Синтез і розпад компонентів нуклеїнових кислот (пуринових і піримідинових основ)

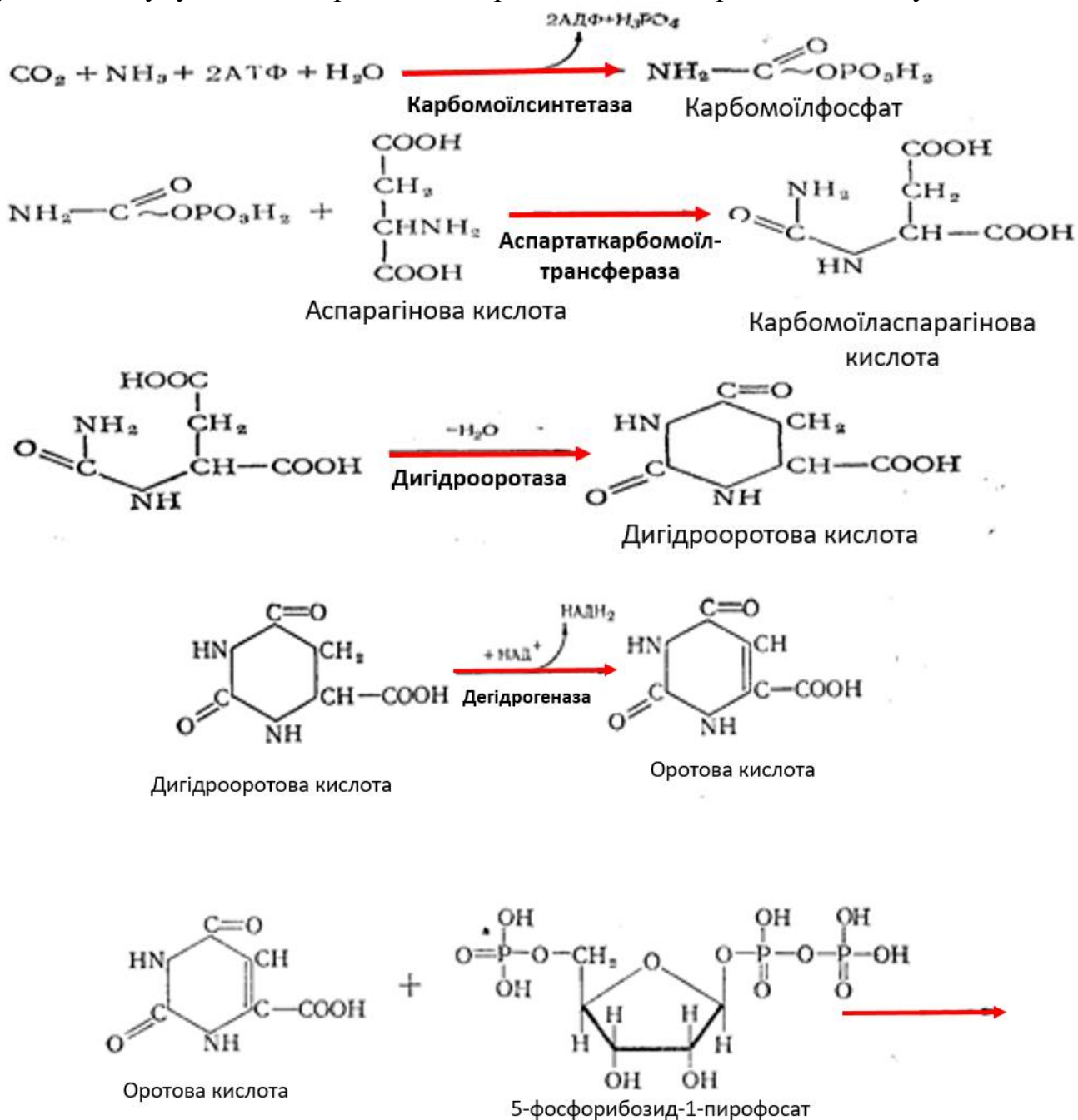
Перетравлення нуклеотидів і всмоктування продуктів їхнього розпаду здійснюються в шлунково-кишковому тракті. Під впливом білкових ферментів шлунку й кишечника, частково соляної кислоти, нуклеопротеїди їжі розпадаються на білок і нуклеїнові кислоти; білкова частина піддається гідролітичному розщепленню до вільних амінокислот, аналогічно іншим харчовим білкам. Розпад нуклеїнових кислот здійснюється в основному гідролітичним шляхом у тонкому кишечнику під дією ДНК-ази й РНК-ази підшлункового соку. Продуктами реакції при дії РНК-ази є піримідинові мононуклеотиди, суміш ди- і тринуклеотидів. Під дією ДНК-ази утворюються в основному динуклеотиди, олігонуклеотиди й невелика кількість мононуклеотидів.

Для синтезу пуринових нуклеотидів в організмі тварин готові пуринові основи, що утворюються в процесі перетравлення нуклеїнових кислот у кишечнику, не використовуються. Їхній синтез здійснюється з низькомолекулярних попередників, продуктів обміну вуглеводів і білків.

Синтез піримідинових основ. У цей час за допомогою мічених атомів було доведено, що постачальниками азоту є аспарагінова кислота й глютамін. Крім того, для утворення гетероциклу включається форміат і вуглекислий газ - постачальник атомів вуглецю. Всі ці процеси здійснюються поетапно специфічними ферментами. Важливу роль у біосинтезі мононуклеотидів грає молекула рибозо-5-фосфат, що є основою при біосинтезі як пуринових, так і піримідинових нуклеотидів.

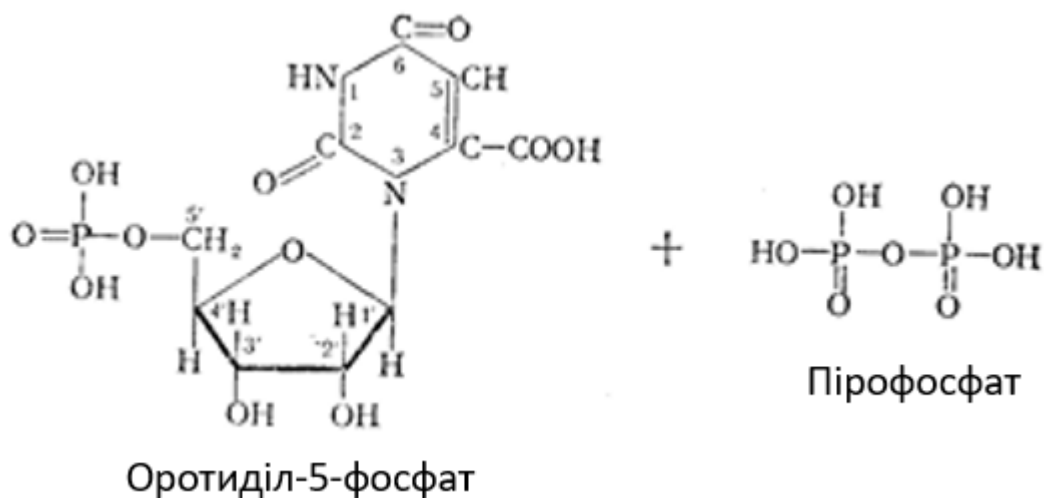
Початковою реакцією в біосинтезі *піримідинових* основ є реакція утворення карбамоїлфосфата з NH_3 і CO_2 при участі АТФ. Цей процес здійснює фермент карбамоїлсинтетаза. Потім *карбамоїлфосфат* реагує з *аспарагіною* кислотою й під впливом аспартаткарбамоїлтрансферази аспарагінова кислота переноситься на карбамоїлфосфат з утворенням *карбамоїласпарагінової* кислоти, при цьому відщеплюються молекули фосфорної кислоти. Потім аміногрупа

карбамоїласпарагинової кислоти взаємодіє з карбоксильною групою й при участі ферменту дигідрооротази відщеплюється молекула води й утвориться *дигідрооротова кислота*. Під впливом дегідрогенази дигідрооротова кислота піддається дегідруванню й утвориться *оротова кислота*, що виконує ключову роль у синтезі, будучи безпосереднім попередником всіх піримідинових нуклеотидів.



Оротова кислота взаємодіє з 1-пірофосфатом, у результаті чого утвориться *оротиділ-5-фосфат*, що перетворюється в *уридин-5-фосфат*. Уридин-5-фосфат

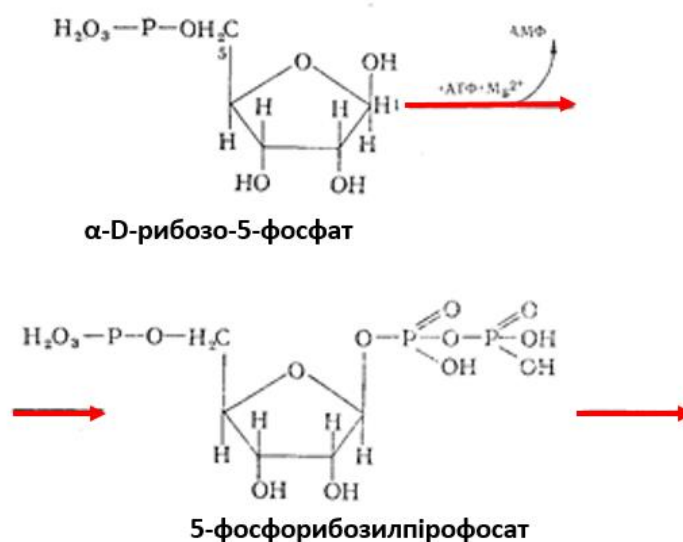
займає центральне місце в біосинтезі піримідинових нуклеотидів, тому що з нього легко виходить *тимідиннуклеотид* і *цитозиннуклеотид*. Уридин-5-фосфат приєднує аміногрупу при участі глютаміну і після цього утворюється цитидил-5-фосфат:



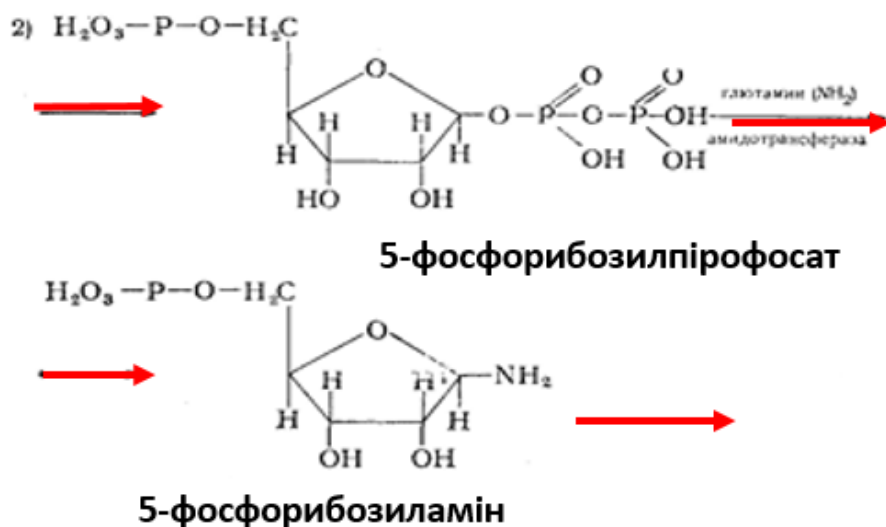
Синтез пуринових основ.

Процес біосинтезу пуринових нуклеотидів протікає в 10 стадій при участі відповідних ферментів.

