

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

КАФЕДРА БІОЛОГІЧНОЇ ХІМІЇ

ОБМІН ПРОСТИХ БІЛКІВ В НОРМІ ТА ПРИ ПАТОЛОГІЇ

НАВЧАЛЬНИЙ ПОСІБНИК
для студентів 2 курсу медичних факультетів
спеціальностей «Медицина», «Педіатрія»

Запоріжжя

2020

УДК 547.96(075.8)

А 46

*Затверджено на засіданні Вченої ради ЗДМУ
протокол № 10 від 29.05.2020 р.
і рекомендовано для використання в освітньому процесі*

Рецензенти:

О. Я. Скляр – д-р мед. наук, заслужений професор Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, академік УАН;

О. А. Бражко - завідувач кафедри хімії Запорізького національного університету, професор, д-р біол. наук.

Автори:

К. В. Александрова – д-р хім. наук, професор;

Н. В. Крісанова – канд. біол. наук, доцент;

Н. П. Рудько – канд. біол. наук, ст. викладач.

Александрова К.В.

А 46

Обмін простих білків в нормі та при патології: навчальний посібник для студентів 2 курсу медичних факультетів / К. В. Александрова, Н. В. Крісанова, Н. П. Рудько. - Запоріжжя : [ЗДМУ], 2020. – 140 с.

Навчальний посібник складено відповідно до навчальних програм з біологічної хімії для студентів медичних ЗВО України III-IV рівнів акредитації спеціальностей «Медицина», «Педіатрія». Рекомендовано для підготовки до практичних занять та складання іспитів з дисципліни «Біологічна хімія».

УДК 547.96(075.8)

©Александрова К. В., Крісанова Н. В., Рудько Н. П., 2020.

©Запорізький державний медичний університет, 2020.

ЗМІСТ

| | |
|--|-----|
| Передмова..... | 4 |
| 1. КАТАБОЛІЗМ БІЛКІВ..... | 6 |
| 1.1. Роль білків у харчуванні людини. Азотистий баланс..... | 6 |
| 1.2. Перетравлення білків у шлунково-кишковому тракті..... | 10 |
| 1.3. Сучасні уявлення про протеоліз..... | 19 |
| 1.3.1. Загальне уявлення про позаклітинний протеоліз..... | 21 |
| 1.3.2. Внутрішньоклітинні системи протеолізу..... | 30 |
| 1.3.3. Убіквітин-залежний протеасомний шлях протеолізу..... | 36 |
| 1.3.4. Приклади обмеженого протеолізу в організмі людини..... | 43 |
| 1.3.5. Значення протеолізу для організму людини в цілому..... | 46 |
| 2. БІОСИНТЕЗ БІЛКІВ..... | 47 |
| 2.1. Генетичний код..... | 50 |
| 2.2. Етапи трансляції..... | 54 |
| 2.3. Характеристика компонентів білоксинтезуючої системи..... | 62 |
| 2.4. Механізм трансляції..... | 75 |
| 2.5. Вплив фізіологічно активних сполук на біосинтез білків..... | 84 |
| 3. МЕТАБОЛІЗМ АМІНОКИСЛОТ..... | 90 |
| 3.1. Загальні шляхи обміну амінокислот..... | 92 |
| 3.2. Спеціалізовані шляхи обміну амінокислот..... | 101 |
| Тестові завдання для перевірки знань та відповіді до них..... | 129 |
| РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА..... | 140 |

Передмова

Обмін білків займає особливе місце в різноманітних перетвореннях речовин, характерних для усіх живих організмів. Виконуючи ряд унікальних функцій, властивих живій матерії, білки визначають макроструктуру окремих субклітинних утворень, специфіку організації клітин, органів і цілісного організму, а також, в значній мірі, динамічний стан між організмом і навколишнім середовищем. Білковий обмін строго специфічний, спрямований і налаштований таким чином, що забезпечує безперервність відтворення та оновлення білків організму. Протягом життєдіяльності в організмі постійно і з високою швидкістю відбуваються два пропротилежних процеси: розщеплення органічних макромолекул і надмолекулярних структур і синтез цих сполук. Провідну роль у створенні складної структурної організації живого з хаосу речовин навколишнього середовища відіграють саме білки. Усі інші види обміну підпорядковані цій глобальній задачі живого - самовідтворення шляхом програмованого синтезу специфічних білків, насамперед, ферментів. Для здійснення цього використовується енергія катаболізму вуглеводів і ліпідів, вуглецевих залишків амінокислот, проміжних продуктів метаболізму вуглеводів та ін.

Білки також можуть бути використані у якості енергетичного ресурсу, особливо при надмірному їх надходженні з їжею або в екстремальних ситуаціях, коли білки організму посилено розпадаються, компенсуючи недостатність поживних речовин, наприклад, при голодуванні або патології (цукровий діабет). Ця енергія зазвичай може бути повністю замінена енергією окислення вуглеводів і ліпідів, однак при тривалому виключенні цих речовин з їжі у тварин не спостерігається істотних патологічних відхилень, тоді як виключення білків з їжі навіть на короткий термін призводить до виражених порушень, а іноді і до необоротних патологічних змін. Якщо людина знаходиться на малобілковій дієті, то у неї може розвинути білкова недостатність - патологічний стан, що характеризується порушенням ряду важливих фізіологічних функцій організму. Білки є

незамінними для організму речовинами, які виконують насамперед пластичну функцію. Специфічна роль білків, однак, цим не обмежується. У дослідах на тваринах було показано, що білкова недостатність у тварин проявляється не стільки в зменшенні маси органів і тканин, скільки в зниженні активності ферментів, обумовленому уповільненням процесів біосинтезу білків.

Таким чином, крім пластичної ролі, білки виконують унікальну каталітичну функцію. Деякі білки, поліпептиди та олігопептиди за своєю функцією є гормонами або іншими біологічно активними сполуками, що регулюють процеси обміну речовин в організмі. Отже, саме білковий обмін координує, регулює і інтегрує різноманіття хімічних перетворень в цілому живому організмі, підпорядковуючи його завданням збереження виду і забезпеченню тим самим безперервності життя.

Характерною особливістю білкового метаболізму є його надзвичайна розгалуженість. В метаболізмі 21 амінокислоти, що входять до складу білкових молекул, в організмі людини беруть участь сотні проміжних метаболітів, тісно пов'язаних з обміном вуглеводів і ліпідів. Число ферментів, які каталізують хімічні реакції перетворення азотовмісних речовин, обчислюється сотнями. Блокування одного специфічного метаболічного шляху навіть однієї амінокислоти (зазвичай спостерігається при вроджених вадах обміну), може привести до утворення абсолютно інших неспецифічних продуктів обміну, так як виникають умови для неспецифічних перетворень тих метаболітів, які накопичуються з причини блокування їх перетворення у ланцюгових реакціях даного метаболічного шляху. Очевидною є виняткова перспективність вивчення метаболізму білків з метою з'ясування особливостей їх катаболізму і анаболізму, оволодіння тонкими молекулярними механізмами яких, безсумнівно, дає ключ до розуміння розвитку і перебігу патологічних процесів і відповідно до цілеспрямованого впливу на біохімічні та фізіологічні процеси живих організмів.

1. КАТАБОЛІЗМ БІЛКІВ

1.1. РОЛЬ БІЛКІВ У ХАРЧУВАННІ ЛЮДИНИ.

АЗОТИСТИЙ БАЛАНС

Білки є незамінним компонентом їжі. На відміну від білків - вуглеводи і жири не є незамінними компонентами їжі. Щодоби дорослою здоровою людиною споживається близько 100 грамів білків. У економічному сенсі білки є найдорожчим харчовим компонентом. Проте харчові білки - це головне джерело азоту для організму. Тому дуже важливим в історії біохімії та медицини було встановлення норм білка в харчуванні. У досліджах Карла Фойта вперше були встановлені норми споживання харчового білка – 118 г / добу, вуглеводів – 500 г / добу, жирів 56 г / добу. М. Рубнер першим визначив, що 75% азоту в організмі знаходиться у складі білків. Він склав баланс азоту (визначив, скільки азоту людина втрачає за добу і скільки азоту споживається з їжею).

Азотистий баланс = Кількість вжитого з їжею азоту – Кількість виведеного з організму азоту.

У дорослої здорової людини спостерігається азотиста рівновага - «нульовий баланс азоту» (добова кількість виведеного з організму азоту відповідає кількості засвоєного).

Позитивний азотистий баланс (кількість виведеного з організму азоту за добу менша, ніж кількість засвоєного) спостерігається в зростаючому організмі або при відновленні білкових структур (наприклад, в період одужання при важких захворюваннях або при нарощуванні м'язової маси), а також при рості пухлин.

Негативний азотистий баланс (добова кількість виведеного з організму азоту вища, ніж кількість засвоєного) спостерігається при білковій недостатності в організмі. Причинами такої недостатності може бути недостатня кількість білків у харчових продуктах; при голодуванні, при захворюваннях, що супроводжуються підвищеним руйнуванням білків.

В історії біохімії проводилися експерименти, коли люди, що приймали участь у експерименті, споживали тільки вуглеводи і жири («безбілкова дієта»). У цих умовах вимірювали азотистий баланс. Через кілька днів від початку експерименту виведення азоту з організму зменшувалося до певного значення, і після цього підтримувалося тривалий час на постійному рівні: людина втрачала щодоби 53 мг азоту на кг ваги на добу (приблизно 4 г азоту на добу). Ця кількість азоту відповідає приблизно 23-25 г білка. Цю величину назвали "коефіцієнтом зношування". Потім щодня додавали в раціон 10 г білка, і це призвело до того, що виведення азоту збільшилося, але все одно спостерігався негативний баланс азоту. Тоді в їжу стали додавати 40-45-50 грамів білка на добу. При такому вмісті білка в їжі спостерігався нульовий баланс азоту (азотиста рівновага). Цю величину (40-50 грамів білка на добу) назвали фізіологічним мінімумом білка.

У даний час встановлено, що 8 з 21 протеїногенних амінокислот є незамінними для людини. Добова потреба у кожній з незамінних амінокислот складає приблизно 1-1,5 грами, а в цілому організм людини потребує 6-9 грамів незамінних амінокислот на добу. Вміст незамінних амінокислот в різних харчових продуктах може суттєво відрізнятися, тому і фізіологічний мінімум білка може бути різним для різних продуктів. У яєчному білку міститься повний набір амінокислот. При харчуванні рослинними білками необхідно набагато більше білка для забезпечення фізіологічного мінімуму. Скільки необхідно вживати білка для підтримання азотистої рівноваги? 20 грамів яєчного білка, або 26-27 грамів білків м'яса або молока, або 30 грамів білків картоплі, або 67 грамів білків пшеничного борошна.

В Україні прийнято норми білків, згідно з якими завдяки білку їжі має забезпечуватися 12 % загальної енергетичної потреби організму; 50 % білка рекомендованої норми має бути тваринного походження.

Потреба у білку залежить від віку, статі, характеру трудової діяльності, кліматичних та національних особливостей харчування. Білковий мінімум дорівнює 0,3-0,4 г/добу ідеального білка на 1 кг маси тіла. У дорослої

здорової людини азотиста рівновага підтримується при надходженні за 1 добу з їжею не менше 55-60 г білка, біологічна цінність якого дорівнює 70 %.

Однак, за різних обставин втрата білків організмом може підсилуватись і тоді споживання їх у межах встановленого мінімуму призведе до негативного азотистого балансу. Через це, згідно з рекомендацією FAO (англ. Food and Agriculture Organization) та WHO (англ. World Health Organization), білка потрібно вживати 85-90 г/добу.

Забезпечення організму достатньою кількістю білку є необхідною умовою забезпечення нормального росту організму, психічного та фізичного розвитку людини, адаптації до навколишнього середовища та протидії шкідливим факторам. У спрощеному варіанті середню потребу людини у білку визначають рівною не менше ніж 1 г харчового білка на 1 кг ваги тіла. Рекомендовані норми добових потреб в білках для дорослого працездатного населення України згідно з наказом Міністерства охорони здоров'я України (№ 1073 від 03.09.2017) наведено в таблиці 1. Оптимальне співвідношення білків, жирів і вуглеводів (за масою) в добовому раціоні становить 1:1:4.

Потреба дітей у білку значно вища, ніж у дорослих. Вона складає від 4 до 1,5 г/кг маси тіла у зв'язку з перевагою в організмі пластичних процесів. Зростає потреба у білку при важкій фізичній праці, вагітності, лактації.

Надмірний вміст білків у раціоні харчування може прозводити до збільшення утворення аміаку у тканинах, токсичних продуктів у товстому кишечнику, підвищення навантаження на печінку, у якій відбувається їх знешкодження, і на нирки, через які вони виводяться з організму.

Тривала білкова нестача аліментарного походження призводить до пригнічення функції гіпофізарно-надниркової системи, послаблення процесу гальмування в центральній нервовій системі, погіршення процесу утворення умовних рефлексів, зниження функції щитовидної залози. При низькому рівні білка в раціоні знижується рівень альбумінів у крові, зростають втрати амінокислот із сечею. Відіграють роль і метаболічні порушення, що

виникають при білковій недостатності, обумовлені глибокими змінами активності різних ферментних систем клітин.

Таблиця 1. Добова потреба дорослого населення в білках, жирах, вуглеводах та енергії (працівників переважно розумової праці, дуже легка фізична активність)

| Стать | Вік (років) | Енергія (ккал) | Білки (г) | | Жири (г) | Вуглеводи (г) |
|----------|-------------|----------------|-----------|-----------------------|----------|---------------|
| | | | всього | у тому числі тваринні | | |
| Чоловіки | 18-29 | 2450 | 80 | 40 | 81 | 350 |
| | 30-39 | 2300 | 75 | 37 | 77 | 327 |
| | 40-59 | 2100 | 68 | 34 | 70 | 300 |
| Жінки | 18-29 | 2000 | 61 | 30 | 62 | 300 |
| | 30-39 | 1900 | 59 | 29 | 60 | 280 |
| | 40-59 | 1800 | 58 | 28 | 58 | 240 |

Вплив екстремальних факторів різної природи призводить до аналогічних змін у білковому обміні. Отже, навіть при нормальному вмісті білка в раціоні часті та тривалі екстремальні впливи можуть викликати порушення обміну речовин, які характерні для білкової недостатності, що знижує стійкість організму до впливу шкідливих факторів. Це явище має особливо велике значення у сучасних умовах, коли на організм людини діють несприятливі фактори навколишнього середовища, до яких організм еволюційно не пристосований.

1.2. ПЕРЕТРАВЛЕННЯ БІЛКІВ У ШЛУНКОВО-КИШКОВОМУ ТРАКТІ

У шлунково-кишковому тракті дорослої людини щодня перетравлюється близько 70-100 г екзогенних білків (тобто білків харчових продуктів).

Фактори, що впливають на щоденну потребу у білках:

1) *Вік пацієнта:* цей фактор є дуже важливим насамперед для дітей.

Нижче наведена кореляція добової потреби у білку у розрахунку на один кг маси тіла за віком:

| Вік, років | г/кг маси тіла \pm 20% |
|------------|--------------------------|
| 1-3 | 0,88 |
| 4-6 | 0,81 |
| 7-12 | 0,77 |
| Дорослі | 0,59 |

2) *Якість білка:* вона визначається порівнянням пропорцій незамінних та замінних амінокислот у білковій їжі. Чим ближче пропорції, тим вище якість білка необхідного для повноцінного харчування. Яєчні та молочні білки - це високоякісні білки для організму людини. М'ясні білки мають достатньо високу якість білка, тоді як у складі рослинних білків, які використовуються в якості харчових речовин, часто бракує певних незамінних амінокислот, наприклад: триптофан (Trp) та лізин (Lys) відсутні у кукурудзі.

3) *Високе споживання енергії:* енергія, яка утворюється при розпаді вуглеводів та жирів, впливає на потреби у білку, оскільки вона знижує використання білка як джерела енергії. Неефективно використовувати якісний дієтичний білок як джерело енергії, можна зменшити його кількість до мінімуму шляхом адекватного забезпечення енергією за рахунок небілкових джерел, частина з яких має бути вуглеводною.

4) *Фізичні навантаження* підвищують потреби людини в харчових білках, тому що в організмі такої людини підвищується швидкість застосування усіх енергетичних джерел, у тому числі, вільних амінокислот, які утворюються при перетравленні білків. З другого боку, фізичні навантаження є фактором

стимуляції синтезу та секреції гормону росту і інших факторів росту (близько 155 різноманітних факторів росту поліпептидної природи синтезується в організмі людини), які є стимуляторами синтезу білків із вільних амінокислот в тканинах людини (м'язовій, сполучній та ін.).

Існує дві крайні форми білкового недоїдання як патологічні стани:

- аліментарна дистрофія, аліментарний маразм (від лат. Alimentum - їжа, зміст) - важка форма білково-енергетичної недостатності з переважанням енергетичної;
- квашиоркор, він характеризується набряками (які пов'язані з дефіцитом альбумінів у плазмі крові), хоча споживання енергії може бути достатнім, у хворих спостерігається дефіцит як кількості, так і якості білка в харчуванні.

Аліментарна дистрофія в основному спостерігається у дітей до 1 року, у той час, як квашиоркор - після 18 місяців.

Поліпептиди та білки харчових продуктів не поглинаються неушкодженими, спочатку їх слід гідролізувати до вільних амінокислот. Протеолітичні ферменти, які виконують цю функцію, містяться в шлунковому соку, панкреатичному соку та на поверхні клітин тонкого кишечника.

Шлунковий сік: його склад та регуляція секреції

Шлунковий сік - це прозора, бліда, жовта рідина, яка містить 0,2-0,5% HCl, 97-99% води, тобто це розчин з рН близько 1,0-2,5. Залишок складається з муцинових та неорганічних солей, травних ферментів (пепсину, ренніну, гастриксину) та ліпази (присутня у дітей лише у віці приблизно 1-3 роки).

Основним компонентом шлункового соку є соляна кислота. Вона вбиває мікроорганізми, викликає денатурацію білків, забезпечує розщеплення пепсиногену до перших молекул пепсину і створює кислотне середовище для його дії. У шлунковому соці є також кислі фосфати і карбонати.

Фактори контролю секреції та складу шлункового соку:

- 1) Сімейство гастринів контролює секрецію шлункового соку та пепсиногену: гастрин стимулює секрецію шлункового соку. Холецистокінін пригнічує секрецію шлункового соку, стимулює скорочення шлунка та секрецію панкреатичного соку. Гістамін стимулює секрецію шлункового соку;
- 2) Імунореактивна речовина, що нагадує бомбезин, стимулює вивільнення гастрину та холецистокініну;
- 3) Вазоактивний пептид кишечника (він продукується клітинами слизової оболонки) гальмує секрецію соляної кислоти;
- 4) Ентерogaстрон (він продукується клітинами слизової оболонки дванадцятипалої кишки) пригнічує секрецію соляної кислоти та пепсиногену.

Ферменти шлункового соку людини

Пепсин. Неактивний попередник пепсину - пепсиноген, що виробляється клітинами слизової оболонки фундальної частини шлунка, перетворюється на пепсин в присутності соляної кислоти, що міститься в шлунковому соку. Процес активації пепсиногену протікає аутокаталітично з максимальною швидкістю при $\text{pH} = 2$. Від N-кінцевої ділянки молекули пепсиногена відщеплюється кілька пептидів із загальною масою 8000 Да. Пепсин — глобулярний білок з молекулярною масою близько 34500 Да. Молекула пепсину складається з одного поліпептидного ланцюга, що містить 340 амінокислотних залишків, формування його третинної структури відбувається завдяки трьом дисульфідним зв'язкам (-S-S-) і неорганічному фосфату. Пепсин — ендopeптидаза, яка розщеплює внутрішні пептидні зв'язки в молекулах білків і пептидів (крім кератинів та інших склеропротеїнів) з утворенням більш коротких пептидів і вільних амінокислот. З найбільшою швидкістю пепсин гідролізує пептидні зв'язки, які утворені ароматичними амінокислотами — тирозином і фенілаланіном.

Реннін. Це важливий фермент (інша назва - хімозин) перетравлення білків у немовлят, оскільки він перешкоджає швидкому проходженню молока зі шлунку у duodenum. У присутності кальцію реннін незворотно

перетворює казеїн молока на параказеїн, який потім гідролізується пепсином. Реннін відсутній у шлунку дорослих. Слід зазначити, що активність пепсину та його концентрація багато менше у немовлят, ніж у дорослих. У дітей першого року життя протеолітична активність шлункового соку низька, а активність пепсину на 30-50% нижча, ніж у дітей старшого віку. Протягом першого року життя протеолітична активність шлункового соку зростає майже в 3 рази. Після народження дитини рН шлункового соку складає 6,5-8,0, по мірі росту дітей рН зростає, але не досягає величин рН у дорослих. Становлення шлункової секреції розглядають як еволюційно сформовану адаптацію дитини до материнського молока, яке легко засвоюється. Низький кислотно-пептичний потенціал шлунка новонародженого забезпечує збереження імуноглобулінів, особливо групи А, які захищають дитину в перші дні життя від масивної бактеріальної інвазії в період, коли особистий активний імунітет лише починає формуватися.

Гастриксин. У дорослої людини у шлунковому соці присутній також фермент гастриксин, який має здатність розщеплювати внутрішні пептидні зв'язки між дикарбоновими амінокислотними залишками (глутамату та аспартату). Оптимальний показник рН для дії цього ферменту становить приблизно 3,3.

Основними продуктами пептичного гідролізу білків у шлунку є великі пептиди та деякі вільні амінокислоти. Вивільнені пептиди діють як стимулятори секреції холецистокініну у дванадцятипалій кишці, сприяючи початку перетравлення у duodenum і, потім, у тонкому кишечнику. Слід зазначити, що продукти початкового протеолізу, які утворені дією пепсину на харчові білки, є лігандами G-клітин слизової антральної частини шлунка і дванадцятипалої кишки, викликаючи секрецію ними гастринів. А дані пептиди є основними стимуляторами секреції HCl паріетальними клітинами, в меншій мірі - секреції пепсиногенів головними клітинами шлункових залоз.

Перетравлення у дванадцятипалій кишці та у тонкому кишечнику

Панкреатичні проферменти та їх активні форми

Ендопептидази та карбоксипептидази виділяються з ацинарних клітин підшлункової залози в панкреатичний сок у вигляді проензимів під впливом секретину та холецистокініну (інша назва - панкреозимін).

Активація трипсиногену відбувається під дією ентерокинази, яка секретується епітеліальними клітинами дванадцятипалої кишки, і тоді, після утворення перших молекул трипсину, відбувається аутокаталіз трипсиногену. *Трипсин* з найбільшою швидкістю гідролізує пептидні зв'язки, які утворені діаміномонокарбоновими кислотами — лізином та аргініном. Трипсин є фактором для активації багатьох панкреатичних проферментів в тонкому кишечнику (рис. 1):

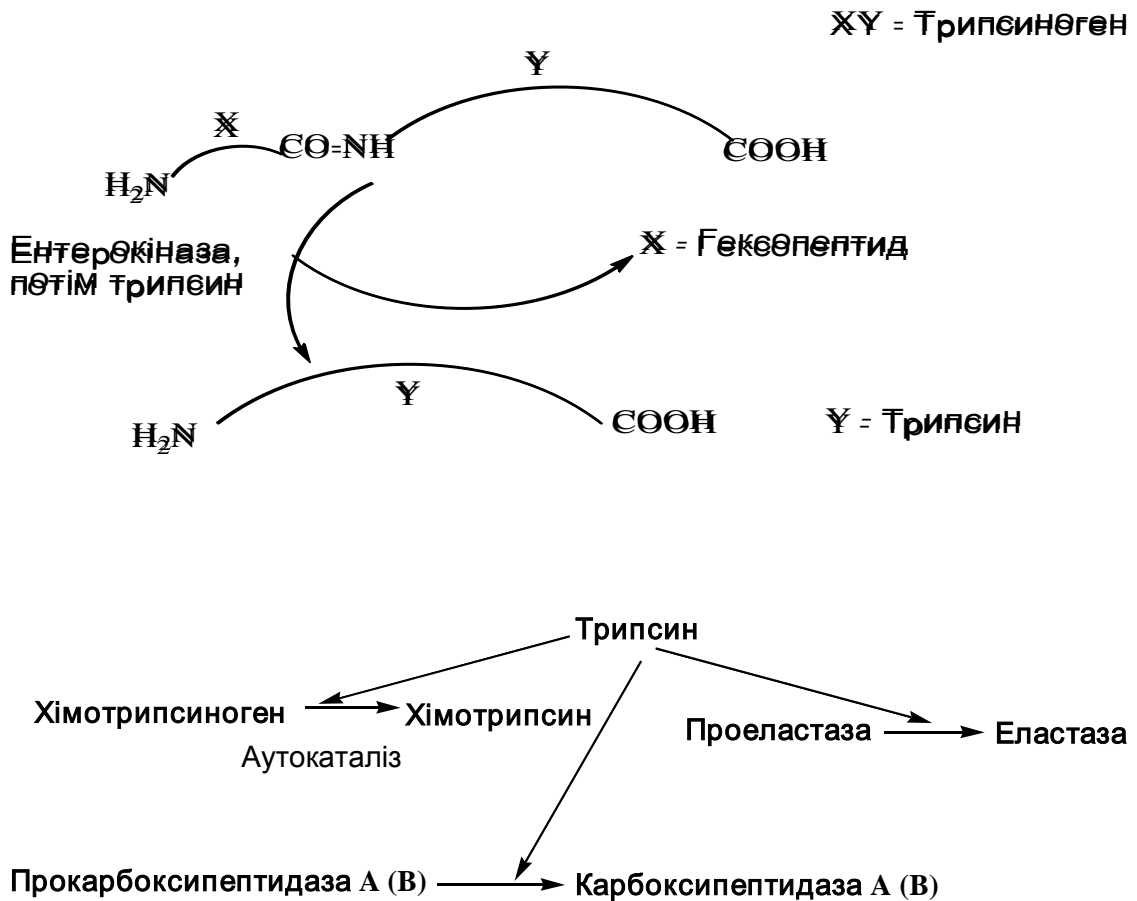


Рис. 1. Активація трипсиногену та вплив трипсину на процес активації деяких проферментів.

Хілотрипсин – ендопептидаза, її специфічність дії схожа з пепсином, але хілотрипсин може розщеплювати також складні ефіри, гідроксиаміди та

інші ацильовані похідні; оптимальний показник рН його дії становить близько 8,0.

Карбоксипептидази А і В (містять Zn^{2+}) є екзопептидазами, вони розщеплюють зовнішні пептидні зв'язки, але їх специфічність дії не схожа. Обидва типи ферментів розщеплюють С - кінцевий пептидний зв'язок, але карбоксипептидаза А розщеплює зв'язок між залишками ароматичних амінокислот, а карбоксипептидаза В розщеплює зв'язок між залишками лізину та аргініну.

Еластаза (є ендопептидазою) має свою особливу ціль - субстрат еластин (основний білковий компонент сполучної тканини; він містить велику кількість залишків гліцину та серину. Еластаза атакує переважно місця поліпептидного ланцюга, де є амінокислотні залишки з малими гідрофобними радикалами (Ала, Сер, Глі).

Кишкові протеази: амінопептидази, дипептидази, трипептидази

На поверхні клітин кишечника триває перетравлення поліпептидів до вільних амінокислот. Дипептиди і трипептиди зазвичай абсорбуються, але можливе їх перетравлення до вільних амінокислот дипептидазами і трипептидазами (відповідно) в епітеліальних клітинах кишечника. Амінопептидази видаляють N-кінцевий амінокислотний залишок з коротких поліпептидів.

Фактори контролю перетравлення у duodenum та у тонкому кишечнику

- 1) Секретин і холецистокінін стимулюють секрецію панкреатичного соку.
- 2) Хімоденін стимулює секрецію панкреатичного соку з високою концентрацією хімотрипсиногену.
- 3) Ентерокінін стимулює секрецію епітеліальних клітин кишечника, які продукують ентерокіназу та кишкові протеази.

Виділення холецистокініну клітинами дуоденальної слизової відбувається за допомогою декількох механізмів, але значну роль в них відіграють продукти неповного гідролізу харчових білків (не амінокислоти, а пептиди).

Холецистокінін виступає головним паракрінним, рефлекторним і гуморальним стимулятором панкреатичних клітин, які секретують комплекс гідролітичних ферментів підшлункової залози, здебільшого саме цей пептид стимулює холекінез. Панкреатичний екзосекрет і жовч забезпечують перетравлення у тонкому кишечнику.

Пептиди, які утворилися в результаті обмеженого протеолізу зимогенів метаболізуються, але вони можуть бути фізіологічно активними. В експерименті на свавцях було показано, що синтетичний пептид (Gly- (Asp) 4-Lys) – аналог пептиду, що відщеплюється при активації трипсиногену, при інтрадуоденальному введенні має властивість знижувати секрецію ферментів підшлункової залози. Обмежений протеоліз панкреатичних зимогенів є обов'язковим в саморегуляції панкреатичної секреції в природних умовах. При цьому роль дуоденального інгібітора секреції відіграють активовані протеїнази і відщеплений від зимогену гексапептид, а сам зимоген такої властивості не має, або вона вкрай незначна.