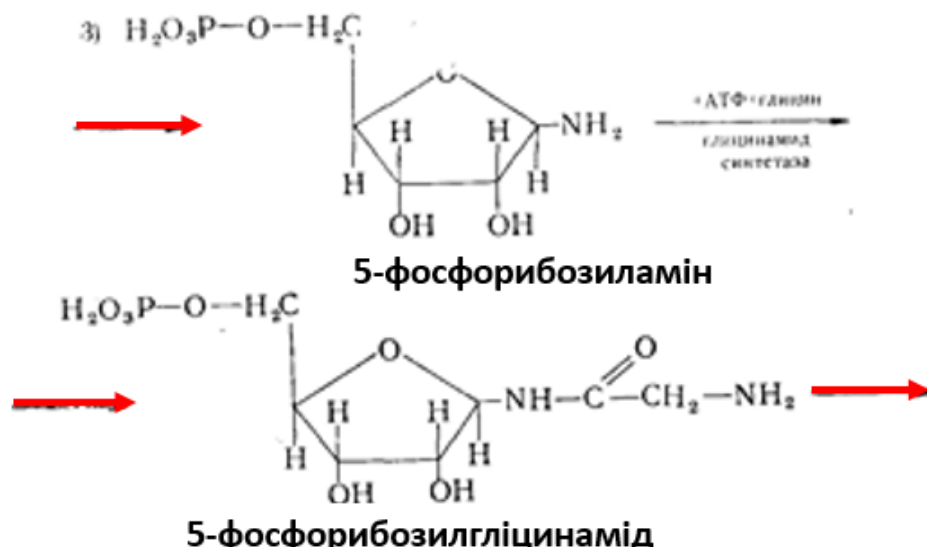
1. Перша стадія полягає у взаємодії рибозо-5-фосфату з молекулою АТФ і ферментом пірофосфорилазою, у результаті чого утворюється молекула 5-фосфорибозилпірофосфат.



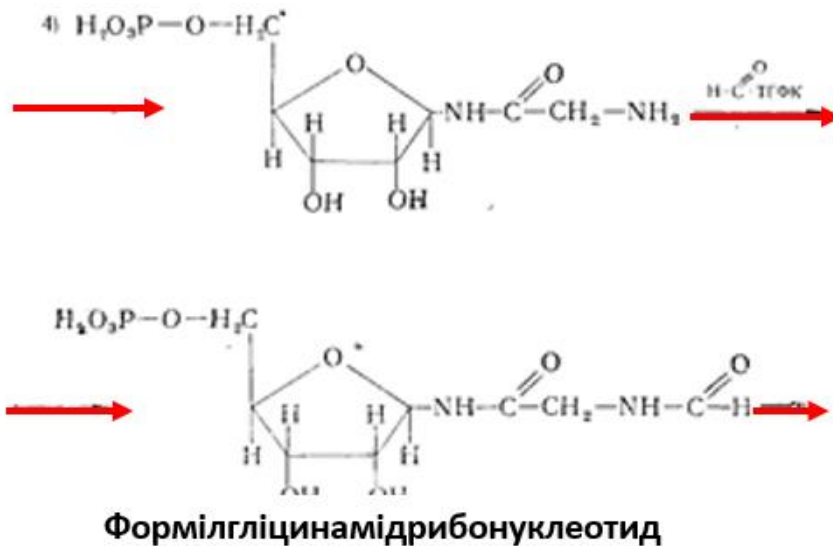
2. Друга стадія складається в амінуванні 5-фосфорибозилпірофосфату за рахунок глютаміну, що поставляє групу NH_3 , у результаті утвориться сполука 5-фосфорибозиламін. На цій стадії бере участь фермент амідотрансфераза.



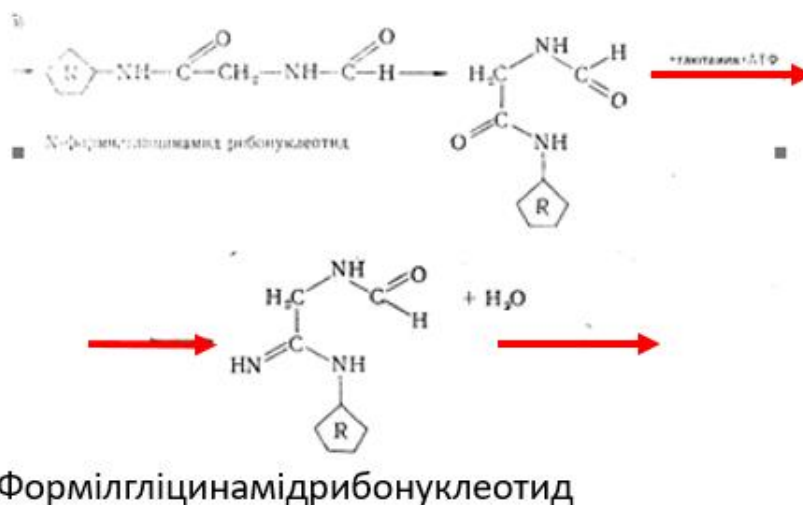
3. Третя стадія полягає у взаємодії 5-фосфорибозиламіну із гліцином при участі молекули АТФ і ферменту гліцинамідсинтетази - утвориться фосфорибозилгліцинамід.



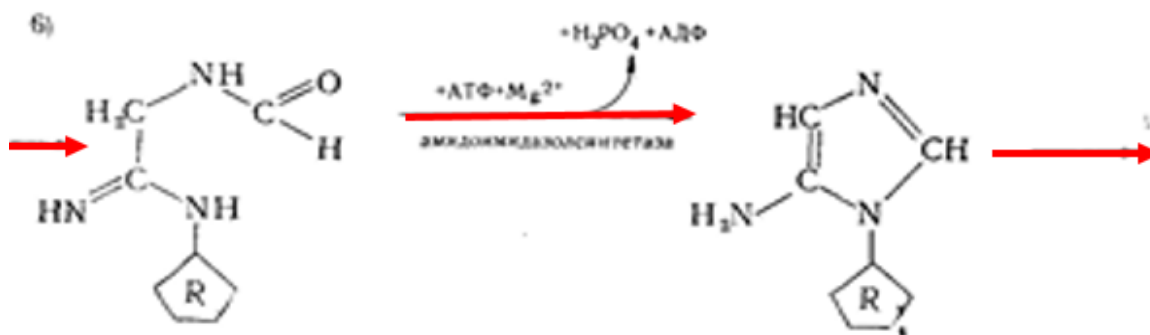
4. На четвертій стадії ця молекула вступає в реакцію з N^5N^{10} -метенілтетрагідрофолієвою кислотою при участі ферменту формілтрансферази. Внаслідок цієї реакції утвориться *N*-формілгліцинамідрибонуклеотид.



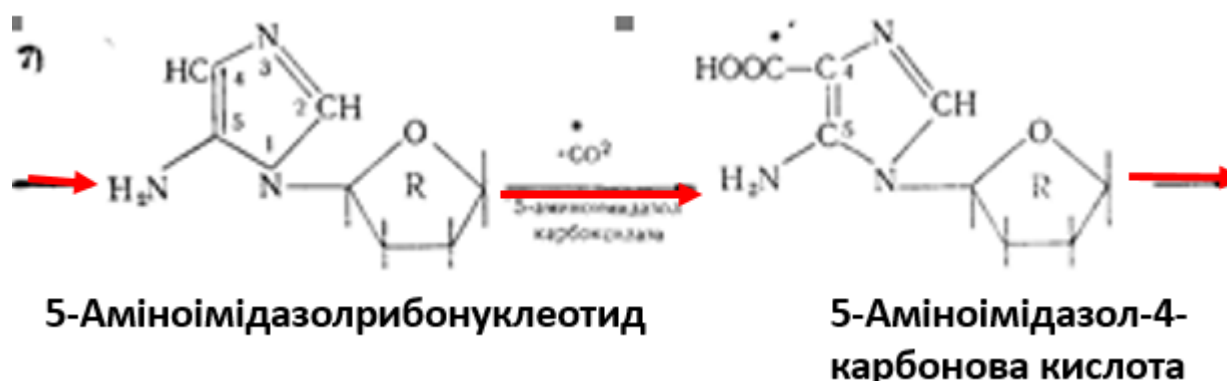
5. На п'ятій стадії N-формілгліцинамідрибонуклеотид амінується при участі глютаміну й утворюється N-формілгліцинамідинрибонуклеотид. Донатором енергії для цієї реакції служить молекула АТФ. Отримана сполука містить усі ланки для утворення імідазольного кільця пурину.



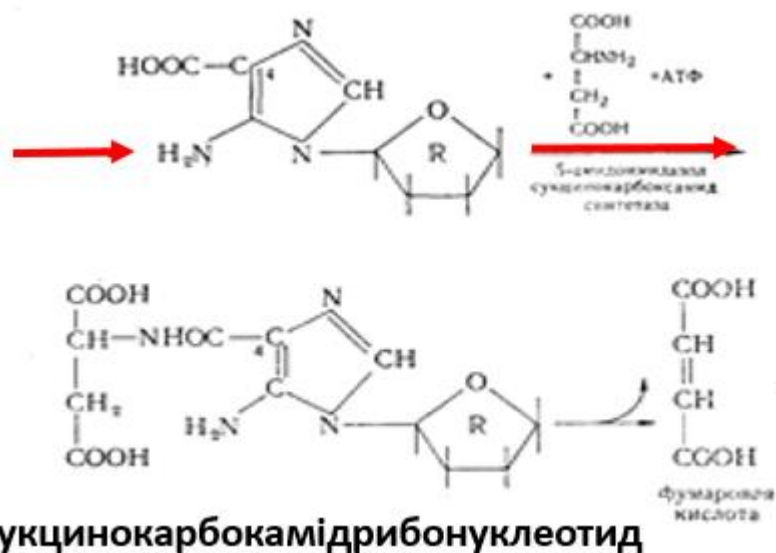
6. На шостій стадії N-формілгліцинамідинрибонуклеотид взаємодіє з АГФ, відбувається замикання кільця, внаслідок чого утвориться 5-аміноімідазолрибонуклеотид.



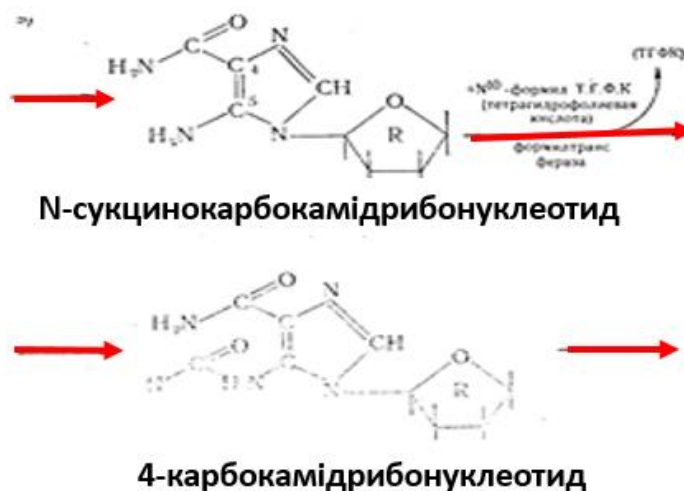
7. Сьома стадія складається у впровадженні молекули вуглекислого газу, у результаті чого утвориться аміноімідазол-4-карбонові кислоти.