Абсорбція вільних амінокислот відбувається у тонкому кишечнику завдяки спеціальним транспортним системам, які розташовані в мембранах ентероцитів:

- γ -Глутамілтрансфераза – спеціальна система (глутатіон-залежна) транспорту ароматичних та нейтральних амінокислот з малим і великим вуглецевим радикалом;
- транспортна система для моноамінодикарбонових кислот (аспартату та глутамату);
- транспортна система для основних амінокислот (аргініну, лізину) і цистину;
- транспортна система для проліну та гліцину.

*Визначення деяких показників для оцінки якості
процесу перетравлення білків у шлунку пацієнтів*

Основними тестами дослідження шлункового соку (індекси для дорослих) є:

1) *Визначення його об'єму*: а) натщесерце - не вище 50 мл; б) інтенсивність базальної секреції - 50-100 мл / за 1 годину; в) секреція після стимуляції (метод Н. П. Лепорського) - 50-110 мл / за 1 годину; г) субмаксимальна стимуляція гістаміном - 100-140 мл / за 1 годину; д) максимальна стимуляція гістаміном - 180-200 мл / за 1 годину.

2) *Загальна кислотність шлункового соку* повинна бути в районі 40-60 ммоль/л.

3) *Вміст вільної соляної кислоти* повинен бути в районі 20-40 ммоль/л

4) *Вміст кон'югованої соляної кислоти* повинен бути в межах 10-20 ммоль/л

Підвищення загальної кислотності шлункового соку та вмісту вільної соляної кислоти (*гіперхлоргідрія*) може бути при виразці шлунку та у разі надмірної секреції шлункового соку.

Зниження загальної кислотності шлункового соку та вмісту вільної соляної кислоти (*гіпохлоргідрія*) спостерігається під час субацидного гастриту або при появі карциноми шлунка.

Повна відсутність соляної кислоти в шлунковому соку і значне зниження загальної кислотності (*ахлоргідрія*) може бути при карциномі шлунка.

Ахлоргідрія перетворюється в *ахілію*, при цьому у шлунковому соці повністю відсутні усі кислі компоненти та пепсин. Ахлоргідрія після стимуляції гістаміном є ознакою атрофії епітеліальних клітин шлунка, ознакою гастриту з блокованою секрецією.

Лактат з'являється в шлунковому соці під час інтенсивного процесу бродіння вуглеводних компонентів харчових продуктів в умовах гіпо- і ахлоргідрії. Існує також припущення, що лактат є продуктом ракових клітин шлунка.

Концентрація пепсину (після стимуляції) натщесерце повинна бути у здорової дорослої людини в межах 0,2-0,4 мг/мл або 20-40 одиниць/мл (метод Пятницького та ін.).

Лікарі підтверджують розвинення:

- 1) ацидного стану, якщо рН (після максимальної стимуляції гістаміном) шлункового соку становить приблизно 6,0 або вище;
- 2) стану ахлоргідрії, якщо рН (після максимальної стимуляції гістаміном) шлункового соку знаходиться в межах 3,5-6,0;
- 3) стану гіпохлоргідрії, якщо рН (після максимальної стимуляції гістаміном) шлункового соку знаходиться в межах 2,5-3,5.

*Наслідки порушень процесів всмоктування амінокислот
та їх перетворення в товстому кишечнику*

Якщо в тонкій кишці не відбувається нормальне всмоктування амінокислот, ферменти мікрофлори товстої кишки здатні каталізувати різні метаболічні перетворення амінокислот. У цьому випадку виробляються деякі токсичні продукти (рис. 2):

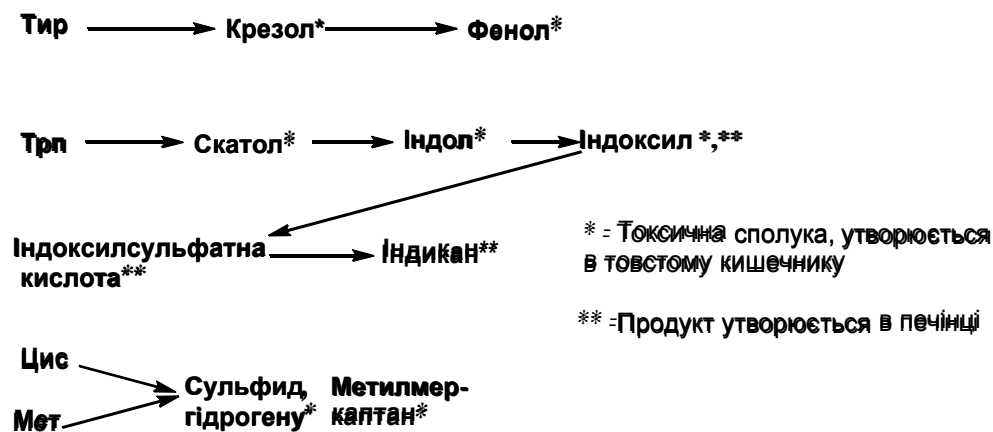


Рис. 2. Утворення токсичних сполук при дії ферментів мікрофлори товстого кишечника та деякі продукти їх утилізації.

У печінці є деякі захисні ферментативні системи, які утилізують ці токсичні продукти:

- 1) УДФ-глюкуронілтрансфераза;
- 2) Фосфаденозилфосфосульфаттрансфераза;
- 3) Ферментна система для кон'югації з гліцином;
- 4) Ферментна система для кон'югації з глютаміном
- 5) Глутатіонтрансфераза.

Визначення концентрації індикану в сечі дозволяє оцінити швидкість гниття білка в товстій кишці, а також діагностувати функціональний стан

печінки пацієнта. Для цього також використовують швидкий тест - пробу Квіка (визначення гіппурової кислоти в сечі після введення per os бензоату натрію): пацієнту призначається пероральна доза бензоату натрію 3-4 г. Через 3 години в сечі пацієнта визначають концентрацію гіппурової кислоти. Якщо її вихід складає 65%-85% від початкової маси бензоату натрію, підтверджується здоровий стан печінки у пацієнта. При зниженні цього показника можливо зробити висновок: порушена детоксикаційна функція печінки.

1.3. СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ПРО ПРОТЕОЛІЗ

На даний час вважається загальноприйнятим, що в процесі життєдіяльності практично усі білки постійно замінюються. Однак, підтримання постійного рівня білків в організмі визначається не тільки синтезом білка, але і його розпадом. Всі внутрішньоклітинні білки та багато позаклітинних білків постійно утилізуються, тобто вони гідролізуються до складових амінокислот і замінюються завдяки новому синтезу. У цілому катаболізм білків (протеоліз) вивчений менше, ніж їх синтез.

Довгий час вважали, що протеолізу підлягають лише ті білки, що локалізовані в цитоплазмі, допускали також можливість протеолізу ядерних білків. Наразі ясно: цитозольні протеолітичні системи здатні розщеплювати також мембранні білки, проте для цього вони повинні переміститися у цитозоль.

На даний час протеоліз білкових молекул розглядається на різних рівнях організації: органному (перетравлення білків у шлунково-кишковому тракті), тканинному (позаклітинний протеоліз) і клітинному. У клітині розщеплення білків йде на поверхні плазматичної мембрани, всередині ліпідного бішару, в цитоплазмі, цитоплазматичних везикулах і лізосомах.

Усі клітинні білки постійно синтезуються і деградують. У зв'язку з тим, що білки мають різні періоди життя, які обумовлені їх структурою, виділяють довго- і короткоживучі білки. Одним із головних параметрів, що

визначає тривалість існування білка, є кількість доступних розщепленню пептидних зв'язків.

Більшість регуляторних білків (білки, що беруть участь у регуляції клітинного циклу, ферменти, фактори транскрипції) - короткоживучі. Вони існують від декілька хвилин до декількох годин. У той же час інші білки (наприклад, структурні) живуть від кількох годин до кількох днів.

Молекули білків можуть існувати в різних конформаціях, але вони здатні розщеплюватися, тільки знаходячись у визначеному конформаційному стані. Виявлено взаємозв'язок між розміром білкових субодиниць та швидкістю їхньої деградації. За допомогою методу радіоізотопної індикації показано: чим більше маса білкової субодиниці, тим більш короткий її період напіврозпаду. Найбільш доступні для деградації білки з великою молекулярною масою, або білки, що мають різні «помилки» у послідовності амінокислот. Швидко розщеплюються денатуровані і короткоживучі білки. Швидкість деградації білкової молекули залежить також і від її заряду: пептиди, що мають короткий період напівжиття, мають великий негативний заряд, тобто більш низьку ізоелектричну точку. Гідрофобність білку також є визначальним чинником у тривалості періоду напіврозпаду. Гідрофобні білки більш доступні до дії протеолізу, тому вони є короткоживучими.

Виділяють два типи протеолізу - *повний і обмежений*. Повний протеоліз йде до дипептидів і амінокислот. Цей процес може бути селективним і неселективним. Селективна білкова деградація необхідна для регуляції клітинного циклу і для видалення пошкоджених і непотрібних білків, а неселективна бере участь в постачанні амінокислот для синтезу білків.

Обмежений протеоліз білкової молекули йде не до повного розщеплення білкової молекули. Іноді обмежений протеоліз зводиться до здійснення єдиного протеолітичного розриву. В результаті цього процесу білок переходить в новий функціональний стан, при цьому може змінюватися конформація молекули і її молекулярна маса. Фрагменти, які утворені в

результаті обмеженого протеолізу, можуть далі функціонувати як індивідуальні молекули або залишатися асоційованими один з одним. Таким чином, здійснюється пост-трансляційний процесинг білків, перехід білків від їх пре- і проформи до зрілої молекули (має місце для багатьох ферментів). Обмежений протеоліз може призводити до зміни локалізації білка (наприклад, утворення розчинних форм і вихід їх в позаклітинний простір в результаті протеолізу білків з поверхні мембрани). Важливою складовою обмеженого протеолізу є утворення пептидів. Ці пептиди можуть виконувати різні регуляторні функції і брати участь в презентації для Т-лімфоцитів в складі молекул гістосумісності на поверхні мембран різних клітин.

1.3.1. Загальне уявлення про позаклітинний протеоліз

Позаклітинний протеоліз це *тканинний протеоліз, що йде безпосередньо в екстраклітинному просторі і на зовнішній поверхні клітинної мембрани*. Ці процеси є дуже важливими в підтриманні гомеостазу організму людини. Основними позаклітинними тканинними протеазами є протеази системи згортання крові, фібринолізу, калікреїн-кінінової, ренін-ангіотензинової систем, протеолітичні ферменти комплементу і деякі цинк-залежні протеази. Ці ферменти можуть перебувати безпосередньо в міжклітинному просторі або в біологічних рідинах, а також можуть експресуватися на клітинній мембрані, в глибині тканин або на клітинах, що вистилають судини або порожнини органів.

Особливості класифікації протеолітичних ферментів в організмі людини

Протеоліз забезпечується дією протеолітичних ферментів. Протеолітичні ферменти, що беруть участь в розщепленні білкових молекул відносяться до класу гідролаз (ЕС 3). Для позначення даних ферментів рекомендовано термін «пептидази» або «пептидні гідролази» (підклас ЕС 3.4). Як синонім запропоновано використовувати термін «протеаза». Ці ферменти діляться на дві великі групи: екзопептидази, що розщеплюють пептидний зв'язок тільки поблизу кінців білкової молекули (субпідкласи ЕС

3.4.11-19), і ендopeптидази, що діють зсередини поліпептидного ланцюжка (субпідкласи EC 3.4.21-24 і EC 3.4.99). Найбільш розповсюджений клас в організмі людини – це ендopeптидази, які у свою чергу поділяються за механізмом дії на шість підкласів:

- *Серинові протеази (EC 3.4.21)* (наприклад: трипсин, хімотрипсин, субтілізин). У каталітичному сайті цих ферментів присутні залишки серину, можлива присутність гістидину, або аспартату також.
- *Цистеїнові протеази (EC 3.4.22)* (наприклад, папаїн, катепсин В) містять у каталітичних сайтах залишки цистеїну з -SH групами, тому вони можуть також мати назву *тіолові протеази*.
- *Аспартатні протеази (EC 3.4.23)* (наприклад: пепсин, хімозин) містять у каталітичних сайтах залишки аспарагінової кислоти.
- *Металопротеази (EC 3.4.24)* (наприклад: термолізін та інші) зазвичай містять залишки глутамату та катіони Zn^{2+} , Cu^{2+} , Mg^{2+} у каталітичних сайтах цих ферментів.
- *Треонінові ендopeптидази (EC 3.4.25)*
- *Некласифіковані ендopeптидази (EC 3.4.99)*

Група ферментів *екзopeптидази* поділяється на кілька підгруп:

- *амінопептидази (EC 3.4.11)*, вони відщеплюють один амінокислотний залишок від N-кінця поліпептидного ланцюга;
- *Дипептидил- і трипептид-пептидази (EC 3.4.14)*, вони відщеплюють дипептид або трипептид від N-кінця;
- *Карбоксипептидази* відщеплюють амінокислоту з C-кінця, на основі каталітичного механізму вони діляться на *серинові карбоксипептидази (EC 3.4.16)*, *металокарбоксипептидази (EC 3.4.17)* і *цистеїнові карбоксипептидази (EC 3.4.18)*;
- *Пептид-дипептидази (EC 3.4.15)* здійснюють гідроліз дипептидів с кінця білкової молекули.

Але в організмі людини присутні й інші протеолітичні ферменти, які є дуже специфічними за структурою і механізмом дії.

Протеолітичні ферменти систем згортання крові і фібринолізу

Важливою функцією позаклітинних протеолітичних ферментів крові є їх участь в процесі згортання крові. В даний час схема згортання крові істотно доповнена завдяки виявленню багатьох допоміжних чинників. Відсутність будь-якого з них може призвести до порушення процесу коагуляції. Здебільшого ці чинники є протеолітичними ферментами - сериновими протеазами, які присутні в крові в неактивній формі, у вигляді проферментів. У процесі згортання вони активують один одного в каскадній послідовності реакцій шляхом обмеженого протеолізу. В результаті руйнування клітин ендотелію судин і активації тромбоцитів вивільняються ліпопротеїни, які разом з деякими чинниками плазми крові та іонами Ca^{2+} утворюють ферментний комплекс, який здійснює активацію протромбіну.

Залежно від походження ліпопротеїнів розрізняють плазмовий (внутрішній шлях активації системи згортання) і тканинний (зовнішній шлях системи згортання) активатори протромбіну (рис. 3). Зовнішня система активується, коли тканинний ліпопротеїн тромбопластин (фактор III), що виділяється з пошкоджених клітин, з'єднується з фактором VII (проконвертин). Останній у свою чергу в присутності іонів кальцію здатний активувати фактор X (фактор Стюарта-Прауера). Перший етап активації внутрішньої системи полягає в тому, що фактор XII (фактор Хагемана) вступає в контакт з колагеном, кініногенами і протеолітичними ферментами (калікреїн, тромбін). Далі йде активація факторів XI (фактор Розенталя, плазмовий попередник тромбопластину) і IX (фактор Кристмаса). Фактор XI після утворення ферментного комплексу з тромбоцитарним фактором III та іонами кальцію активує шляхом протеолізу фактор X. Фактор X в обох системах згортання (зовнішньої і внутрішньої) є основним активатором протромбіну, забезпечуючи його процесинг з перетворенням у тромбін.

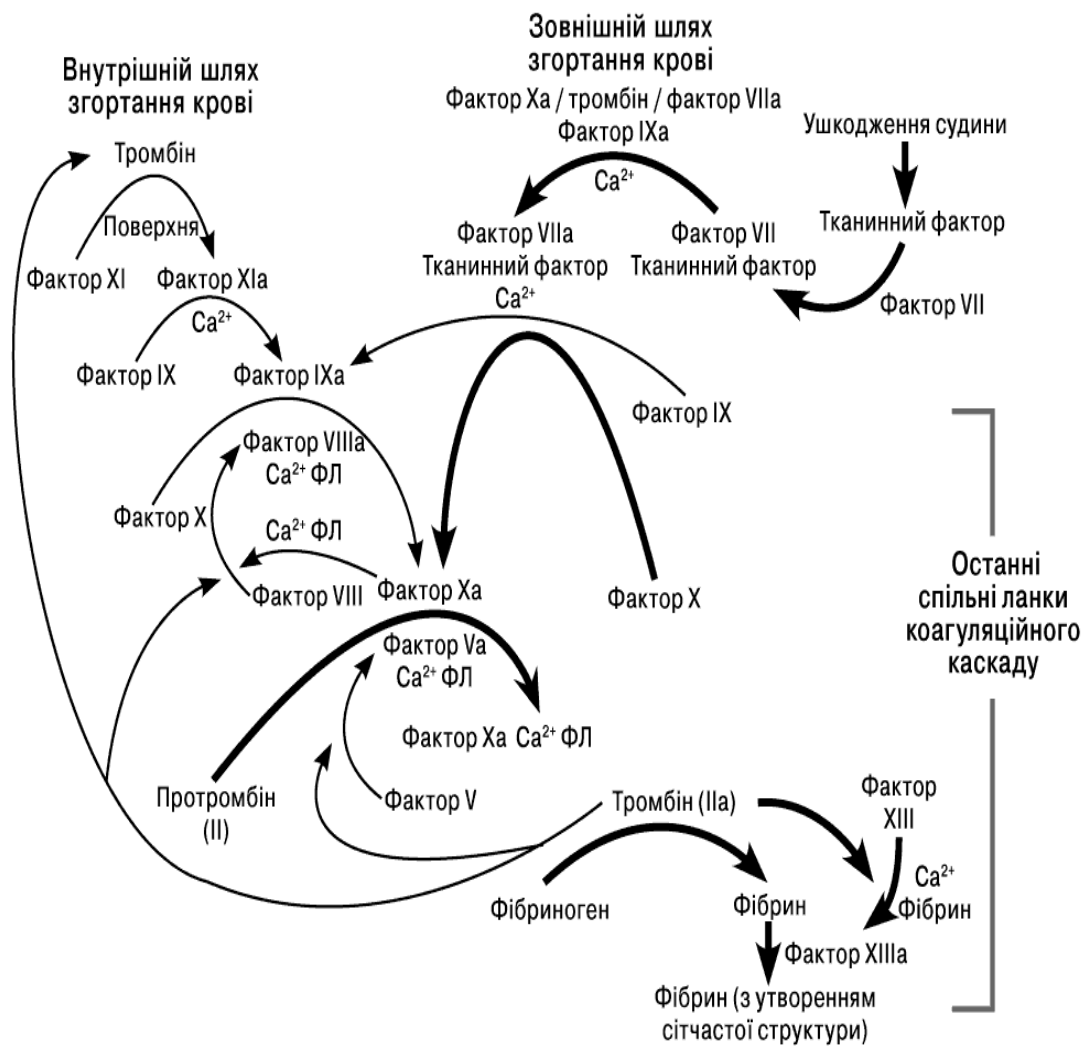


Рис. 3. Внутрішній та зовнішній шляхи системи згортання крові.

Розчинення кров'яного згустку (фібриноліз) - це такий же важливий процес, як і його утворення. У крові навіть за відсутності пошкодження судин постійно відбувається перетворення невеликої кількості фібриногену в фібрин. Це перетворення врівноважується безперервно діючим фібринолізом. Один з білків плазми крові - плазміноген (профібринолізин), як і протромбін, може під впливом чинників тканин або крові перетворюватися в активну форму протеолітичного ферменту - плазміну (фібринолізин). Активація плазміну забезпечується механізмами, подібними до тих, що діють у системі згортання крові. Плазмін є сериною протеазою. Тромболітична дія плазміну обумовлена його спорідненістю до фібрину.

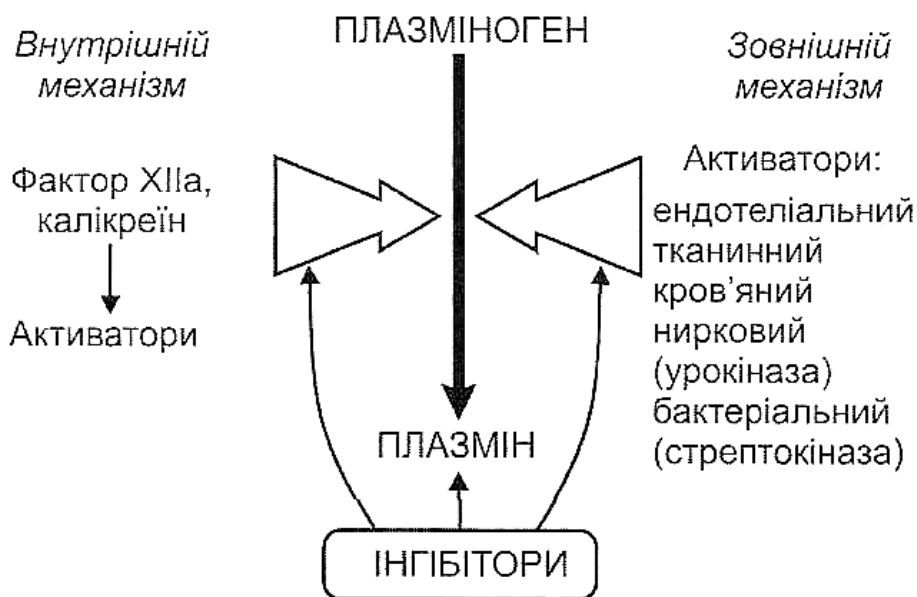


Рис. 4. Контроль активності плазміну

Плазмін відщеплює пептиди від фібрину, які гальмують дію тромбіну і утворення нових молекул фібрину. Плазмін розщеплює також інші фактори згортання крові - фібриноген, фактори V, VII, IX, XI і XII. Протеолітична дія плазміну поширюється і на молекули екстраклітинного матриксу (ламінін, фібронектин, протеоглікани), попередників матриксних металопротеїназ, факторів росту. Активація плазміногену здійснюється за допомогою двох серинових протеаз - урокіназного активатора плазміногену (урокіназа, uPA) і тканинного активатора плазміногену (tPA). Урокіназа секретується як розчинний білок і зв'язується мембранним урокіназним рецептором (uPAR), експресується на різних клітинах (рис. 4). Система регулюється інгібіторами активаторів плазміногену (PAI1, PAI-2), а також на рівні плазміну - двома антиплазмінами.

Калікреїн-кінінова і ренін-ангіотензинова системи людини

Калікреїни – це група серинових протеаз, які існують в різних тканинах і біологічних рідинах. На даний час калікреїнові ферменти розділені на дві категорії - плазмові і тканинні калікреїни, які значно відрізняються за молекулярною масою, субстратною специфічністю, імунологічними характеристиками та інше.

Тканинні калікреїни - це продукти експресії великого мультигенного сімейства, що локалізуються в декількох локусах хромосоми 19, мають значну подібність на генетичному та білковому рівні, у тому числі в третинній структурі білка. Калікреїн нирок і підшлункової залози - людський калікреїн 1 (hK1) діє на низькомолекулярний печінковий кініноген (LK) з утворенням лізилбрадикініна, також відомого як калідин. Останній бере участь в контролі кров'яного тиску, у підтриманні електролітного балансу, у механізмі запалення та ін. Його субстратами є деякі фактори росту, гормони, цитокіни.

Плазмовий калікреїн (фактор Флетчера), експресується тільки клітинами печінки, розщеплює високомолекулярний печінковий кініноген (НК) з утворенням брадикініну, і, таким чином, бере участь в згортанні і фібринолізі крові, регуляції судинного тону, і в запальних реакціях. Крім брадикініна з високомолекулярного кініногену утворюється залишковий кініноген (НКА), який здатний пригнічувати цистеїнові протеази, ріст судин, проліферацію клітин. Іншими субстратами калікреїна є фактор згортання XII, урокіназа.

Калікреїн-кінінова система тісно взаємопов'язана з ренін-ангіотензиною системою крові (рис. 5).

Плазматичний калікреїн забезпечує протеоліз попередника реніну - прореніна з утворенням його активної форми. Ренін – це аспартатна протеаза, яка утворює в нирках з ангіотензиногену ангіотензин I. Ангіотензин I при дії ангіотензин-перетворюючого ферменту 1 (АПФ-1) перетворюється у ангіотензин II. Взаємодія цих двох систем забезпечує нормальну роботу серцево-судинної системи.

Протеолітичні ферменти системи комплементу

Ця система складається з великої кількості білків плазми, що виробляються переважно макрофагами і клітинами печінки. Її активація

C1q являє собою велику молекулу, що складається з 18 поліпептидних ланцюгів - по 6 ланцюгів трьох типів. Такі білки називають колектинами.

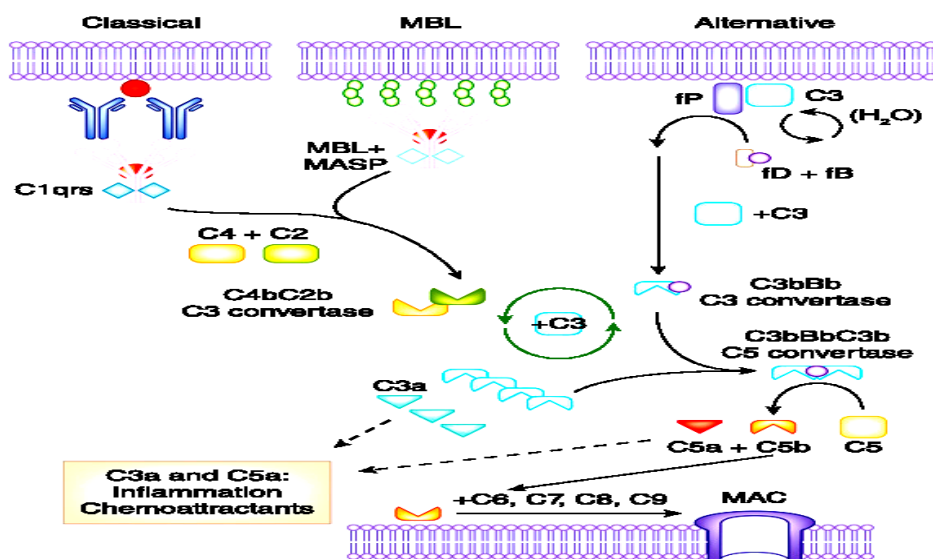


Рис. 6. Класичний, альтернативний та лектиновий шляхи дії системи комплементу (D. R. Mathern, P. S. Heeger, 2015)

Огляд-доповнення до рисунку: каскад системи комплементу може бути ініційований трьома шляхами: (1) класичний шлях, (2) манноз-зв'язуючий лектиновий (MBL) шлях і (3) альтернативний шлях. Отримані C3-конвертази можуть постійно розщеплювати C3; однак, після їх генерування альтернативний шлях утворення C3-конвертази домінує в посиленій продукції C3b (зелена петлива стрілка у рисунку). C3-конвертази асоціюються з C3b, утворюючи C5-конвертази, які розщеплюють C5 до C5a + C5b. C5b об'єднується з молекулами C6, C7, C8 та з 10-16 молекулами C9 для створення мембрано-атакуючого комплексу (MAC), який формує пори в мембрані клітини для індукування клітинного лізису. C3a і C5a є потужними сигнальними молекулами, які через свої рецептори, пов'язані з G-білком C3aR і C5aR, відповідно, можуть сприяти розвитку запалення, хемотаксису лейкоцитів, розширенню судин, секреції цитокінів, хемокінів та активації адаптивного імунітету. fB, фактор B; fD, фактор D; fP, фактор P; MASP (mannose-binding lectin-associated serine protease)-серинова-протеаза, яка пов'язана з манноз-зв'язуючим лектиновим (MBL) шляхом.

Кожен з цих ланцюгів поблизу N-кінця має колагенподібну ділянку (78 амінокислотних залишків), а C-кінцева частина являє собою глобулярну структуру. Субстратом для дії C1q-протеїнази служать гомодимерні молекули C1r і C1s, які розщеплюються на контактний і каталітичний фрагменти.

Протеоліз супроводжується активацією каталітичного фрагменту. Першим розщеплюється C1r, який потім бере участь у протеолізі C1s. В

результаті протеолізу цих факторів і їх вбудовування в молекулу C1q утворюється комплекс C1qrs, що має активність трипсинової протеїнази. Цей комплекс обумовлює розщеплення наступних учасників каскаду - C4 і C2 на важкі (C4b і C2a) і легкі (C4a і C2b) фрагменти. Важкі компоненти, взаємодіючи між собою, утворюють білковий комплекс C2a4b, за назвою C3-конвертаза. C3-конвертаза перетворює C3 компонент системи в похідні, що володіють ефекторними функціями. Важливим є те, що C3-конвертаза відразу приєднується до бактеріальної клітини завдяки ковалентним зв'язкам з поверхнею клітини.

Суть альтернативного шляху активації системи комплементу полягає в тому, що в організмі за рахунок присутності активних серинових протеїназ постійно відбувається фонове розщеплення C3 компонента до його фрагментів - C3a і C3b. При появі в організмі бактерій C3b компонент здатний ковалентно зв'язуватися з їх поверхнею. Потім він приєднує наявний в організмі білок за назвою фактор В. Останній в зв'язаному вигляді стає субстратом для серинової протеїнази D і розщеплюється на фрагменти, одним з яких є компонент Vb. Загальним результатом є утворення комплексу C3b/Vb - структурного та функціонального гомолога C3-конвертази класичного шляху активації комплементу.

Ранні етапи класичного і альтернативного шляхів активації комплементу завершуються, таким чином, утворенням одного і того ж білкового комплексу - C3-конвертази, що розщеплює C3 компонент до C3a і C3b. Перший є прозапальним пептидом, що привертає до вогнища запалення фагоцити. Другий служить потужним опсоніном. На поверхні фагоцитів є рецептори до C3b компонента, що забезпечує поглинання опсонізованих бактерій.