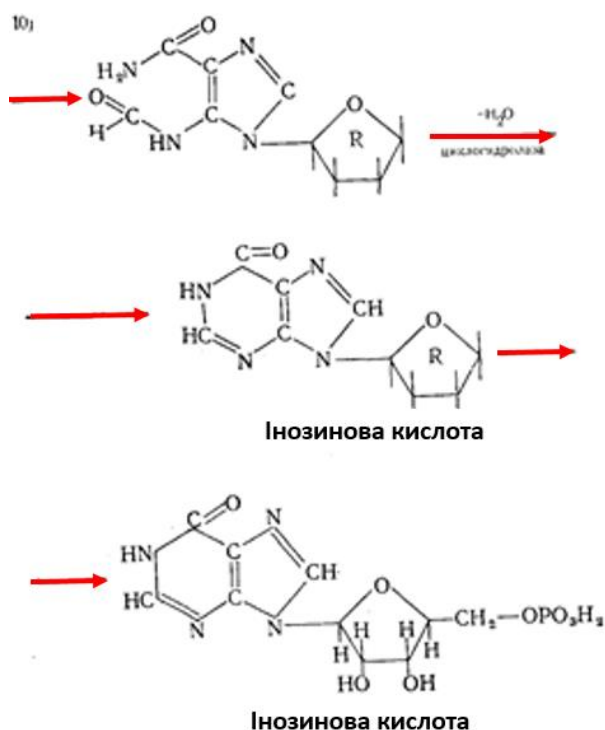
8. На восьмій стадії зазначена вище сполука взаємодіє з аспарагіною кислотою при участі ферменту 5-аміноімідазолсукцинокарбоксамідсинтетази й молекули АТФ, виникає N-сукцинокарбоксамідрибонуклеотид.



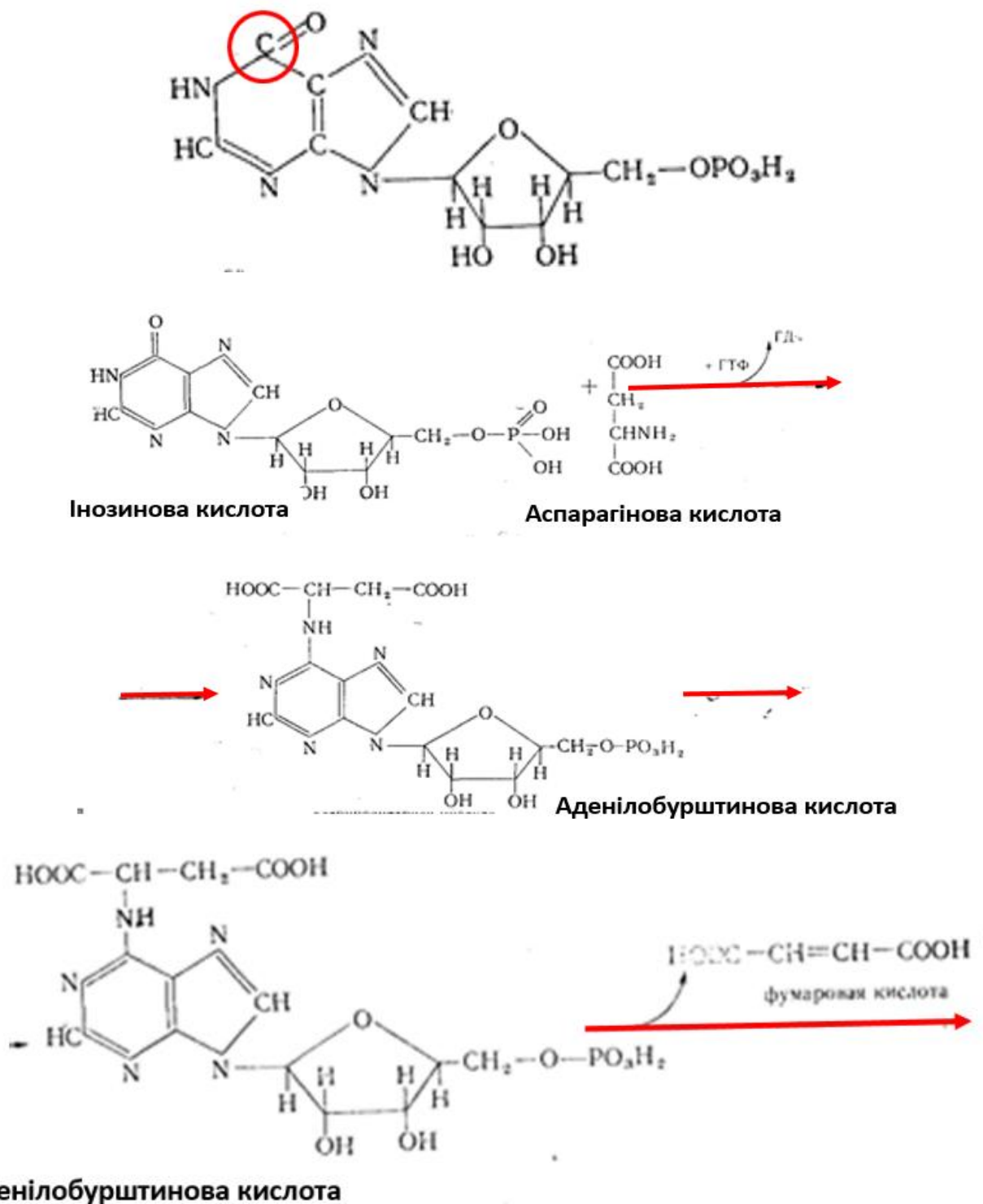
9. На дев'ятій стадії зазначене вище сполука реагує з N 10-формілтетрагідрофолевою кислотою при участі формілтрансферази й внаслідок цієї реакції виникає 4-карбоксамідрибонуклеотид.



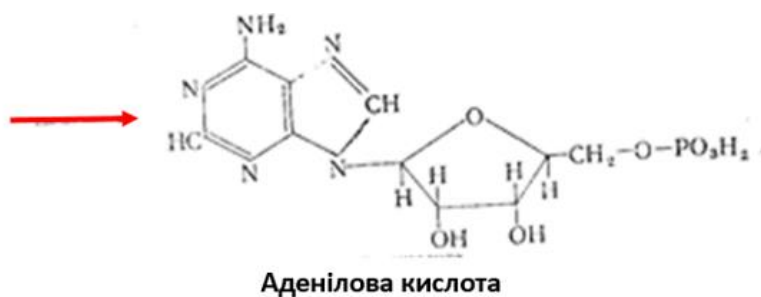
10. Десята стадія процесу складається в перетворенні зазначеного вище сполуки в циклічну структуру під впливом ферменту циклогідролази, яка відщеплює молекулу води, і в остаточному підсумку утвориться інозинова кислота - попередник аденілової і гуанілової кислот.



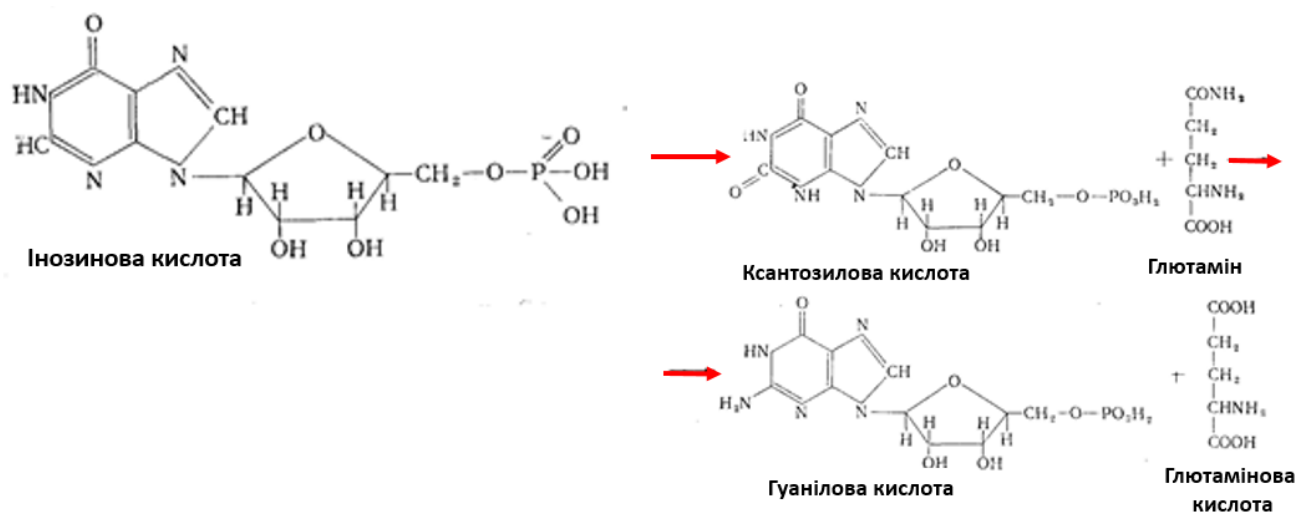
Для утворення аденілової кислоти необхідне впровадження аміногрупи в 6-м положенні пуринового кільця. Це відбувається при взаємодії інозинової і аспарагінової кислот з утворенням аденілобурштинової кислоти.



Аденілобурштинова кислота



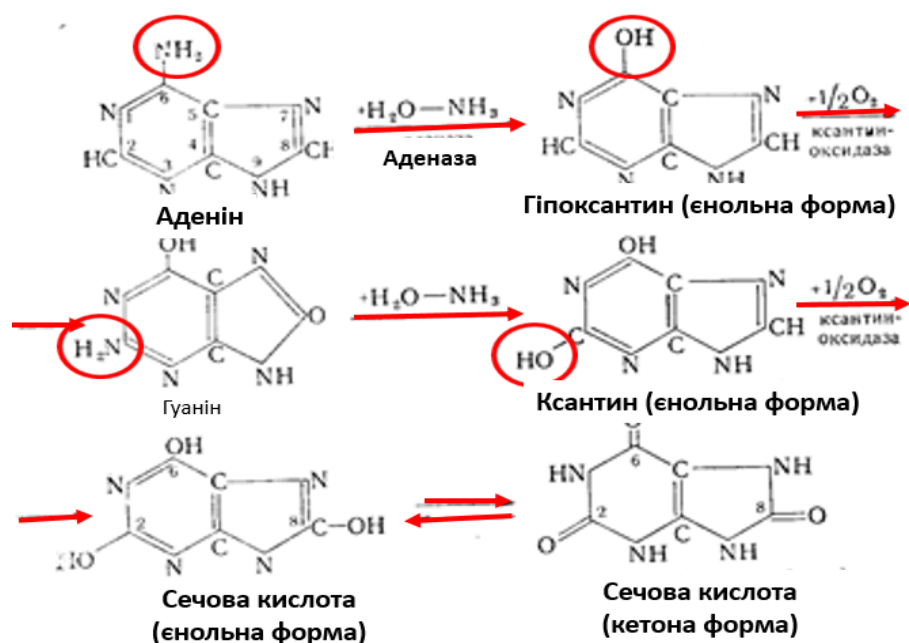
Біосинтез гуанілової кислоти протікає також з інозинової кислоти, однак процес цей трохи відрізняється від синтезу аденілової кислоти. Інозинова кислота спочатку піддається окисненню до ксантозилової кислоти при участі ферменту оксигенази, а потім, після взаємодії із глютаміном, що поставляє аміногрупу в 2-е положення пуринового кільця, ксантозилова кислота перетворюється в гуанілову.



Розпад пуринових основ.