Приєднання до C3-конвертази додаткової молекули C3b перетворює її в C5 конвертазу, яка також знаходиться на поверхні бактеріальної клітини. C5-конвертаза розщеплює C5 компонент на два фрагмента - C5a і C5b. Перший з них є потужним медіатором запалення. Спільно з C3a компонентом

він створює умови для активного надходження рідини і клітин крові з судин у місце запалення. Тим самим C3a і C5a компоненти відіграють важливу роль у розвитку захисних механізмів у відповідь на надходження патогенних мікроорганізмів. Компонент C5b у невеликій кількості відкладається на поверхні бактеріальних клітин і потім бере участь в реалізації пізніх етапів активації, спрямованих на утворення мембрано-атакуючого комплексу.

Цей комплекс має гідрофобну зовнішню сторону, що дозволяє йому асоціюватися з ліпідним бішаром мембрани, і гідрофільний внутрішній канал. Порушення ліпідного бішару призводить до втрати клітинного гомеостазу, до порушення протонного градієнту, до проникнення в клітину різних ферментів і до смерті бактерії. Таким чином, активація комплексу розглядається як каскадний ферментативний процес, значення якого в деградації антигенів є виключно важливою.

1.3.2. Внутрішньоклітинні системи протеолізу

Селективний внутрішньоклітинний протеоліз - це система контролю якості функціональних білків і підтримання їхнього необхідного рівня в клітинах. У клітинах еукаріот розщеплення білків до амінокислот забезпечують декілька механізмів (схема 1).

За допомогою двох нелізосомних (стійких до дії амінокислот) механізмів переважно піддаються деградації ті білки, що мають короткий період життя. Один із цих шляхів є енергозалежним і чутливим до дії хімоїстатину, а інший – ні.

Хоча постійне руйнування клітинних білків може здатися марнотратним, цей процес служить для низки важливих гомеостатичних функцій. Окремі білки в ядрі та цитозолі, а також у ендоплазматичному ретикулумі (ЕР) та мітохондріях деградують з різними темпами, які коливаються від хвилин для деяких регуляторних ферментів до днів або тижнів для білків, таких як актин та міозин скелетних м'язів, або місяців для гемоглобіну еритроцитів. Клітини містять декілька протеолітичних систем для здійснення процесу деградації та комплексних регуляторних механізмів

для забезпечення постійного протеолітичного процесу високої селективності. Загалом, швидкість синтезу та деградації білків в кожній клітині повинна бути збалансованою саме тому, що навіть невелике зниження синтезу або невелике прискорення деградації, якщо це підтримується, може призвести до вираженої втрати маси організмом.

У всіх тканинах більшість внутрішньоклітинних білків деградує за допомогою убіквітин-залежного протеасомного шляху (УПШ). Однак позаклітинні білки та деякі білки клітин піддаються ендоцитозу і деградують у лізосомах. Ці органели містять декілька кислих протеаз, наприклад катепсини В, Н і D, а також багато інших гідролаз (колагеназа, еластаза). Деякі цитозольні білки деградують у лізосомах після поглинання аутофагічними вакуолями, які зливаються з лізосомами. У більшості клітин цей процес прискорюється при відсутності інсуліну або незамінних амінокислот, а в печінці – прискорюється глюкагоном.

Також у клітинах ссавців є цитозольні протеолітичні системи. Протеолітичний процес Ca^{2+} -активованій (АТФ-незалежний) застосовує цистеїнові протеази, так звані кальпаїни. Ці протеази активуються при клітинних пошкодженнях, які супроводжуються підвищенням у цитозолі рівню Ca^{2+} , тому вони можуть відігравати важливу роль у пошкодженні тканини, в механізмах некрозу та аутолізу.

Ще одним важливим сімейством цитозольних протеаз є каспази, які розщеплюють поліпептидні ланцюги білків між залишками аспарагінової кислоти. Ці ферменти є цистеїновими протеазами і являються ключовими учасниками протеолізу при апоптозі.

Лізосомна деградація довгоживучих білків значно пригнічується зниженням температури до 17°C . Сильно пригнічують цей шлях деградації білків в гепатоцитах іони Ca^{2+} і Mg^{2+} . Лізосомний шлях є стійким до дії амінокислот і забезпечує деградацію короткоживучих білків. Два інших, чутливих до дії амінокислот, забезпечують катаболізм відносно

довгоживучих білків, причому один з них пригнічується лейцином (схема 1, Leu), інший пригнічується аспарагіном і глутаміном (схема 1, Asn, Gln).

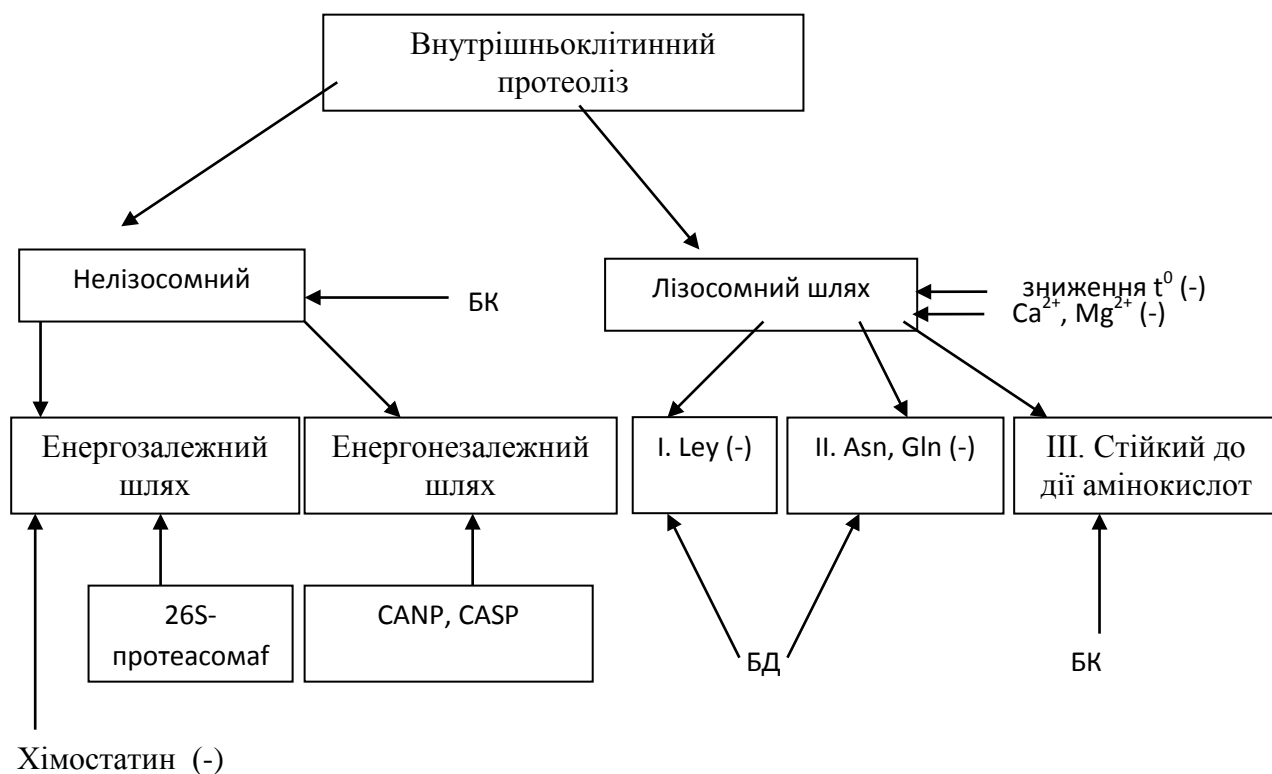


Схема 1. Типи внутрішньоклітинного протеолізу.

БК- білки короткоживучі; *БД* - білки довгоживучі; *CANP*-кальцій-залежні нейтральні протеїнази (кальпаїни); *CASP* – каспази.

При розгляді питань про клітинний протеоліз використовують терміни: *базальний протеоліз* і *індукований протеоліз*. Базальний протеоліз включає деградацію білків, що відбувається в нормальних фізіологічних умовах. Індукований протеоліз стимулюється при дії різних факторів на організм.

Лізосоми приймають участь як у базальному, так і в індукованому протеолізі. Припускають, що базальний протеоліз вимагає споживання енергії. Індукований протеоліз піддається дії багатьох регуляторних факторів. У нормі він пригнічений.

Загальне уявлення про аутофагоцитоз

За допомогою аутофагоцитозу субклітинні органели і ділянки цитоплазми відмежовуються від інших частин клітини і деградують. На відміну від індукованого, базальний аутофагоцитоз відіграє важливу роль у

регуляції клітинних функцій при інволюції в онтогенезі і при клітинній диференціації. Припускають, що аутофагоцитоз протікає з витратами енергії. Енергія АТФ необхідна для руху мембран і клітинних змін, що супроводжують аутофагоцитоз. Амінокислоти (аспарагін, глутамін, триптофан, гістидин, пролін, фенілаланін і тирозин) мають регуляторний вплив на протеоліз (схема 1). Суміш цих кислот цілком пригнічує підвищену деградацію білку у лізосомах. Кожній окремій амінокислоті властивий гальмуючий ефект у концентраціях до 10 ммоль/л. Деякі амінокислоти пригнічують початковий етап цього шляху, особливо виділяються гальмуючою дією аспарагін і глутамін (вони пригнічують злиття аутофагосом з лізосомами), тобто гальмують надходження білків до сайтів деградації. Гетерогенність періодів напівжиття білків припускає наявність існуючих механізмів регуляції. Очевидно, що визначальним фактором тут є властивості та структура субстратів (тобто білків).

При старінні клітин відбувається не тільки втрата їх здатності до проліферації, але й, насамперед, здатності до самовідновлення шляхом аутофагоцитозу. Тому аутофагоцитоз набуває важливе значення у функціонуванні клітин. Основна роль аутофагії заключається у підтриманні внутрішньоклітинного гомеостазу. У багатьох типах клітин активність аутофагово-лізосомної системи залежить від стану харчування: спостерігається низька активність при достатньому вмісту білків у дієті, і висока активність - при нестачі продуктів харчування.

Загальне уявлення про гетерофагоцитоз

Унаслідок гетерофагоцитозу в клітині відбувається розщеплення чужорідних білків. На поверхні плазматичної мембрани ліганди (чужорідні білки) зв'язуються з рецепторами у визначених ділянках - доменах. Комплекс ліганду і рецептору, рухаючись уздовж мембрани, утягується усередину клітини за допомогою обрамлених ямок. Обрамлені ямки - це особливі ділянки (домени) клітинної мембрани, що спеціалізуються в захопленні чужорідних білків. Вони дають початок обрамленим пухирцям. Вважається,

що обрамлені пухирці утрачають своє покриття і зливаються з іншими необрамленими везикулами - ендцитозними пухирцями, а також з лізосомами. У результаті цього відбувається обмін вмістом, а потім деградація поглиненого матеріалу гідролітичними ферментами. Після деградації мономери (амінокислоти) вивільнюються з лізосом шляхом дифузії крізь їх мембрану. Дослідження процесу гетерофагоцитозу проведено більшою мірою в печінці і макрофагах.

Такий механізм деградації білків спостерігається також у процесі утилізації будь-якого класу ліпопротеїнів плазми крові після виконання їх функції, тобто транспорту ліпідів до клітини, яка містить рецептори на клітинній мембрані до молекул цих ліпопротеїнів.

Особливості нелізосомного шляху протеолізу

Нелізосомний шлях протеолізу має важливе значення і відіграє спеціальну роль в ініціації катаболізму таких білків, як міофібрилярні. Цей процес здійснюється за рахунок кальпаїнів (CANP), Ca^{2+} -залежних протеїназ цитозолу, що відіграють роль у базальному протеолізі (Схема 1).

Кальпаїни (ЕС 3.4.22.17) - це сімейство Ca^{2+} -залежних цистеїнових протеаз. Три члени цього сімейства в основному експресуються в скелетних м'язах, а саме - μ - та m -кальпаїни і специфічний тільки для м'язів кальпаїн р94 (також вони відомі як кальпаїни-1, -2 та -3). І μ -, і m -кальпаїни складаються з двох субодиниць 80 і 30 кДа відповідно.

Нелізосомний шлях протеолізу за рахунок CANP є енергонезалежним. Ca^{2+} -залежний протеоліз здійснюється в мембранних компартментах, але не в лізосомах. Коли внутрішньоклітинні концентрації Ca^{2+} збільшуються, неактивні кальпаїни, як правило, вони локалізовані в цитозолі, переміщуються до клітинної мембрани, і 80-кДа субодиниця перетворюється аутопротеолізом у форму 75 кДа. CANP активні в нейтральній та слабо лужній зоні рН, вони беруть участь в обміні міофібрилярних білків, у перетворенні рецепторів стероїдних гормонів, в активації цАМФ-залежної

протеїнази мозку та еритроцитів, у деградації нейрофіламентів, білків Z-лінії м'язових тканин.

Ряд цитоскелетних білків було запропоновано розглядати як субстрати кальпаїнів, серед яких десмін, дистрофін, фодрін, міозин, тропоніни I та T. Було показано, що кальпаастатин, фізіологічний інгібітор кальпаїнів, і Ca^{2+} -АТФаза плазматичної мембрани також розщеплюються залежними від Ca^{2+} протеазами.

Біологічне значення кальпаїнів демонструється їх участю у кількох процесах, таких як проліферація клітин, диференціювання, міграція клітин, апоптоз та старіння. CANP беруть участь в індукованому протеолізі: були проведені дослідження активності CANP у міокарді при впливі стрес-факторів (холоду, наркозу, 24- і 48-годинного голодування, при обмеженому прийомі їжі на протязі 7 і 14 днів). Зроблено висновок про те, що стресові стимули ведуть до посилення Ca^{2+} - залежного протеолізу в міокарді за рахунок CANP.

Зміна активності Ca^{2+} -залежних протеаз в тканинах людини може сприяти розвитку різних патологій. Встановлено причинно-наслідковий зв'язок між дефіцитом кальпаїнів та захворюваннями, з цієї причини визначені так звані кальпаїнопатії.

У нормальних умовах кальпаїни разом з іншими системами, такими як каспази, сприяють деградації міофібрилярних білків шляхом виділення товстих і тонких філаментів міофibrил, забезпечуючи субстрати як для 26S-протеасоми, так і для лізосомальних протеолітичних ферментів. Коли кальпаїни інгібуються ліками або за допомогою генетичної маніпуляції, активність як лізосомних ферментів, так і 26S-протеасом, імовірно, посилюється, намагаючись підтримувати швидкість деградації білків у нормі.

Каспази (англ. Caspase; англ. Cysteine-dependent aspartate specific protease) - сімейство цистеїнових протеаз, що розщеплюють пептидний зв'язок у поліпептидному ланцюзі білків виключно після аспартату. Каспази відіграють важливу роль в процесах апоптозу, некрозу і запальних процесах.

Каспази поділяють на ініціаторні та ефекторні. Усі каспази спочатку виробляються в неактивній формі, і активуються в міру необхідності відсіканням невеликої ділянки поліпептидного ланцюга. Ініціаторні каспази активуються складнішим чином - спеціальними білковими комплексами: апоптосомами.

Каспаза 1 (англ. Caspase-1, скор. CASP1), також інтерлейкін-1 перетворюючий фермент - протеолітичний фермент, є першим ідентифікованим ферментом даного сімейства, являє собою еволюційно консервативний фермент, який шляхом протеолізу розщеплює інші білки, такі як попередники запальних цитокінів - інтерлейкіну-1 β та інтерлейкіну-18. Каспаза 1 є індуктором піроптозу (тип програмованої некротичної загибелі клітини, при якому в результаті активації каспази 1 відбувається порушення цілісності плазматичної мембрани і швидке вивільнення назовні вмісту клітини).

1.3.3. Убіквітин-залежний протеасомний шлях протеолізу

Протягом останніх двох десятиліть убіквітин-залежний протеасомний шлях (УПШ) зайняв центральне місце в розумінні механізму контролю обміну білків клітини. УПШ складається з узгоджених дій ферментів, які зв'язують ланцюжки поліпептидного кофактора убіквітину (УБ) з білками, щоб визначити їх для деградації. У цитозолі еукаріотичних клітин селективну деградацію білків здійснюють великі мультиферментні комплекси з молекулярною масою близько 2000 кДа. Вони мають назву 26S-протеасоми. Мішенями 26S-протеасом є білки, що приймають участь у регуляції метаболізму, диференціації клітин, контролі клітинного циклу, у відповіді на стрес та ін. Мішенями 26S-протеасом також можуть бути дефектні білки, що утворюються при пост-трансляційних ушкодженнях.

Три ферменти потрібні для зв'язування ланцюгів УБ (на рис. 7 –Ub) з білками, призначеними для деградації. E1 (УБ-активуючий фермент) і E2 (УБ-носій або кон'югуючий білок) готують УБ до кон'югації.

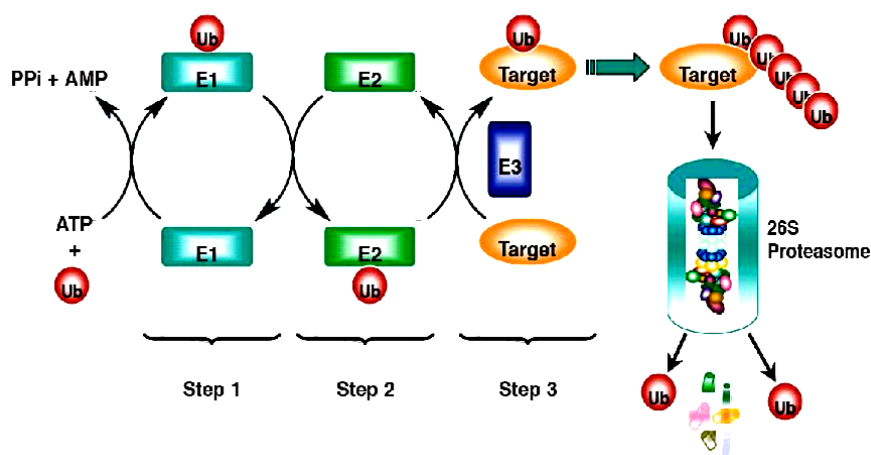


Рис. 7. Формування убіквітин-залежного комплексу з білком, який надходить у 26S-протеасому для деградації (Dahlmann B, 2005).

E1 використовує АТФ для генерації тіолестера УБ, дуже реактивної форми УБ. Після активації УБ переноситься на сульфгідрильну групу фермента E2. Але основним ферментом у цьому процесі є E3 (УБ-білок лігаза), оскільки він визначає специфічний білковий субстрат (Target) і каталізує перенесення активованого УБ до нього. В організмах ссавців був виявлений єдиний, функціональний фермент E1, на відміну від великої кількості E2 і E3 в клітинах. Велика кількість білків E2 допомагає генерувати специфіку системи *убіквітинга* (тобто процесу, який описаний вище), оскільки специфічні E2 функціонують при деградації різних типів субстратів, і вони можуть з'єднуватися з різними E3.

Фермент E3 α був одним з перших з E3, які були біохімічно ідентифіковані. Він визнає білкові субстрати на основі їх N-кінцевої амінокислоти. Білки, які починаються з великих основних або гідрофобних амінокислотних залишків, орієнтовані на убіквітинацію та деградацію за допомогою E3 α .

Убіквітин (УБ) складається з 76 амінокислот. Його С-кінцева амінокислота – гліцин є дуже важливою для кон'югації УБ з іншими молекулами та субстратами. Внутрішні залишки лізину в УБ використовуються для створення поліубіквітинових ланцюгів. УБ не

синтезується безпосередньо як вільний УБ, а скоріше як лінійна послідовність певних рибосомних білкових субодиниць. Ці дуже незвичайні попередники швидко обробляються деубіквітинізуючими ферментами, утворюючи мономерні молекули УБ. Вчені підкреслюють, що це є один зі способів, в яких УБ швидко виробляється в часи дії стрес-фактору на клітину.

Кон'югація убіквітину корелює з наступними клітинними функціями:

- деградація білків при стресових ситуаціях;
- деградація денатурованих і пошкоджених білків;
- цільова деградація регуляторних білків: онкопротеїни, білки-супресори, трансмембранні рецептори, мітотичні цикліни, білки, що активують транскрипцію;
- модуляція активності рецепторів клітинної поверхні;
- репарація ДНК;
- процесинг та презентація антигенів;
- асоціація рибосом.

Кон'югація УБ з клітинними білками може бути змінена багатьма деубіквітинізуючими ферментами в клітинах. Імовірно, вони функціонують для переробки мономерних УБ для використання в нових реакціях кон'югації та для запобігання накопичення поліубіквітинових ланцюгів, які можуть конкурувати за зв'язування з субстратами для протеасомних комплексів.

УБ поєднується з білками, призначеними для деградації, АТФ-залежним процесом. Ланцюг з п'яти молекул УБ, приєднаних до білкового субстрату, є достатнім для того, щоб цей комплекс був ідентифікований 26S-протеасомою (рис. 8). Цей дуже великий мультикаталітичний протеазний комплекс забезпечує деградацію модифікованих убіквітином білків до коротких пептидів.

Виявлення УБ та вивчення біохімічного механізму з'єднання УБ з білками-субстратами завершилося врученням Нобелівської премії з хімії в 2004 році Авраму Хершко, Аарону Сечановеру та Ірвіну Роузу.

Особливості складу та механізму дії

26S-протеасомних комплексів в клітині

26S-протеасома містить два великих фрагмента: 20S-протеасому та регуляторні комплекси PA700 (19S комплекси).

Конформація 20S-протеасоми нагадує циліндр довжиною 15-17 нм і діаметром 11-12 нм, що складається з чотирьох складених у стопку гептамерних кілець (рис. 8). Центральна порожнина - протеолітична камера - сформована двома бета-кільцями, орієнтованими за формою «голова до голови». Протеолітична камера відділена від двох зовнішніх порожнин, сформованих іншими сторонами бета-кільць та альфа-кільцями, так званими «воротами» товщиною 3 нм. Каталітична порожнина має об'єм 84 нм³ і здатна вмістити до 70 кДа упакованого білку. Протеолітичні сайти знаходяться на N-кінцях бета-субодиниць, що присутні у внутрішніх порожнинах циліндру. Вхід субстрату в протеолітичну камеру обмежують «ворота» з двох боків 20S-протеасоми, які утворені N-кінцями альфа-субодиниць.

Регуляторні комплекси PA700 26S-протеасом еукаріот складаються з 18 субодиниць і мають здатність:

- 1) впізнавати модифіковані убіквітином білки;
- 2) підготовлювати їх до деградації в протеолітичній камері 20S-протеасоми. Підготовка включає зв'язування субстрату, видалення молекул убіквітину і розгортання поліпептидних ланцюгів білку, перенесення їх в каталітичні центри.

PA700 (19S-комплекс) можливо розділити на дві мультиструктури:

- «основа», що складається з 6 гомологічних АТФаз і трьох неАТФазних субодиниць. «Основа» відповідає за розгортання білкових молекул (її функція за механізмом зворотна до функції шаперонів) та проведення ланцюгів білку у протеолітичні сайти 20S-протеасоми. Ця функція потребує енергії АТФ;

- «кришка» регуляторного комплексу не містить АТФ-азної активності, але здатна впізнавати модифіковані убіквітином білки.

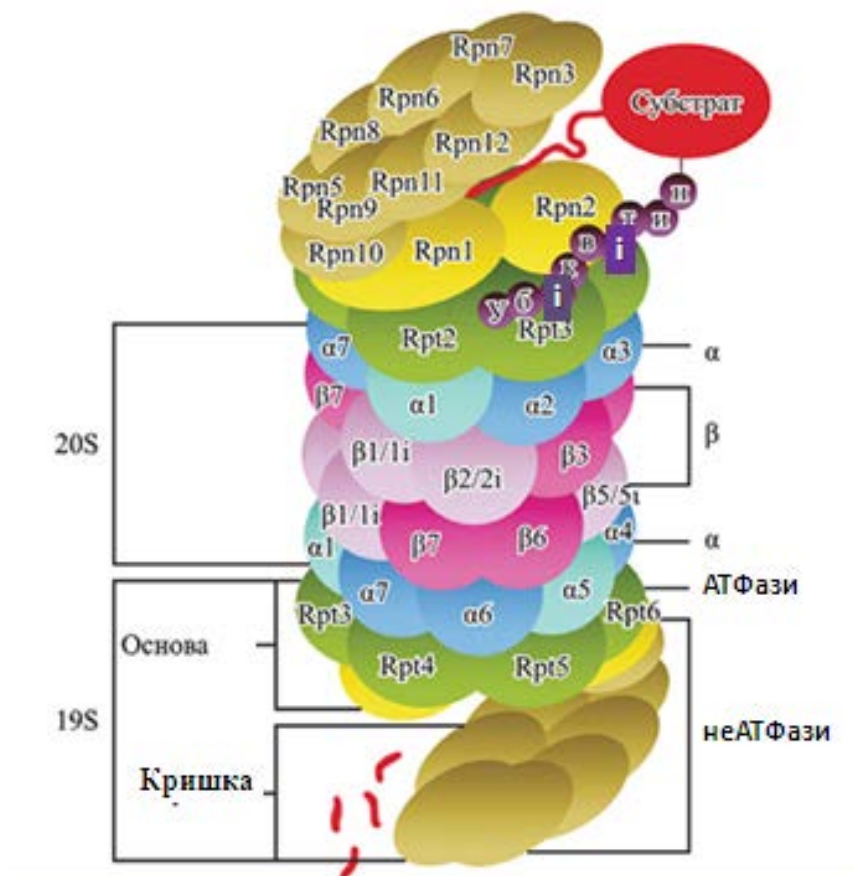


Рис. 8. Структура 26S-протеасоми еукаріотичної клітини. (Dahlmann, 2005)

На даний час завдяки експериментальним дослідженням визначено п'ять пептидазних активностей 26S-протеасом. Перші три – це трипсиноподібна (обумовлена активністю $\beta 2$ та $\beta 2i$ субодинацями), хімотрипсиноподібна (обумовлена $\beta 5$ -, $\beta 5i$ - та $\beta 1i$ -субодинацями) та каспазоподібна (пост-глутамілгідролазна) активності. Останні дві активності забезпечують розщеплення пептидних зв'язків між нейтральними амінокислотами та після амінокислотних залишків з розгалуженим радикалом.

26S-протеасома перетворює поліпептидні ланцюги білку на короткі пептиди. Пептиди, які вивільняються протеасомою, існують в клітині лише протягом секунд, тому що вони швидко розщеплюються до амінокислот при дії цитозольних ендопептидаз та амінопептидаз.

Деградація білків є незворотним процесом. Руйнування молекули білку може призвести до повного, швидкого та стійкого припинення процесу, в якому приймає участь цей білок, а також до зміни хімічного складу клітини. Швидка деградація деяких специфічних білків є складовою частиною процесу адаптації організму до нових фізіологічних умов.

Слід зазначити, що активний сайт 26S-протеасоми не забезпечує протеоліз послідовностей поліглутамінів. Тому, можливо, поліглутаміни погано деградують і накопичуються як токсичні, внутрішньоклітинні включення. Цей виняток, мабуть, має важливе значення в патогенезі певних нейродегенеративних захворювань (наприклад, хвороби Гантінгтона).

Активні ділянки 26S-протеасоми розщеплюють пептидні зв'язки за допомогою унікального механізму, який вивчається в експерименті завдяки синтезованим високо специфічним інгібіторам.

Ці інгібітори (наприклад, MG132, лактацистин, епоксиміцин) широко використовують як інструменти дослідження, це допомагає вченим виявити багато ключових функцій убіквітин-залежного протеасомного шляху (УПШ).

Убіквітин-залежний протеасомний шлях регулює транскрипцію

Кон'югація транскрипційних факторів поліпептидної природи з убіквітином впливає на транскрипцію за різними механізмами. Багато транскрипційних факторів модифікуються убіквітином і деградують під дією протеасом. Убіквітинація та протеоліз активаторів транскрипції також можуть стимулювати транскрипційну активність шляхом видалення "витрачених" активаторів та включення промоторних послідовностей для подальших раундів транскрипції. Крім цього, фактори транскрипції можуть регулюватися змінами в їх розташуванні. Наприклад, NF- κ B (прозапальний активатор транскрипції) зберігається за межами ядра за допомогою його взаємодії з білком I κ B. Деградація I κ B спрацьовує внаслідок його фосфорилування, що обумовлює його розпізнавання ферментом E3, який використовується для β -трансдуцин-аналогвісного білку (β -TRCP). I κ B

модифікується убіквітином, швидко деградує, і звільнений NF-κB переміщується до ядра. Цей крок є критичним при прискоренні запальної реакції в клітині.

Механізм контролю якості синтезованих білків зі застосуванням убіквітин-залежного протеасомного шляху

УПШ вибірково усуває ненормально сформовані або пошкоджені білки, які утворилися через мутації генів, синтетичні помилки або при пошкодженні радикалами кисню чи денатурації (особливо при високих температурах).