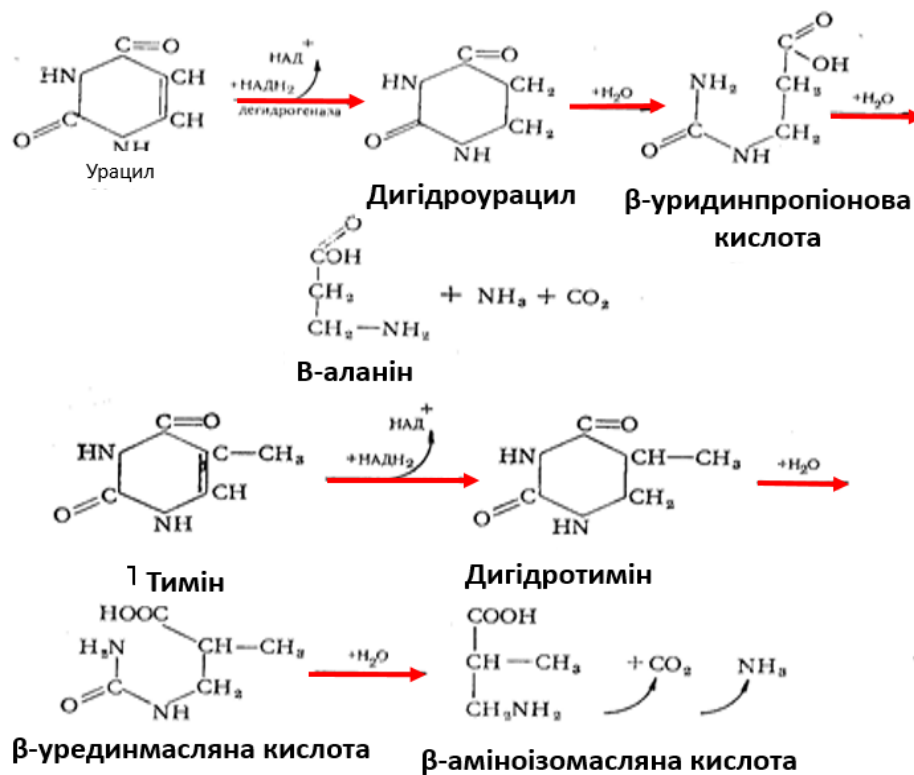
У різних видів тварин кінцеві продукти перетворення пуринових основ неоднакові. У людини й людиноподібних мавп кінцевим продуктом обміну пуринів є сечова кислота. У птахів і рептилій сечова кислота є не тільки продуктом розпаду пуринових основ, але й продуктом розпаду амінокислот, тому що з аміаку утвориться спочатку сечовина, а з її сечова кислота.

Аденін під впливом ферменту аденази перетворюється в гіпоксантин, що у свою чергу при участі кисню й ферменту ксантиноксидази переходить у ксантин і, нарешті, у сечову кислоту. Аміак перетворюється в сечовину. Що стосується перетворення гуаніну, то під впливом ферменту гуанази він переходить відразу в ксантин, що перетворюється також у сечову кислоту. Сечова кислота - важко розчинна сполука, іноді відкладається в суглобах (подагра).



Розпад піримідинових основ.

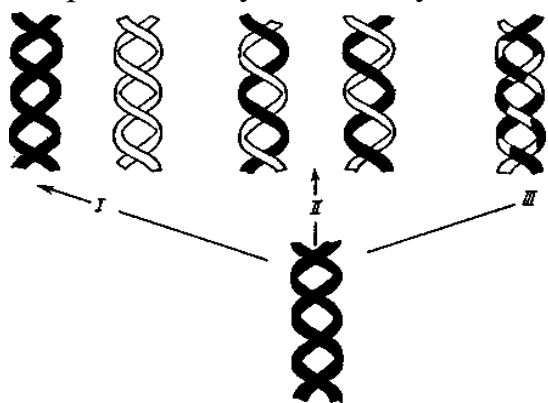
На відміну від пуринових основ піримідинові кільця в тканинах багатьох тварин і людини розриваються, і кінцевими продуктами розпаду урацилу й цитозину є α -аланін, аміак і вуглекислий газ, а тиміну - γ -аміноізомасляна кислота, аміак, вуглекислий газ.



2. Механізм біосинтезу ДНК. Реплікаційна вилка і її робота

Напівконсервативна реплікація ДНК. Д. Уотсон і Ф. Крик не тільки розробили модель структури ДНК, що відповідає всім експериментальним даним, але й запропонували гіпотезу механізму синтезу ДНК шляхом подвоєння (реплікації). Відповідно до цього механізму дволанцюгова молекула ДНК спочатку розділяється уздовж, два її ланцюги розходяться. На кожному старому ланцюзі утворюється новий ланцюг. При цьому нуклеотиди нових ланцюгів спаровуються комплементарно з нуклеотидами старих ланцюгів, так що старі ланцюги служать матрицями. Так утворюються дві дочірні дволанцюгові молекули ДНК, зовсім однакові, ідентичні батьківській молекулі. У кожній дочірній молекулі один ланцюг отриманий від батьківської ДНК, а друга синтезована заново. Цей шлях синтезу одержав назву *напівконсервативної реплікації*.

Однак теоретично можливі ще два механізми поділу; ДНК між дочірніми клітинами нарівно, що одержали назву *консервативної й дисперсної реплікації*. При *консервативній реплікації* на двох ланцюгах батьківської молекули ДНК, без їхнього поділу, синтезується нова молекула ДНК. *Дисперсний механізм* припускає дроблення молекул ДНК, у результаті якого кожний окремий ланцюг нових дочірніх молекул містить у собі ділянки як старої, так і нового ланцюга ДНК.



Можливі способи відтворення ДНК:

- I - консервативний,
- II - напівконсервативний,
- III - дисперсний

Реплікація ДНК як багатоступінчастий процес. Для того щоб ДНК могла піддатися реплікації за напівконсервативного способу, вона повинна розділитися на складові її

ланцюга. Установлено, що ланцюги ДНК розкручуються не по всій довжині, а на короткій ділянці. Тут утвориться вилка реплікації - місце подвоєння ДНК. Переміщення її можливо тільки при розкручуванні двоспиральної ДНК і закручуванні двох дочірніх молекул.

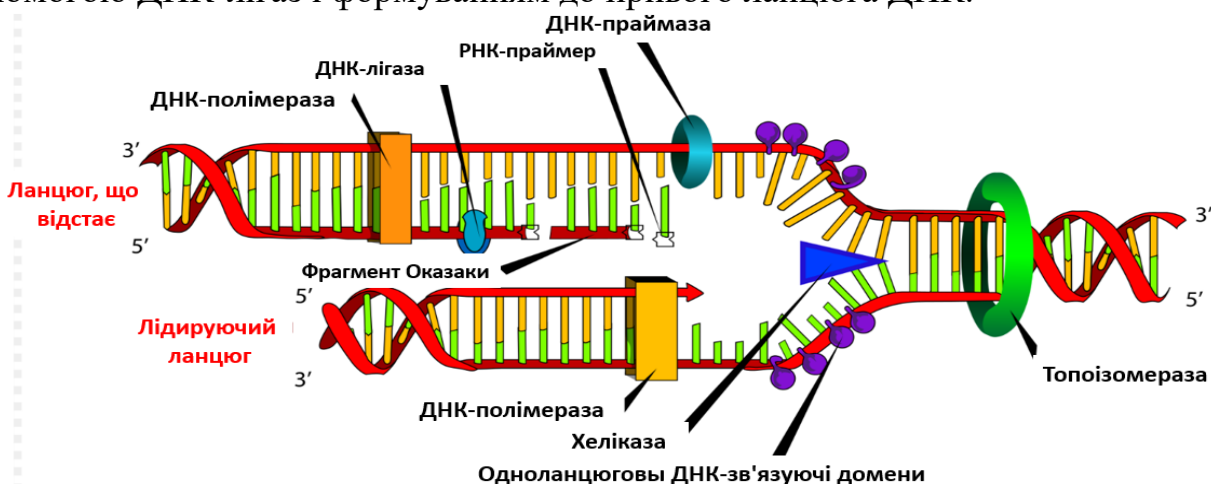
Показано, що ініціація біосинтезу дочірніх ланцюгів ДНК вимагає попереднього синтезу на материнській ДНК незвичайного затравочного олігорибонуклеотиду, який називається праймером, з вільною гідроксильною групою, в 3'-вуглецеві атоми рибози. Цей олігорибонуклеотид, що містить близько 50 нуклеотидних залишків, синтезується комплементарно на матриці ДНК при участі особливого ферменту РНК-полімерази. Передбачається, що саме із цієї крапки кінцевого 3'-гідроксилу рибози праймера починається щирий синтез

дочірнього ланцюга ДНК, комплементарної батьківської. Надалі цей фрагмент РНК, ковалентно приєднаний до новоствореного ланцюга ДНК, руйнується під дією нуклеаз і виниклий пролом забудовується олігодезоксприбонуклеотидом за допомогою тої ж ДНК-полімерази.

Етапи біосинтезу ДНК. Запропоновано ряд моделей механізму біосинтезу ДНК. Передбачається, що умовно механізм синтезу може бути підрозділений на три етапи: *ініціацію*, тобто сигналізацію; *елонгацію*, тобто ріст ланцюга, продовження, і *термінацію*, тобто завершення (припинення) синтезу.

Перший етап - ініціація біосинтезу ДНК - є початком синтезу дочірніх нуклеотидних ланцюгів на материнському ланцюзі й зводиться, як зазначено вище, до біосинтезу на материнській ДНК праймеру при участі особливого ферменту - РНК-полімерази. При ініціації до ДНК послідовно приєднуються комплекси ДНК-полімераз і ДНК-залежна РНК-полімераза (остання забезпечує синтез праймеру) і ряд інших білкових факторів.

Другий етап, що одержав назву елонгації синтезу ДНК, включає стадію реплікації учасників материнських ланцюгів ДНК і стадію зв'язування один з одним фрагментів новоутворених ланцюгів ДНК. Перша стадія здійснюється за допомогою ДНК-полімерази, причому синтез іде не безупинно, а фрагментарно. Японський біохімік Р. Оказаки одержав докази човникового механізму синтезу ДНК; фермент може вести синтез тільки в одному напрямку 5' → 3' спочатку на одному ланцюзі материнської ДНК, а потім у тім же напрямку 5' → 3', але пересуваючись у зворотну сторону по іншому ланцюзі ДНК. Надалі виявилось, що фрагменти щораз синтезуються роздільно, починаючи із праймеру, що може переноситися з готового фрагмента за допомогою одного з білкових факторів реплікації в крапку старту біосинтезу наступного фрагмента, спрямованих протилежно по дволанцюговій молекулі ДНК. Стадія завершується відділенням олігорибонуклеотидних праймерів, які об'єднані окремими фрагментами ДНК за допомогою ДНК-лігази і формуванням дочірнього ланцюга ДНК.



Термінація синтезу ДНК настає швидше за все внаслідок вичерпання ДНК-матриці й обриву трансферазної реакції. Точність реплікації ДНК надзвичайно висока: може бути одна помилка на 10^{10} трансферазних реакцій.

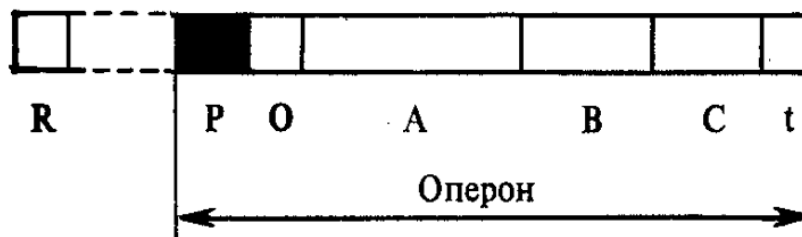
Синтез ДНК на матриці РНК. Видатним досягненням біохімії нуклеїнових кислот є відкриття ферменту *зворотної транскриптази*, або ревертази, або РНК-залежної ДНК-полімерази, що каталізує біосинтез молекули ДНК на матриці РНК. Передбачається, що механізм синтезу ДНК на матриці РНК включає три стадії. На *першому етапі* фермент ревертаза синтезує на матриці РНК комплементарний ланцюг ДНК, що приводить до формування гібридної молекули РНК~ДНК. На *другому етапі* має місце руйнування вихідної РНК із комплексу гібридної молекули під дією РНК-ази. Нарешті, на *третьому етапі* на матриці ланцюга, що залишилося, ДНК комплементарно синтезуються на нові ланцюги ДНК.