При муковісцидозі мутантна форма трансмембранного білку регулятора трансмембранної провідності (англ.- Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator, CFTR) селективно деградується і тому не може досягати поверхні клітинної мембрани. Оскільки механізми кон'югації та деструкції з убіквітином є цитоплазматичними, руйнування CFTR демонструє, що УПШ знижує концентрацію неправильно сформованих або секретованих білків.

Стимульований убіквітин-залежний протеасомний шлях є джерелом вільних амінокислот

При станах з неадекватним прийомом білків, або при станах, які супроводжуються загальною стимуляцією катаболічних шляхів розпад клітинних білків (особливо в скелетних м'язах) збільшується, щоб забезпечити організм вільними амінокислотами, які використовуються у глюконеогенезі, в синтезі нових білків і як джерела енергії.

Активація цього процесу при голодуванні або при захворюваннях може призвести до атрофії м'язів. Оскільки швидкість обміну білків у клітинах дуже висока (від 3,5 до 4,5 г білка/кг на добу), навіть невелике збільшення протеолізу з часом призводить до помітного виснаження вмісту білку у

тканині. Слід зазначити, що більша частина білків м'язів при патологічних станах деградує за допомогою програмованої активації УПШ.

Убіквітин-залежний протеасомний шлях і імунна система

Постійне розщеплення внутрішньоклітинних білків, яке може виникнути під час вірусної або бактеріальної інфекції або у хворих раком, дозволяє імунній системі екранувати неприродні білки в клітинах. Незважаючи на те, що більшість пептидів, що продукуються протеасомою під час руйнування внутрішньоклітинних білків, швидко перетворюються до вільних амінокислот, деякі уникають цієї долі і транспортуються в ендоплазматичний ретикулум (ЕР). У ЕР вони зв'язуються з молекулами класу I МНС і транспортуються на поверхню клітинної мембрани для виявлення цитотоксичними CD8⁺ -лімфоцитами. Якщо ці пептиди походять від вірусів, така клітина є мішенню для цитотоксичних Т-лімфоцитів.

1.3.4. Приклади обмеженого протеолізу в організмі людини

Обмежений протеоліз полягає в специфічному розщепленні одного або декількох пептидних зв'язків в молекулі білка, що призводить до утворення біологічно активних продуктів або змінює властивості останніх. На відміну від повного протеолізу, при якому гідроліз молекули білка до амінокислот здійснюється безліччю протеїназ з різною специфічністю до окремих пептидних зв'язків, обмежений протеоліз забезпечується малим числом протеїназ.

Обмежений протеоліз - основа активації проферментів і утворення з неактивних попередників біологічно активних білків та пептидів, у тому числі, ферментів, гормонів, факторів росту і багатьох інших сполук.

Цей тип протеолізу практично контролює характер метаболічних процесів і морфогенез клітин. Обмежений протеоліз залучений у процеси імунної відповіді, апоптозу, міжклітинної взаємодії, в міграцію клітин і

моделювання тканин, у регуляцію артеріального тиску і моторики шлунково-кишкового тракту.

Процесинг біологічно активних пептидів в ЦНС забезпечує нейромодуляторні функції, взаємодію з нейромедіаторними системами і визначає багато поведінкових реакцій і сенсорних процесів.

Обмежений протеоліз викликає не тільки утворення, а й інактивацію, модифікацію біологічно активних білків та пептидів, і, таким чином, здійснює контроль концентрації основних біорегуляторів в організмі.

У результаті обмеженого протеолізу можлива зміна алостеричних властивостей ферментів. Наприклад, для фруктозо-1,6-бісфосфатази печінки при обмеженому протеолізі катепсином В1 було виявлено утворення нової форми ферменту, яка відрізнялася від нативної форми оптимумом рН та чутливістю до алостеричного інгібітору АМФ.

Під впливом катепсину В1 відбувається інактивація глюкокінази, альдолази і піруваткінази, інші білки-ферменти при цьому не змінюють своєї активності. Лейкоцитарна еластаза інактивує широкий спектр білків: лактатдегідрогеназу (ЛДГ), креатинфосфокіназу (КФК), усі фактори системи згортання крові, фібринолізу, комплементу і кініногенезу.

Ангіотензин перетворюючий фермент (АПФ) є прикладом протеїнази, яка одночасно в плазмі крові дає утворення гормону ангіотензину II та інактивує брадикінін. Ці два біологічно активних пептиди різноспрямовано впливають на тонус кровоносних судин.

Останні роки ознаменувалися відкриттям нових функцій протеїназ. Встановлено ключову функцію урокінази (активатор плазміногену) в міграції клітин, в тому числі і стовбурових, та в ремоделюванні тканин.

Слід зазначити, що протеїнази мають можливість контролювати дію гормонів на клітину-мішень через їх вплив на рецептори до гормонів.

Рецептори, які активуються протеазами (англ. Protease-activated receptors, PARs) - клас трансмембранних рецепторів, що відноситься до сімейства рецепторів, з'єднаних з G-білками. Відмінною особливістю даної

групи рецепторів є унікальний механізм активації, при якому відбувається обмежений протеоліз позаклітинного кінця рецептора з утворенням прив'язаного ліганда. Існує 4 типи рецепторів: PAR-1, PAR-2, PAR-3 і PAR-4. Всі вони широко представлені в організмі. Синтезуються ці рецептори тромбоцитами, клітинами імунної системи, клітинами епітелію, ендотелію, міоцитами, фібробластами, нейронами, астроцитами. Рецептори, що активуються протеазами, беруть участь в регуляції гомостазу та процесів запалення.

Показано участь каспаз і кальпаїну у апоптозі і регуляції інших процесів в клітині. У клітинах ссавців виявлені протеїнази, що стимулюють утворення факторів росту бактерій і вірусів, і тим самим сприяють поширенню інфекції. Наприклад, єдиний білок вірусу імунодефіциту людини, який представляє собою попередник аспаратної протеїнази, активується сериною протеїназою Т-лімфоцитів у протеїназу, що виконує функцію ростового фактору.

У шлунково-кишковому тракті в результаті обмеженого протеолізу із зимогенів: пепсиногенів, трипсиногенів, хімотрипсиногенів і інших проферментів утворюються активні гідролази - пепсин, трипсин, хімотрипсин і інші. У такій активації мають місце два процеси: аутокаталіз і гетерогенний протеоліз. Прикладом першого може бути самоактивація в оптимальних умовах пепсиногенів і трипсиногенів, другого - активація трипсином хімотрипсиногенів, проеластази, фосфоліпази А₂, прокарибосипептидаз А і В.

Фактори контролю обмеженого протеолізу

В організмі існують потужні системи інгібіторів протеолітичних ферментів, що забезпечують антипротеолітичний захист організму. Серед них відомі полівалентний інгібітор (альфа-2-макроглобулін), протеїназа альфа-1-антитрипсин і внутрішньоклітинні інгібітори протеїназ.

У вищих організмів більша частина внутрішньоклітинних протеолітичних ферментів знаходиться у лізосомах, і тому відокремлена від

основної маси білків. Внутрішньоклітинний розпад білків протікає головним чином як в цитоплазмі при дії убіквітин-залежного протеолізу, так і всередині лізосом. При певних фізіологічних і патологічних станах можливий вихід лізосомальних ферментів у цитоплазму і в міжклітинні простори. Прикладом цього може служити вивільнення колагенази і катепсинів при інволюції матки, поява катепсинів С, В1 і В2, еластази в цитоплазмі при розвитку запалення. Можливість виходу лізосомальних ферментів у цитоплазму може корелювати з вмістом в клітині пероксидів та вільних радикалів, вітамінів А та Е (розглядається при їх дефіциті), з концентрацією циклічних нуклеотидів, з впливом ряду гормонів на клітину.

1.3.5. Значення протеолізу для організму людини в цілому

1. Системи протеолізу беруть участь у процесі оновлення структурних клітинних білків (білки мембран органел, плазмолем, ядерні білки, білки-тубуліни).

2. Процес протеолізу активно бере участь в інактивації різних біологічно активних сполук (БАС): гормонів, нейропептидів та інших регуляторних білків.

3. Протеолітичні ферменти приймають участь і в зворотному процесі - утворенні деяких БАС шляхом відщеплення від неактивного поліпептидного ланцюга невеликої ділянки.

4. У ході протеолізу руйнуються ушкоджені, мутантні білки, що виникли в результаті помилок транскрипції, трансляції, реплікації ДНК.

5. Протеоліз відіграє активну роль у регуляції внутрішньоклітинного метаболізму за рахунок контролю процесів синтезу і розщеплення клітинних ферментів.

6. Протеолітичні ферменти приймають безпосередню участь у раневому процесі, видаляючи денатуровані білки і некротизовані тканини шляхом гетерофагоцитозу.

2. БІОСИНТЕЗ БІЛКІВ

У результаті вивчення цього розділу мають бути реалізовані наступні цілі:

- поглибити знання про метаболізм клітин шляхом реалізації спадкової інформації в процесі біосинтезу білка;
- продовжити формування знань про зберігання інформації про структуру білків в ДНК та її реалізації;
- ознайомитись з поняттям генетичний код і основними його властивостями;
- інтерпретувати функції компонентів білоксинтезуючої системи і зміст етапів біосинтезу білка;
- інтерпретувати інформацію про біосинтез білка для пояснення адаптації організму до умов навколишнього середовища;
- застосовувати знання про молекулярні механізми регуляції синтезу білка на рибосомах для розуміння механізму дії таких важливих в терапії груп речовин як антибіотики, інтерферони та гормони.

Біосинтез білка – це багатостадійний процес утворення та дозрівання білків як функціонально спроможних молекул. Якщо клітина потребує певного білка, якого немає на даний момент в ній, або його кількість недостатня, то, у глобальному сенсі, відбуваються такі події:

- надходить ззовні або генерується внутрішньоклітинно сигнал, який прямує в ядро до ДНК, яка зберігає інформацію про структуру даного необхідного білка, створюються умови для ініціації транскрипції;
- як результат - утворюється мРНК, яка в подальшому буде використана в синтезі поліпептидного ланцюга з окремих амінокислот;
- здійснюється складання, хімічна модифікація поліпептидного ланцюга, сполучення з простетичними групами, доставка до місця використання даного білка.

І лише після цих подій можна говорити про те, що синтез білка, якого потребує клітина, відбувся.

Отже, біосинтез білка складається з двох стадій:

- транскрипція - синтез полінуклеотидного ланцюга матричної РНК (мРНК) на матриці ДНК і подальший постраскрипційний процесинг;
- трансляція - синтез поліпептидного ланцюга на матриці мРНК на рибосомах і подальший посттрансляційний процесинг.

Те, що стосується транскрипції - всі деталі цього процесу є предметом розгляду теми «Біосинтез нуклеїнових кислот». Розглянемо механізм трансляції, як другу стадію біосинтезу білка.

Одним із найбільших досягнень біологічної хімії та її новітнього розділу, що відокремився в окрему науку - молекулярну біологію, є розшифровка механізмів синтезу молекул білків, що містять сотні, а іноді і тисячі залишків амінокислот. Було зрозуміло, що механізм синтезу має містити високоточну кодуєчу систему, яка автоматично програмує включення кожного амінокислотного залишку в певне місце поліпептидного ланцюга. Кодуюча система визначає первинну структуру, тобто послідовність амінокислотних залишків у поліпептиді, а вторинна і третинна структури білкової молекули визначаються фізико-хімічними властивостями та хімічною будовою цих амінокислотних залишків.

Початкові уявлення, згідно з якими синтез білка можуть каталізувати ті ж протеолітичні ферменти, що здійснюють його гідроліз, але шляхом зворотної хімічної реакції, не підтвердилися. Виявилось, що для більшості біомолекул синтетичні і катаболічні реакції протікають не тільки різними шляхами, але і в різних субклітинних структурах. Не підтвердилася так само гіпотеза про попередній синтез коротких пептидів з наступним об'єднанням їх у єдиний поліпептидний ланцюг. Більш правильним виявилось припущення, що у синтезі білка задіяні кілька видів нуклеїнових кислот, активовані амінокислоти і джерела енергії.

Після того, як було встановлено, що ДНК є носієм і зберігачем спадкової інформації, було поставлено питання про те, яким чином ця генетична інформація, записана (зашифрована) в хімічній структурі ДНК,

трансформується в фенотипічні ознаки і функціональні властивості живих організмів, що передаються у спадок. Пізніше були отримані докази, що в синтезі білка, що протікає в основному в цитоплазмі, вирішальну роль відіграють нуклеїнові кислоти, зокрема мРНК. У даний час можна дати однозначну відповідь на це питання: ДНК, яка містить генетичну інформацію, програмує синтез специфічних білків (що визначають в свою чергу специфічність структури і функції клітин, органів і цілісного організму) та усіх видів РНК, які приймають участь у зчитуванні та збереженні цілісності генетичної інформації. Ці загальні уявлення можуть бути виражені наступною послідовністю подій (потік інформації):

ДНК→РНК→Білок→Клітина→Організм

Біосинтез поліпептиду з амінокислот хоча безпосередньо і здійснюється за інструкцією, у якості якої слугує мРНК, опосередковано пов'язаний з контролюючим впливом ядерної ДНК: мРНК спочатку синтезується в ядрі на матриці ДНК, потім надходить в цитоплазму, де виконує роль матриці в синтезі поліпептидного ланцюга білка. Експериментальні дані підтвердили гіпотезу про те, що основною функцією нуклеїнових кислот є не тільки зберігання генетичної інформації, а й реалізація цієї інформації шляхом програмованого синтезу специфічних білків. Отримано експериментальні докази наявності ДНК також і в мітохондріях. Вона не гомологічна і не комплементарна ядерній ДНК. Мітохондріальна ДНК кодує синтез частини структурних білків самих мітохондрій.

Значний внесок у сучасні уявлення про місце, фактори і механізми синтезу білка внесли дослідження Т. Касперсона, П. Берга, П. Замечнік, С. Очоа, А. А. Баєва, А. С. Спіріна та ін. У 2009 році Нобелівську премію з хімії було вручено за дослідження однієї з найскладніших молекулярних машин - рибосоми, що є клітинною «фабрикою» білка, та механізмів впливу антибіотиків на білоксинтезуючу систему. Лауреатами премії стали Ада Йонат, Томас Стейц і Венкатраман Рамакрішнан.

2.1. Генетичний код

На початку 50-х років XX століття Г. Гамов зробив припущення, що генетичний код є триплетним: три сусідніх нуклеотиди в нуклеїновій кислоті програмують включення однієї амінокислоти у поліпептидний ланцюг білка. У середині 60-х років двадцятого сторіччя Ф. Крік, С. Бреннер, Г. Віттман та ін. в серії оригінальних експериментів підтвердили, що код дійсно є триплетним та неперервним, тобто у процесі синтезу білка послідовність мРНК зчитується послідовно групами по три нуклеотиди. Повна розшифровка генетичного кода, проведена М. Ніренбергом, С. Очоа та Н. Корана з використанням безклітинних систем, що містили рибосоми та спеціальні синтетично створені матриці, була завершена у 1966 р. Відповідно коду при використанні полімеру, складеного з уридилових та цитиділових нуклеотидів – полі(UC)_n у якості матриці, у цих системах утворювався поліпептид, побудований із залишків серина (Ser) та лейцина (Leu), а полі(UG)_n слугував матрицею для синтезу поліпептиду, що складався з повторюваних цистеїна (Cys) та валіна (Val). За таблицею генетичного коду:

UCU-CUC-UCU-CUC...