У цей час ми вправі доповнити основну схему передачі генетичної інформації в живій клітці ДНК \rightleftharpoons РНК \rightarrow білок і представити її в більше повній формі.

3. Біосинтез РНК

Транскрипція - процес, за допомогою якого укладена в ДНК генетична інформація «копіюється» в одиночні ланцюги РНК. Згодом РНК переноситься до рибосом для синтезу білка. Одиниці процесу транскрипції несуть інформацію про структуру одного або декількох білків. Ділянка ДНК, у якому укладена інформація про структуру одного білка, називається *цистроном* або структурним геном. Регуляція транскрипції здійснюється завдяки наявності в ДНК спеціальних регуляторних ділянок. Регуляторна зона містить у собі *промотор* і *оператор*.

Промотор містить ділянка первісного міцного зв'язування ДНК-залежної РНК-полімерази із ДНК. Оператор - регуляторна ділянка, що зв'язується з *репресорами* - білками контролюючий синтез мРНК у відповідності потребами клітини. Послідовність нуклеотидів ДНК, обмежена промотором і термінатором, що кодує одну молекулу мРНК і контролюється оператором, називається опероном.



Будова оперону прокариот

P- промотор; O оператор; A, B, C – цистрони;
t – термінатор; R – ген-регулятор

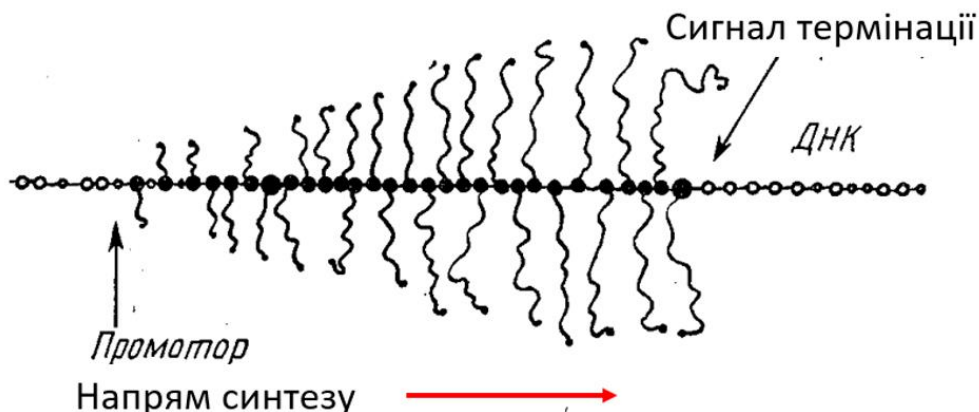
ДНК-залежний синтез РНК можна розбити на кілька стадій, як і в ДНК, які в цілому становлять цикл транскрипції.

Взаємно комплементарні ланцюги молекули ДНК антипаралельні, комплементарна виродженість коду відсутня, тому обидві ланцюги ДНК не можуть кодувати один білок.

Вважають, що транскрипції підлягає або тільки один із двох ланцюгів, або обидві, але лише одна з молекул, що утворилися, РНК є матричною, друга ж виконує інші функції. Ланцюг ДНК, комплементарну мРНК, звичайно називають кодуєчим, другий ланцюг - замикаючим.

Елонгація (ріст ланцюга) РНК відбувається в напрямку 5' → 3'. Рибонуклеотиди приєднуються до 3'-кінцю послідовно, один за іншим, відповідно матриці ДНК. Швидкість процесу елонгації в клітинах *E. coli* становить 45-50 нуклеотидів при 37 °С за 1 сек.

Термінацію синтезу РНК викликає послідовність нуклеотидів у ДНК - термінатор або стоп-сигнал.



Процесинг мРНК. В еукаріотичних клітинах первинні транскрипти перетворюються в мРНК у ході процесингу, що протікає в ядрі. Процесинг (посттранскрипційна модифікація) включає в г себе:

- 1) відрізання «зайвих» кінцевих послідовностей,
- 2) розщеплення довгих первинних транскриптів, «вирізання» з них ділянок,
- 3) додавання нуклеотидов до 3'-кінця транскрипту,
- 4) додавання нуклеотидів до, 5'-кінця транскрипту,
- 5) модифікацію основ у транскрипті.

Для прокаріотичних клітин процесинг не характерний.

Молекули РНК відразу ж після транскрипції з'єднуються з білками, створюючи компактні структури. Ці РНК-комплекси називаються ядерними інформосомами. Відношення білок : РНК становить у них 4:1.

РОЗДІЛ 14

ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК ОБМІНУ БІЛКІВ, НУКЛЕЇНОВИХ КИСЛОТ, ВУГЛЕВОДІВ І ЛІПІДІВ

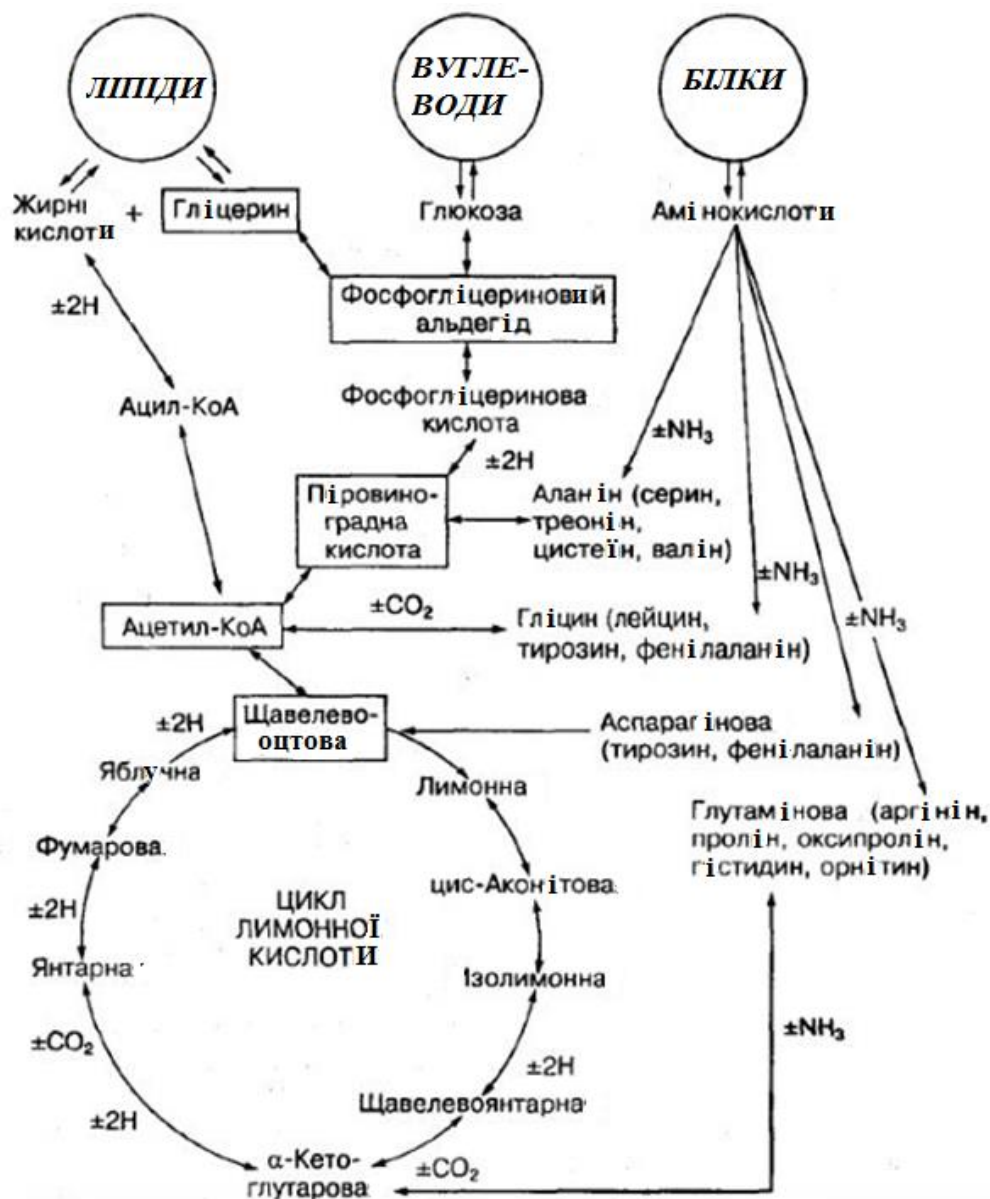
ПЛАН

1. Взаємозв'язок обміну вуглеводів і ліпідів
2. Взаємозв'язок білкового й вуглеводного обмінів
3. Утворення вуглеводів і жирів з білків
4. Взаємозв'язок між обміном органічних і неорганічних речовин
5. Єдність метаболічних процесів і зовнішнє середовище
6. Рівні й принципи організації метаболізму

В попередніх розділах було розглянуто ізолювано перетворення жирів, вуглеводів і білків. Насправді в клітинах процес перетворення відбувається не ізолювано, а одночасно, при цьому процеси строго узгоджені між собою. Якщо порушується обмін білків, це не може не відбитися на обміні вуглеводів і жирів і навпаки. Єдність у перетворенні цих трьох груп речовин доводиться ще й тим, що в них виникають загальні проміжні продукти розпаду, з яких за певних умов можуть виникати або білки, або вуглеводи, або жири. Пластичну функцію в організмі тварин переважно виконують білкові речовини, а жири й вуглеводи головним чином служать джерелом енергії, тобто виконують енергетичну функцію.

Однак, крім взаємних переходів між різними класами речовин в організмі, доведене існування більше складних форм зв'язку. Зокрема, інтенсивність, напрямок будь-якої хімічної реакції визначаються ферментами, тобто білками, які впливають на обмін ліпідів, вуглеводів і нуклеїнових кислот. У свою чергу синтез будь-якого ферменту - білка - вимагає участі ДНК і майже всіх трьох типів рибонуклеїнових кислот - тРНК, мРНК і рРНК. Якщо до цього додати вплив гормонів, продуктів розпаду якого-небудь одного класу речовин (наприклад, біогенних амінів) на обмін інших класів органічних речовин, то стають зрозумілими дивна погодженість і координованість величезної розмаїтості хімічних процесів, що відбуваються в організмі.

Основні шляхи взаємоперетворення білків, жирів і вуглеводів схематично представлені нижче.



1. Взаємозв'язок обміну вуглеводів і ліпідів

Взаємозв'язок обміну вуглеводів і ліпідів розкривається в двох напрямках:

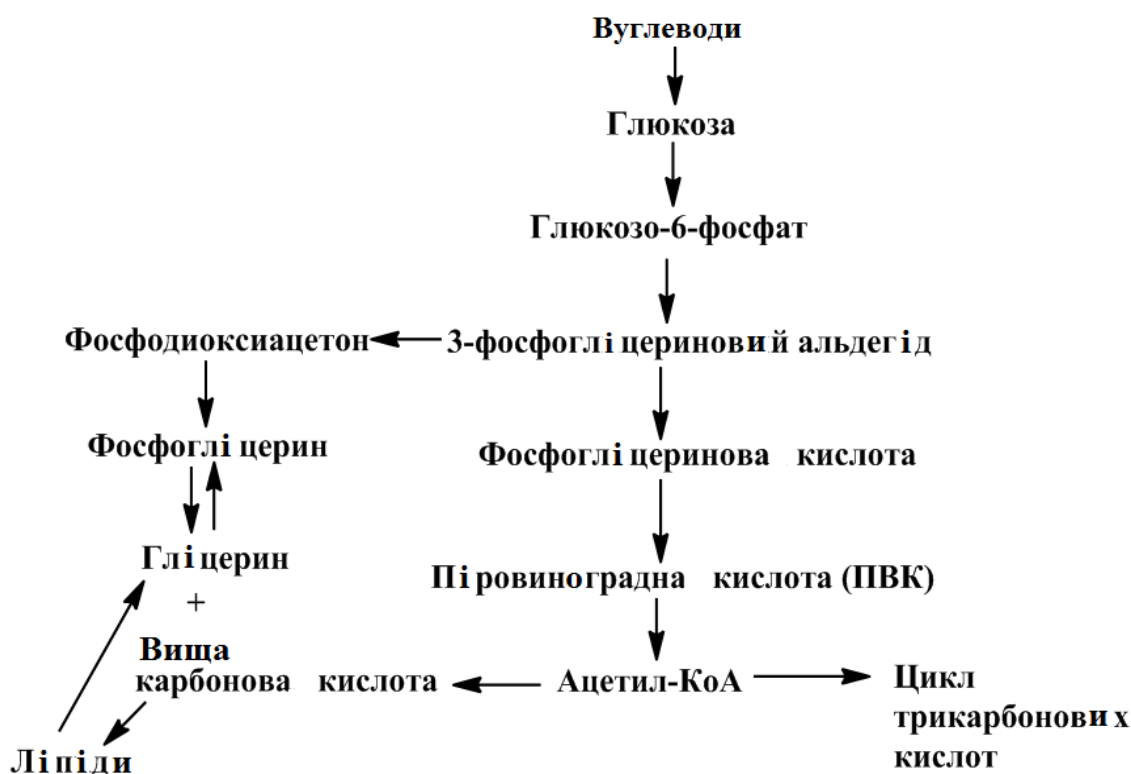
- перетворення вуглеводів у жири (головне значення);
- перетворення жирів у вуглеводи (обмежене значення).

ПЕРЕТВОРЕННЯ ВУГЛЕВОДІВ У ЖИРИ

Сполучною ланкою багатьох обмінів, у тому числі білків і вуглеводного, є цикл трикарбонових кислот. Продукти гліколізу й окисного розщеплення вуглеводів у ЦТК - піровиноградна, α-кетоглутарова, щавелевооцтова кислоти в результаті

амінування й переамінування утворюють багато амінокислот, використовувани для синтезу білків.

Давно було відомо, що надлишкове вживання в їжу вуглеводів приводить до відкладення жирів в організмі. У людей, що вживають надлишкову кількість хліба й різного роду борошняних і круп'яних продуктів, також спостерігається ожиріння. Цьому сприяє ще й мала витрата вуглеводів, особливо в осіб, зайнятих переважно розумовою роботою. Крім того, ожирінню сприяє зниження гормональної функції, зокрема функції полових залоз, спостережуване в певному віковому періоді (клімактеричному).



Хімічно можна легко обґрунтувати перетворення вуглеводів у жири. При розпаді вуглеводів утворюється піровиноградна кислота, а з її - активна молекула оцтової кислоти - ацетил-КоА. Дві молекули ацетил-КоА легко вступають у реакцію конденсації з утворенням ацетооцтової кислоти, а з її синтезуються високомолекулярні одноосновні кетокислоти, які беруть участь в утворенні жирних кислот. Що стосується гліцерину, то він також може утворитися шляхом відновлення із продуктів розпаду глюкози - з діоксиацетофосфату й гліцеринальдегідфосфату.

Утворення гліцерину як складової молекули жиру відбувається в результаті відновлення фосфодоксиацетону, який є загальним проміжним продуктом обміну

вуглеводів і ліпідів. Фосфогліцерин, що утворився, є активною формою гліцерину і в подальшому може взаємодіяти з активними формами вищих жирних кислот (ацилами). Таким шляхом синтезуються жири і складні ліпіди (гліцерофосфоліпіди).

Встановлено, що жири, що виникають із вуглеводів, є більше насиченими.

Незважаючи на те що жири можуть утворитися з вуглеводів, не можна вважати, що організм людини може обійтися без надходження з їжею готових жирів. Разом з жирами організм одержує й розчинні в жирах вітаміни А, D, Е, К, F, які не синтезуються в організмі людини, але вкрай необхідні йому.

З наведеної вище схеми видно також, що є різні шляхи взаємоперетворень жирів і вуглеводів. З енергетичної точки зору перетворення вуглеводів у жири варто розглядати як депонування енергії, хоча синтез жиру супроводжується витратою енергії, що знову звільняється при окислюванні жирів в організмі. Гліцерин, що входить до складу тригліцеридів і фосфоліпідів, може легко утворитися із проміжних метаболітів гліколізу, зокрема з 3-фосфогліцеринового альдегіду.

Треба, однак, підкреслити, що основним шляхом перетворення вуглеводів у жири є шлях утворення вищих жирних кислот з ацетил-КоА, що утворюється при окисному декарбоксілюванні піровиноградної кислоти. Оскільки ця остання реакція є необоротної, утворення вуглеводів з вищих жирних кислот практично не відбувається. Таким чином, синтез вуглеводів з жирів у принципі може відбуватися тільки із гліцерину, хоча у звичайних умовах реакція протікає у зворотну сторону, тобто убік синтезу жирів із гліцерину, що утвориться при окислюванні вуглеводів. Треба вказати також, що ацетил-КоА, що утворюються в процесі обміну вуглеводів, жирів і ряду амінокислот, служить пусковим субстратом як для синтезу жирних кислот і холестерину (а отже, і ліпідів взагалі), так і для циклу трикарбонових кислот.

ПЕРЕТВОРЕННЯ ЖИРІВ У ВУГЛЕВОДИ

Утворення вуглеводів з інших продуктів (білків, жирів) називається ***глюконеогенезом або гліконеогенезом***.

Під час β -окиснення вищих жирних кислот утворюється ацетил-КоА. Ця ж кислота виникає в результаті окисного декарбоксілювання піровиноградної кислоти. Саме ацетил-КоА складає важливу молекулярну основу перетворення вуглеводів у ліпіди, і ліпідів у вуглеводи.

Невелика кількість вуглеводів може синтезуватися з гліцерину, окисненням його в фосфодіоксиацетон і фосфогліцериновий альдегід, які є проміжними продуктами гліколізу та пентозофосфатного шляху окиснення вуглеводів.

Глюконеогенез має важливе значення для жуйних тварин. У них у рубці під впливом бактеріальної мікрофлори підлягають процесу бродіння моносахариди з

утворенням летких карбонових кислот, які надходять у кров. У жуйних у печінці активно відбувається глюконеогенез із пропіонової кислоти, що утворюється в рубці, за наступною схемою:

Пропіонат → сукцинат → малат → глюкоза → глікоген

Пропіонова кислота утворюється також при катаболізмі валіну та ізолейцину та при конверсії холестерину в жовчні кислоти.

Першим яскравим доказом можливості перетворення жирів у вуглеводи були спостереження над тваринами, що перебувають у зимовій сплячці. У цих тварин за зиму повністю зникають жирові запаси. Підтвердженням можуть служити й експериментальні дані при вивченні дихального коефіцієнта; він виявився у тварин, що перебувають у зимовій сплячці, близько 0,4, що свідчило про перетворення сполук, збіднілих киснем, тобто жирів, у сполуки, багаті киснем, - вуглеводи. Остаточо це питання було вирішено із застосуванням мічених атомів. Оцтову кислоту, що є загальним продуктом обміну жирів і вуглеводів, мітили по вуглеці й згодовували тваринам, потім у їхніх тканинах визначали радіоактивність. Вона була виявлена як у вуглеводах, так і в жирах. Однак варто мати на увазі, що ацетил-КоА в організмі може бути використаний і на синтез інших сполук - холестеролу і його численних похідних. Крім того, ацетил-КоА окислюється до вуглекислого газу й води в циклі трикарбонових кислот. В організмі ацетил-КоА буде перетворюватися в жири або вуглеводи залежно від потреби кліток у тих або інших речовинах і наявності відповідних ферментів.

ПОРУШЕННЯ ВУГЛЕВОДНОГО ОБМІНУ

Виражені порушення вуглеводного обміну спостерігаються, зокрема, ***при кетозах у великої рогатої худоби***. При цьому зменшується концентрація глюкози в крові (***гіпоглікемія***) з підвищенням концентрації кетонових тіл (гіперкетонемія). Гіпоглікемія має місце також і при родовому парезі, атонії передшлунків у корів.

Гіпоглікемія спостерігається при захворюваннях печінки, при глікогеної хворобі, коли клітини печінки втрачають здатність розщеплювати глікоген зі звільненням глюкози. Низький рівень глюкози в крові має місце при гіпокортицизмі, коли зменшений синтез глюкостероїдів кіркового шару наднирників, а також при пухлинах острівкових клітин підшлункової залози, що продукують інсулін, в результаті передозування протидіабетичних препаратів, голодуванні, при ураженні нирок, коли глюкоза виділяється з сечею.

Підвищений вміст глюкози в крові (***гіперглікемія***) часто свідчить про наявність цукрового діабету. При цукровому діабеті порушується надходження глюкози в клітини, що і призводить до гіперглікемії. Причиною цього є або нездатність підшлункової залози виділяти інсулін в кров, або ж неспроможність інсуліну

зв'язуватися з відповідними рецепторами і виконувати свою біологічну дію (перенесення глюкози в клітини та наступне її фосфорилування).

Порушення вуглеводного обміну при діабеті призводять до змін з боку жирового та білкового обмінів. Жирні кислоти швидко надходять у мітохондрії, так як карнітинацилтрансфераза є високо активною. При цьому відбувається накопичення молекул ацетил-КоА в результаті β -окиснення жирних кислот. Більшість молекул ацетил-КоА не можуть включатися в ЦТК, так як проявляється недостатність шавлевооцтової кислоти, а йдуть в реакції конденсації (синтезу кетонів тіл).

Більшість кислих продуктів нормального метаболізму в вигляді CO_2 швидко екскретуються легеньми. Кетонів тіла не виводяться легеньми, і за їх високої концентрації вони порушують кислотно-лужну рівновагу в нирках, що призводить до розвитку коми, ацидозу (при інсулінозалежному цукровому діабеті), ацетонурії.

2. Взаємозв'язок білкового й вуглеводного обмінів ПЕРЕТВОРЕННЯ БІЛКІВ У ВУГЛЕВОДИ

Взаємозв'язок між обміном вуглеводів і білків (амінокислот) має дві головні закономірності:

- перетворення білків у вуглеводи (основне значення в організмі);
- перетворення вуглеводів у білки (обмежене значення).

Вуглеводи синтезуються з тих амінокислот, з яких при розпаді як проміжний продукт утворюється піровиноградна кислота. Сюди відносяться 14 амінокислот, серед них глютамінова, аспарагінова кислоти, серії, аланін, валін, гістидин, орнітин і ін. З 100 г білка залежно від його амінокислотної сполуки утворюється в тканинах від 50 до 80 г вуглеводів.

Амінокислоти після дезамінування і трансамінування перетворюються в ЩОК, α -КГ кислоту та ПВК. З них ПВК є головною сполукою перетворення амінокислот у вуглеводи. Підлягаючи окисному декарбоксилуванню вона перетворюється на ацетил-КоА, який є загальним продуктом обміну вуглеводів, жирів та білків. Ацетил-КоА вступає в реакцію зі ЩОК і окиснюється в ЦТК до CO_2 і H_2O . В процесі окиснення синтезуються α -КГ і ЩОК, які є загальними продуктами обміну білків і вуглеводів. Обидві вони після декарбоксилування (одноразового чи повторного) можуть перетворюватися в ПВК, яка є джерелом для синтезу вуглеводів.

В цьому процесі головну роль відіграють ті амінокислоти, які після дезамінування можуть легко перетворюватися в ПВК або близькі до неї сполуки (наприклад, фосфоенолпіровиноградну кислоту). До таких «глікогенних» амінокислот відносять: аланін, серин, аспарагінову і глютамінову кислоти, цистеїн, гліцин, гістидин, метіонін, аргінін, пролін, триптофан, валін, треонін.

Менш інтенсивно перетворюються у вуглеводи фенілаланін, тирозин, ізолейцин.

Глікогені та кетогені амінокислоти

Глікогені		Кетогені	Глікогені та кетогені
Аланін	Гістидин	Лейцин	Ізолейцин
Аргінін	Метіонін		Лізін
Аспарагінова кислота	Пролін		Фенілаланін
Цистеїн	Серин		Тирозин
Глутамінова кислота	Треонін		Триптофан
Гліцин	Глутамін		
Аспарагін	Валін		

Глюконеогенез є одним із важливих процесів забезпечення організму вуглеводами. Значення глюконеогенезу підвищується при фізичних навантаженнях, при різкому зниженні температури оточуючого середовища, при реакціях організму на травму та ін. В подібних ситуаціях резерви глікогену швидко вичерпуються і збільшується роль глюконеогенезу.

Глюконеогенез активно перебігає в печінці та нирках. На кожен 100 г білку в середньому може синтезуватися близько 50 г вуглеводів. Цей відсоток збільшується при деяких захворюваннях, зокрема, при цукровому діабеті до 70-75 % білків можуть перетворюватися у вуглеводи

Отримано докази синтезу глюкози з більшості амінокислот. У деяких випадках (аланін, аспарагінова й глутамінова кислоти) цей зв'язок є безпосередньої, в інші - вона здійснюється через побічні канали. Варто особливо підкреслити, що три β -кетокислоти (піруват, оксалоацетат і кетоглутарат), що утворюються відповідно з аланіну, аспартату й глутамату, не тільки служать вихідним матеріалом для синтезу глюкози, але і є своєрідними каталізаторами в перетворенні ацетильних залишків від всіх класів харчових речовин у циклі Кребса для утворення енергії.

Важливу роль у процесі перетворення амінокислот у вуглеводи грають глюкокортикоїди - гормони кори наднирників - кортизон, кортизол і ін.

ПЕРЕТВОРЕННЯ ВУГЛЕВОДІВ У БІЛКИ

Вуглеводи є основним матеріалом, з якого в організмі утворюється ПВК, а також ЩОК і α -КГ кислота. Ці кетокислоти шляхом амінування, переважно за рахунок аміноцукрів і їх похідних, перетворюються у відповідні амінокислоти: аланін, аспарагінову та глутамінову. З глутамінової кислоти при зміні структури

вуглецевого ланцюгу також може синтезуватися ряд амінокислот: пролін, гідроксипролін, орнітин.

Вуглеводи також є джерелом атомів Гідрогену для синтезу амінокислот за рахунок атомів Гідрогену відновленої форми НАДФ, що утворюється при окисненні вуглеводів пентозофосфатним шляхом.

В організмі тварин синтез амінокислот (білків) за рахунок вуглеводів обмежений і не має суттєвого біологічного значення.

Синтез незамінних амінокислот із продуктів обміну вуглеводів і жирів в організмі не відбувається. Цим пояснюється незамінність білків для людини й тварин. У той же час організм може нормально розвиватися при однобічному білковому харчуванні, що також свідчить про можливість синтезу вуглеводів з білків. Процес синтезу вуглеводів з амінокислот одержав назву глюконеогенезу, що доведений прямими дослідженнями в досвідах на тварин з експериментальним діабетом, коли більше 50% уведеного білка перетворюється в глюкозу. Як відомо, при діабеті організм втрачає здатність утилізувати глюкозу й енергетичні потреби покриваються за рахунок окислювання амінокислот і жирних кислот. Доведено також, що вихідними субстратами для глюконеогенезу є ті амінокислоти, розпад яких супроводжується утворенням прямо або опосередковано піровиноградної кислоти.

Можливість синтезу деяких амінокислот з вуглеводів не викликає в цей час сумнівів, оскільки доведено перетворення деяких продуктів розпаду вуглеводів у білки. Так, наприклад, піровиноградна кислота шляхом переамінування може перетворитися в аланін, а при її участі утвориться гістидин, тирозин, триптофан і ін. Крім того, з піровиноградної кислоти шляхом сполуки її з вуглекислим газом (реакція Вуда й Веркмана) утвориться щавлевооцтова кислота, а з її шляхом реакції переамінування - аспарагінова й т.п.

Кінцевим продуктом обміну вуглеводів і жирів є вуглекислий газ (CO_2) і вода, для білків - вуглекислий газ і вода, а також сечовина, сечова кислота, креатинін і амонійні солі неорганічних кислот.

Взаємозв'язок між обміном вуглеводів та нуклеїнових кислот

Пентозофосфатний шлях окиснення є джерелом пентозофосфатів: рибулозо-5-фосфату та рибозо-5-фосфату, які використовуються в організмі для синтезу нуклеотидів і нуклеїнових кислот. Синтез нуклеотидифосфатів (УДФ, АДФ та ін.) і трифосфатів (УТФ, ГТФ, АТФ та ін.) залежить від інтенсивності окиснення вуглеводів у клітині, спряженого з окисним фосфорилуванням у дихальному ланцюзі.

В результаті розщеплення нуклеїнових кислот і нуклеотидів звільняється певна кількість пентоз, які можуть включатися в різні ланки обміну, в тому числі

перетворюватися в гексози, зокрема, в глюкозу. Глюкоза використовується для синтезу глікогену, мукополісахаридів, лактози та ін. сполук.

В пентозофосфатному шляху утворюється велика кількість відновлених форм НАДФ, які є необхідними донорами Гідрогену для синтезу різних речовин.

3. Взаємозв'язок між обміном білків і ліпідів

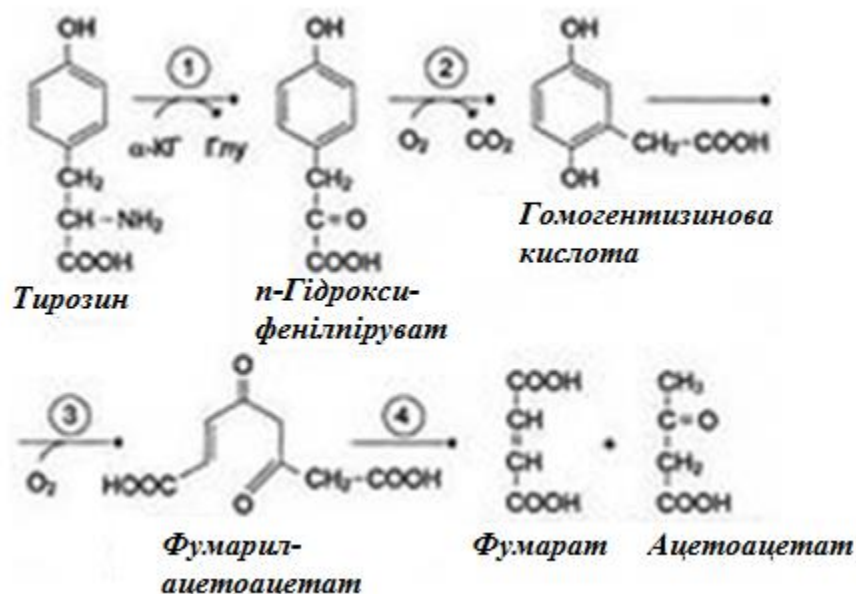
Взаємозв'язок між обміном білків (амінокислот) і ліпідів має дві головні закономірності:

- перетворення білків у ліпіди (основне значення в організмі);
- перетворення ліпідів у білки (обмежене значення).

ПЕРЕТВОРЕННЯ БІЛКІВ У ЛІПІДИ

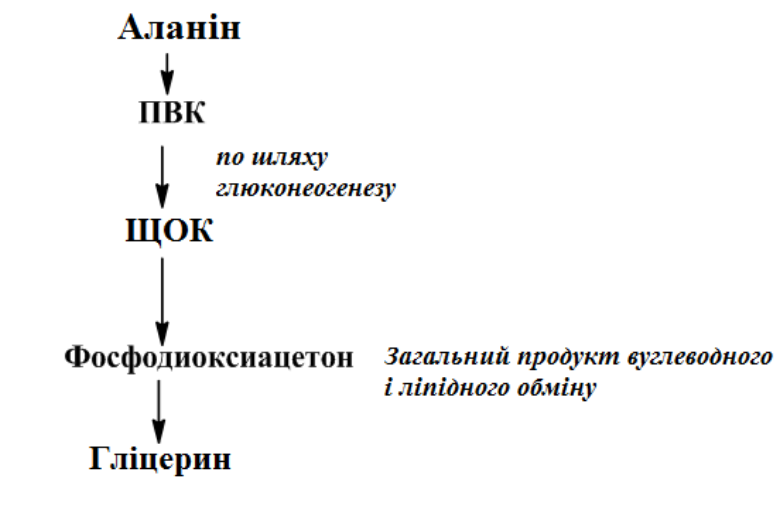
Білки є пластичним матеріалом. Організм зберігає ці коштовні речовини й тільки при надзвичайних умовах витрачає для енергетичних цілей. Перетворення білка в жирні кислоти відбувається, найімовірніше, через утворення вуглеводів, хоча деякі амінокислоти - валін, лейцин, фенілаланін, тирозин, -, що дають у якості проміжних продуктів ацетооцтову кислоту, можуть безпосередньо перетворюватися в жирні кислоти.

Незначна частина жирів може синтезуватися з ацетооцтової кислоти, яка утворюється при розщепленні фенілаланіну, тирозину та інших амінокислот.



«Кетогеною» амінокислотою є лейцин, що перетворюється в ацетооцтову кислоту і ацетил-КоА.

Гліцерин синтезується з аланіну.



Азотиста частина складних ліпідів утворюється за рахунок серину, холіну і коламіну.

ПЕРЕТВОРЕННЯ ЖИРІВ У БІЛКИ

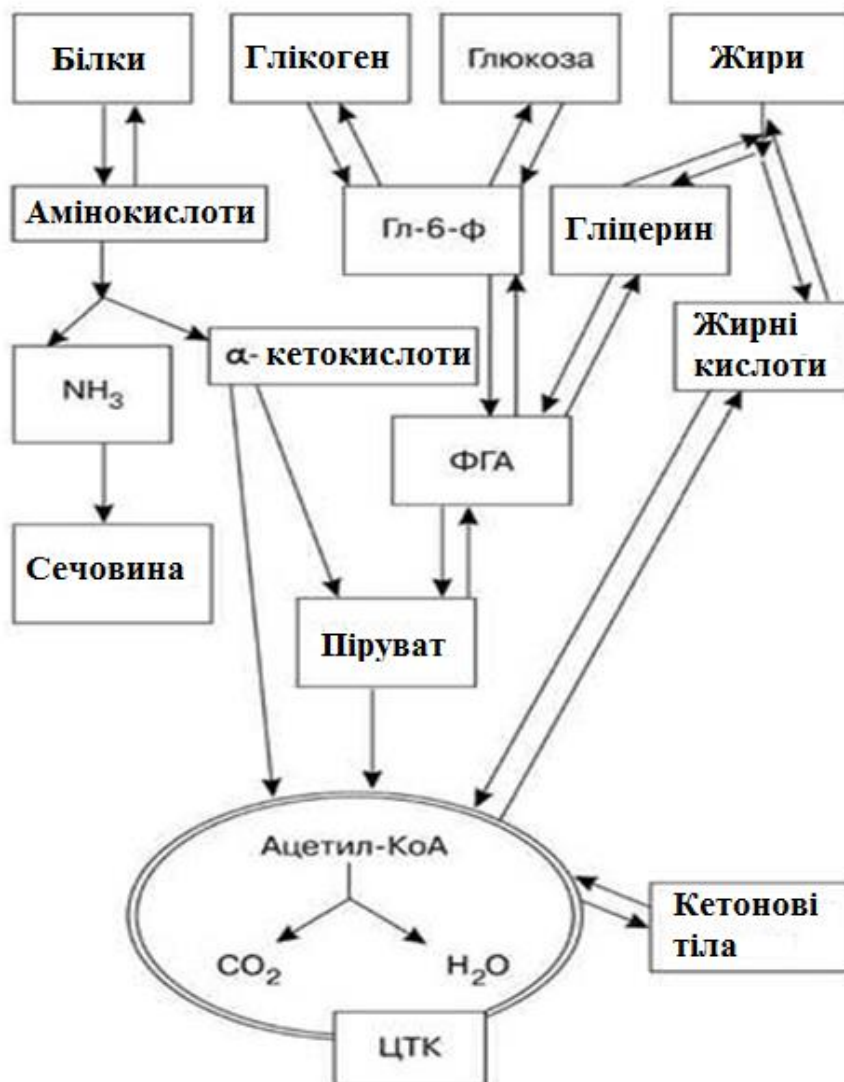
Цей процес обмежений, бо основним джерелом азотовмісних речовин у тварин є тільки білки. Незамінні амінокислоти взагалі не можуть синтезуватися у вищих організмів. Замінити білки в дієті вуглеводами або ліпідами неможливо, тому що це призведе до *білкового голодування*. Часткове утворення замінних амінокислот з жирів можливе з ПВК, ЩОК, α -КГ кислоти, тобто тих кислот, які легко дезамінуються і підлягають трансамінуванню.

Для біосинтезу амінокислот з кетокислот необхідним є аміак, а він утворюється в результаті обміну білків. Джерелом амоніаку також можуть бути гліцеринфосфоліпіди, які містять в своєму складі серин, коламін і холін.

Нижче наведена схема взаємозв'язку основних ланок обміну білків, вуглеводів і ліпідів

4. Взаємозв'язок між обміном органічних і неорганічних речовин

Обмін органічних і неорганічних речовин нерозривно пов'язані між собою. Всі біохімічні процеси відбуваються у водних розчинах. Вода є тією дисперсною системою, яка обумовлює хімічні та фізико-хімічні процеси в живому організмі. Без води не можливий обмін речовин, оскільки більшість реакцій обміну (процеси гідролізу, окиснення, біосинтезу жирних кислот) здійснюються шляхом гідратації, дегідратації, гідрування і т.п. Більша частина CO_2 , що виділяється з організму, утворюється також за рахунок Оксигену води.



➤ Без фосфатної кислоти не може відбуватися обмін вуглеводів і утворюватися АТФ.

➤ Без Феруму не синтезуються молекули гемоглобіну, міоглобіну, цитохромів і ін. сполук.

➤ Багато ферментів проявляють свою активність за наявності певних іонів металів. Тромбін не каталізує перетворення фібриногену в фібрин без іонів Ca²⁺. Карбоангідраза не розщеплює карбонатну кислоту на H₂O і CO₂ за відсутності іонів Zn²⁺. Різні АТФ-ази не розщеплюють АТФ, якщо немає іонів K⁺, Na⁺, Ca²⁺ і Mg²⁺.

5. Єдність метаболічних процесів і зовнішнє середовище

Розгляд взаємозв'язків окремих обмінів добре демонструє центральну роль у них циклу трикарбонових кислот як основного шляху. Продукти катаболізму,

розщеплення речовин різних класів, вступають у перетворення по цьому циклі й дають вихідні сполуки для біосинтезу багатьох речовин. Найважливішими ланками при цьому в багатьох випадках є ацетил-КоА й піруват. Двувуглецеві фрагменти ацетил-КоА являють собою якби універсальні будівельні елементи, на які «розбираються» багато речовин тваринного організму й з яких організм може знову синтезувати інші сполуки.

Украй істотно підкреслити, що єдність обмінних процесів є під впливом умов зовнішнього середовища. Цей вплив виражається насамперед у безперервному обміні речовинами між організмом і середовищем, що є найважливішою умовою життя як форми існування білкових тіл. Ферменти, катализуючі й тим самим регулюючі майже всі метаболічні реакції, дуже чутливі до багатьох факторам зовнішнього середовища: температурі, рН, різним випромінюванням, сольовій сполуці й т.п. У результаті ферменти через зовнішні умови впливають на весь метаболізм. Перераховані фактори середовища можуть робити також безпосередня дія на просторову структуру й хімічні властивості речовин живого організму (особливо - високомолекулярних).

6. Рівні й принципи регуляції метаболізму

Для будь-якого живого організму характерний стан високого ступеня *впорядкованості*, тобто тонке узгодження всіх біохімічних процесів. Воно спостерігається у всіляких умовах існування живої матерії: активності й спокою, індукції й репресії, аеробіозу й анаеробіозу й т.п. У всіх цих випадках діють *регулюючі механізми*, що забезпечують високий ступінь пристосованості живих організмів до відповідної ситуації, сприятливе й доцільний плин всіх життєвих процесів.

У процесі еволюції залежно від умов життя й рівня організації окремих таксономічних груп виробилася ціла мережа регуляторних і контролюючих механізмів. Варто розрізняти різні рівні систем регуляції. Найбільш проста з них - *регуляція на рівні окремих реакцій*. Можна припускати, що вже на самих ранніх етапах виникнення життя з неорганічної природи було «запозичене» елементарна система регуляції реакцій, описане законом діючих мас: швидкість реакції пропорційна добутку концентрацій реагуючих речовин. Для оборотних реакцій це означає, що нагромадження продуктів реакції призводить до уповільнення її швидкості. Таким шляхом у протобіонтів (попередники живих кліток) могли загальмовуватися реакції, у результаті яких відбулося достатнє нагромадження тої або іншої речовини.

Надалі в систему регуляції включалися, видимо, небіологічні каталізатори: катіони металів, аміни (катализують декарбоксілювання) і т.п. Їхня каталітична дія на наступних етапах еволюції посилювалося в результаті ускладнення молекул,

утворення комплексів з білками, виникли ферменти - потужні каталізатори й регулятори.

Наступний рівень регуляції - *системи багатьох сполучених реакцій*, ціла клітина. На цьому рівні першорядне значення в регуляції має узгоджено діючий ферментативний апарат клітини із системою позитивних і негативних зворотних зв'язків, включенням у регуляцію генетичного апарата. Важливо підкреслити, що на рівні систем ферментативних реакцій уже досить добре функціонує саморегуляція, «біоавтоматика» - у цьому зміст зворотних зв'язків. У регуляторних процесах на клітинному рівні велика питома вага клітинних мембран.

Високорозвинені організми на відміну від нижчих форм мають додаткові регуляторні механізми. Природа їх різноманітна. Вони можуть, наприклад, виражатися в тім, що окремі клітини в тканинах і органах втрачають свою автономність; їхній обмін речовин, швидкість розподілу, секреція підлеглі функціям органа. З'явилися фактори, що включають багатоклітинні структури в життя всього організму, що погоджують і контролюють у ньому метаболізм і функції окремих органів і тканин - нервова й ендокринна система.

Передача нервових імпульсів від одного нейрона до іншому й на іннервовані ними клітини, тканини й органи здійснюється за допомогою особливої групи речовин — *нейромедіаторів*, або *нейротрансмітерів*. Вони секретуються нервовими закінченнями й при передачі імпульсу виділяються в синаптичну щілину; взаємодіють зі специфічними рецепторами на постсинаптичній мембрані. У результаті взаємодії медіатора з рецепторами мішені змінюється постсинаптична мембрана й змінюється її іонна проникність. Вихід у синаптичну щілину управляється потенціалом пресинаптичних мембран. Запускається ряд реакцій, що змушують постсинаптичну нервову клітину або клітину іннервованої тканини, органа виконувати свої специфічні функції. Тривалість дії медіаторів регулюється певними механізмами.

Типовими нейромедіаторами є ацетилхолін і норадреналін. До цієї групи речовин відносять також адреналін, дофамін, серотонін, гліцин і глутамат. Перераховані сполуки представляють різні класи хімічних речовин, оскільки поняття нейромедіатори функціональне, а не хімічне. Медіатори на відміну від гормонів є агентами контактної, а не дистантної дії, вони проникають від місця секреції до місця дії за допомогою дифузії, тоді як гормон, щоб досягти клітини-мішені, повинен потрапити в рухливе рідке середовище організму (кров, лімфа).

У людини й тварин нервова система відіграє найважливішу роль у регуляції й інтеграції обмінних процесів. Розташовані у всіх тканинах численні рецептори постійно інформують ЦНС про вплив зовнішніх факторів, стані обмінних процесів. Потім здійснюється зворотний зв'язок між ЦНС і органами, тканинами, протікає регуляція в них метаболізму. Денервація м'язів, печінки й інших органів завжди

приводить до глибоких порушень інтенсивності й спрямованості метаболізму в денервованих тканинах. Клінічні дослідження І. П. Павлова переконливо показали провідну роль ЦНС у регуляції процесів травлення. У ЦНС розташовані спеціальні центри, що регулюють окремі види обміну, наприклад, «цукровий». Добре відомі випадки гноблення обмінних процесів при сильних нервових потрясіннях (втрата апетиту, зниження основного обміну, викид цукру в кров і сечу). Вірогідно показано, що чисто умовно-рефлекторним шляхом можна змінювати інтенсивність вуглеводного, білкового й водного обміну.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Боєчко Ф. Ф., Боєчко Л. О., Шмиголь І. В. Б63 Лабораторний практикум з біохімії: Навчально-методичний посібник. – Черкаси: Вид. від. ЧНУ імені Богдана Хмельницького, 2012. – 196 с.
2. Губський Ю. І., Ніженковська І. М., Кордата М. М. Біологічна і біоорганічна хімія : у 2 кн. : підручник. Кн. 2. Біологічна хімія. К. : ВСВ «Медицина», 2016. – 544 с.
3. Гонський Я. І., Максимчук Т. П., Калинський М. І. Біохімія людини. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002. – 744 с.
4. Губський Б. А. Біоорганічна хімія. Вінниця: Нова книга, 2019. – 432 с.
5. Зіменковський Б. С., Музиченко В. А., Ніженковська І. В, Сирова Г. О. Біологічна і біоорганічна хімія : у 2 кн. : підручник. Кн. 1. Біоорганічна хімія. К.: ВСВ «Медицина», 2017. – 272 с.
6. Нельсон Д. Л., Кокс М. М. Основи біохімії за Ленінджером / пер. з англ. : О. Матишевська та ін. ; наук. ред. перекладу: С. Комісаренко. – Львів: вид-во «БаК», 2015. – 1256 с.

Навчальне видання

БІОХІМІЯ

Курс лекцій, лабораторних робіт та тестів
для здобувачів першого (бакалаврського) рівня вищої освіти
спеціальностей 091 Біологія та 014 Біологія та здоров'я людини

Укладачі:

Іонов Ігор Анатолійович
Дехтярьова Олена Олександрівна
Москальов Віталій Борисович
Борзик Олена Богданівна