UGU-GUG-UGU-GUG...

Ser-Leu-Ser-Leu...

Cys-Val-Cys-Val...

Ці дослідження показали, що 61 з 64 можливих комбінацій трьох нуклеотидів чотирьох типів кодують одну з 20 протеїногенних амінокислот. Інші три з 64 кодонів - UAA, UGA та UAG не кодують жодної з амінокислот. Проте ці три кодони слугують сигналами зупинки (термінації) трансляції і, з цієї причини, називаються стоп-кодонами або термінуючими кодонами. Термінуючі кодони не завжди гарантовано розпізнаються системою трансляції і тому у структурі мРНК вони зазвичай дублюються. Першим основним стоп-кодоном є здебільшого UAA, а на невеликій відстані за ним слідує один з інших термінуючих кодонів. При синтезі невеликої кількості білків (у людини виявлено 25 селенопротеїнів – здебільшого ферменти антиоксидантної системи, наприклад, глутатіонпероксидаза) кодон UGA

сигналізує про включення у поліпептидний ланцюг амінокислотного залишку селеноцистеїна. Якщо клітини живуть в умовах дефіциту селену, то трансляція селенопротеїна завершується на кодоні UGA, що призводить до утворення «обрізаного», нефункціонального ферменту. Кодон UGA кодує селеноцистеїн, якщо в мРНК присутня послідовність вставки селеноцистеїну.

Термін «трансляція» для позначення процесу утворення поліпептиду з амінокислот обрано не випадково, а відображає його суть. Дійсно для зберігання інформації використовується одна мова - це мова нуклеїнових кислот. Її алфавіт складено чотирма літерами: А (аденілатний нуклеотид), G (гуанілатний), С (цитиділатний), Т (тиміділатний). При переписуванні в РНК використовується ще одна літера - U (уриділатний нуклеотид). Функціонуючі одиниці – білки. Їх первинна структура являє собою другу мову. Алфавіт цієї мови складено 20 літерами.

Під час трансляції здійснюється переклад тексту, записаного з використанням чотирьох літер у текст, у якому використовуються 20 літер. Очевидно, що відповідність один до одного неможлива. Якщо спробувати з 4 літер створити варіанти дволітерних комбінацій, то кількість таких комбінацій буде $4^2 = 16$, що недостатньо для 20 символів мови білків. Однак трьохлітерні комбінації дають уже $4^3 = 64$, що більш ніж достатньо. Кодоном або триплетом називається комбінація з трьох послідовно розташованих нуклеотидів в молекулі нуклеїнової кислоти. І дійсно, експериментально було підтверджено, що саме така кількість триплетів використовується для кодування первинної структури білка для зберігання і передачі цієї інформації від покоління до покоління.

Код – це система умовних знаків для зберігання й обробки інформації. Систему, що відображає відповідність літер нуклеїнових кислот літерам поліпептидних ланцюгів, називають генетичним кодом. У широкому сенсі генетичний код - це спосіб запису генетичної інформації в послідовності нуклеїнових кислот (ДНК або РНК) про структуру поліпептидів (білків). У конкретному сенсі генетичний код - це відповідність між триплетними

кодонами матричної РНК (мРНК) і амінокислотами кодованого білка, що задається кодовою таблицею (таблиця 2).

Ліва вертикальна лінія таблиці показує першу букву кодону, верхня - другу і права - третю. Поруч з кожним кодоном вказана амінокислота, яка кодується даним триплетом. Різні амінокислоти кодуються різною кількістю кодонів. Наприклад, метіоніну і триптофану відповідає тільки по одному кодону; 9 амінокислотам – по два; ізолейцину – три; аланіну, валіну, глутамату, проліну та треоніну – по чотири; а такі амінокислоти, як лейцин, серин і аргінін можуть кодуватися 6 різними кодонами.

Прочерки в таблиці означають, що три кодони - УАА, УАГ і УГА в нормальних умовах не кодують будь-які амінокислоти. Такі кодони називають нонсенс-кодонами (англ. nonsense - нісенітниця), або термінальними, тому що вони є "сигналами" зупинки синтезу поліпептидного ланцюга. Таким чином 61 триплет кодує амінокислоти і три кодони використовуються для позначення закінчення тексту одного поліпептидного ланцюга.

Таблиця 2 . Генетичний код

| Нуклеотид | | | | | |
|-----------|-------------|---------|----------------------|-------------------------|-----|
| 1-й | 2-й | | | | 3-й |
| | У | Ц | А | Г | |
| У | Фенілаланін | Серин | Тирозин | Цистеїн | У |
| | Фенілаланін | Серин | Тирозин | Цистеїн | Ц |
| | Лейцин | Серин | Стоп-кодон | Стоп-кодон ¹ | А |
| | Лейцин | Серин | Стоп-кодон | Триптофан | Г |
| Ц | Лейцин | Пролін | Гістидин | Аргінін | У |
| | Лейцин | Пролін | Гістидин | Аргінін | Ц |
| | Лейцин | Пролін | Глутамін | Аргінін | А |
| | Лейцин | Пролін | Глутамін | Аргінін | Г |
| А | Ізолейцин | Треонін | Аспарагін | Серин | У |
| | Ізолейцин | Треонін | Аспарагін | Серин | Ц |
| | Ізолейцин | Треонін | Лізін | Аргінін | А |
| | Метіонін | Треонін | Лізін | Аргінін | Г |
| Г | Валін | Аланін | Аспарагінова кислота | Гліцин | У |
| | Валін | Аланін | Аспарагінова кислота | Гліцин | Ц |
| | Валін | Аланін | Глутамінова кислота | Гліцин | А |
| | Валін | Аланін | Глутамінова кислота | Гліцин | Г |

Властивості генетичного коду:

- триплетність - значущою одиницею коду є поєднання трьох нуклеотидів (триплет або кодон). Один тринуклеотид кодує одну з двадцяти протеїногенних амінокислот. Термінальні триплети не кодують жодної з амінокислот, а слугують сигналами припинення синтезу білка;

- неперервність - між триплетами немає розділових знаків, тобто інформація зчитується безперервно;

- він є таким, що не перекривається - один і той же нуклеотид не може входити одночасно до складу двох або більше триплетів (винятком є деякі гени вірусів, бактерій і мітохондрій, які можуть кодувати декілька білків, зчитування яких здійснюється із зсувом рамки);

- специфічність (однозначність) - кодон відповідає тільки одній амінокислоті;

- виродженість (надмірність) - одній і тій же амінокислоті може відповідати декілька кодонів. Так як число кодуючих триплетів (61) є втричі більшим числа протеїногенних амінокислот (21), генетичний код є виродженим, так що більшість амінокислот кодуються двома або більше кодонами. Тільки дві амінокислоти метіонін (Met) та триптофан (Trp) кодуються одиничними кодонами, тому, очевидно, зустрічаються в білках рідше ніж інші. Виродженість генетичного кода проявляється у тому, що для кожної амінокислоти існує більш ніж одна тРНК, і одна тРНК може взаємодіяти більш ніж з одним кодоном мРНК. В кодоні найбільш важливі перші 2 літери, тоді як третя літера усіх кодонів, що відповідають одній і тій же амінокислоті, відрізняється. Так, наприклад, гліцин (Gly) кодується чотирма синонімічними кодонами: GGA, GGC, GGG та GGU. У зв'язку з переважним значенням перших двох літер (з 5'-кінця триплета мРНК) генетичний код називають квазідуплетним. Ця особливість кода дозволяє використовувати меншу кількість тРНК: для взаємодії з 61 кодоном достатньо 31 тРНК у цитозолі та 22 тРНК у мітохондрії еукаріотичної клітини.

- колінеарність - послідовність кодонів у гені ДНК (екзони) або зрілій мРНК відповідає послідовності амінокислот в кодованому білку;
- однонаправленість – код є інформативним тільки у тому випадку, коли мРНК зчитується у напрямку 5'-3';
- універсальність - генетичний код єдиний для переважної більшості біологічних систем (є винятки: інфузорії, мітохондрії - тому генетичний код правильніше називати квазіуніверсальним).

2.2. Етапи трансляції

Отже, трансляція - це переклад інформації, закладеної в послідовності нуклеотидів мРНК в послідовність амінокислотних залишків поліпептидних ланцюгів.

Перш ніж обговорювати події в процесі трансляції, спочатку охарактеризуємо компоненти системи, що забезпечує цей процес. Система для трансляції включає близько 200 типів макромолекул.

Розрізняють прокаріотичні та еукаріотичні білоксинтезуючі (трансляційні) системи. Еукаріотичні, у свою чергу, поділяються на цитоплазматичні, мітохондріальні і пластидні (в рослинних організмах) білоксинтезуючі системи. Всі вони мають схожу структурно-біохімічну організацію, хоча і містять велику кількість модифікацій.

Безклітинні системи синтезу білків з рибосомами *E.coli* були вперше зібрані у 1960 р. у США, що стало незаперечним доказом вірності певних з безлічі що існували на той час припущень про механізм біосинтезу білка.

Отже, найпростіша рибосомна система для синтезу поліпептиду повинна включати наступні компоненти: див. таблицю 3.

Трансляція протікає в три етапи: ініціація, елонгація, термінація. Трансляції передуює етап активації амінокислот - рекогніція (англ. recognition – впізнавання)

Активація амінокислот

Перед початком трансляції синтезовані в результаті різноманітних біохімічних реакцій або отримані в результаті перетравлення протеїногенні

| Прокаріоти | Еукаріоти |
|--|---|
| 70 S рибосоми | 80 S рибосоми |
| мРНК | |
| Формілметіоніл-тРНК | метіоніл-тРНК |
| Набір аміноацил-тРНК (мінімум 20 різновидів) | |
| Фактори ініціації IF (Initiation Factor): | |
| IF-1, IF-2, IF-3 | eIF-1, eIF-2, eIF-3, eIF-4A, eIF-4B, eIF-4C, eIF-4D, eIF-4E, eIF-4F, eIF-5, |
| Фактори елонгації EF (Elongation Factor): | |
| EF-Tu, EF-Ts, EF-G | eEF-1α, eEF-1β, eEF-2 |
| Фактори термінації RF (Release Factor): | |
| RF-1, RF-2, RF-3 | eRF |
| ГТФ, [Mg ²⁺]=3-20 mM | |

Таблиця 3. Порівняльна характеристика компонентів еукаріотичної та прокариотичної білоксинтезуючих систем.

амінокислоти мають пройти стадію активації й бути приєднаними до тРНК, які доставлять та забезпечать їх вбудовування у аміноацильний сайт рибосоми.

У всіх типах клітин міститься набір тРНК, які виконують роль адапторів при трансляції (перекладанні) нуклеотидних послідовностей тРНК у амінокислотні послідовності білків. У структурі тРНК розрізняють декілька функціонально важливих ділянок, основними з яких для адапторної функції є антикодон та акцептуючий кінець (рис. 9).

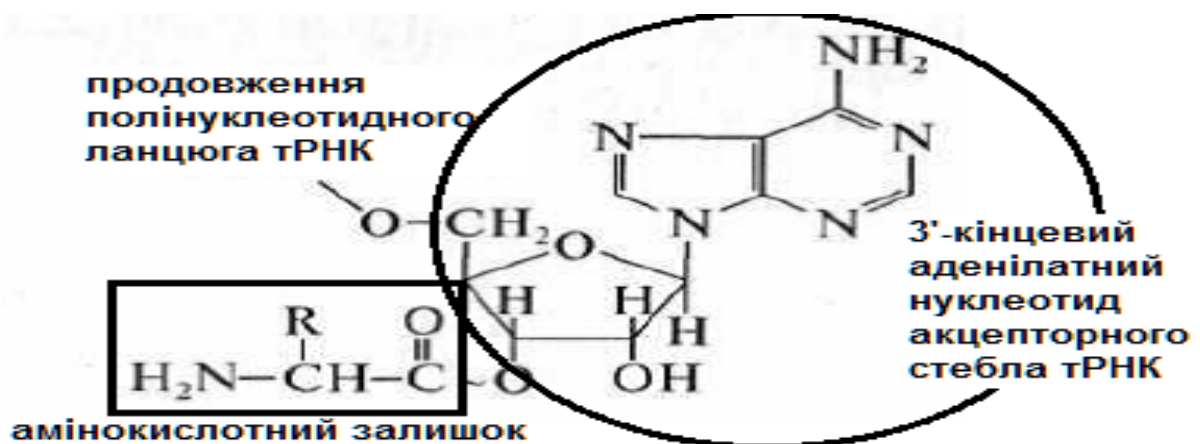


Рис. 9. Структура аміноацил-тРНК: 3'-кінець тРНК з приєднаним до нього аміноацилом

Антикодон слугує для взаємодії з відповідним комплементарним кодоном мРНК, а акцептуючий кінець (розташована на 3'-кінці молекули тРНК послідовність нуклеотидів 5'-ССА-3') – для приєднання амінокислоти. Наявність антикодону та акцептуючі властивості тРНК дозволяють їм виконувати адапторну функцію за рахунок зв'язування та перенесення амінокислотного залишку і приєднання аміноацил-тРНК через антикодон до відповідного кодону мРНК. Такий характер взаємодії між аміноацил-тРНК та мРНК дозволяє амінокислотним залишкам приєднуватися до зростаючого поліпептиду у порядку, визначеному послідовністю нуклеотидів у матричній РНК, і, таким чином, сприяє перекладу послідовності нуклеотидів у послідовність амінокислотних залишків білка, що синтезується, у відповідності до правил генетичного коду. Кожна тРНК може переносити тільки одну з амінокислот для включення в біосинтез білка. Для більшості амінокислот існує декілька тРНК, які називаються ізоакцепторними і позначаються відповідно $\text{тРНК}_1^{\text{Gly}}$, $\text{тРНК}_2^{\text{Gly}}$ і т.п. Існування ізоакцепторних тРНК пов'язане з виродженністю генетичного коду.

В результаті приєднання амінокислот до 3'-кінця молекули тРНК вони (амінокислоти) активуються – між карбоксильним кінцем молекули та кінцевим аденозином акцептуючого кінця тРНК утворюється макроергічний зв'язок, енергія якого використовується надалі для утворення пептидного зв'язку у ході біосинтезу білка на рибосомах. У результаті взаємодії специфічної тРНК і відповідної амінокислоти утворюється аміноацил-тРНК – молекула, що містить активовану амінокислоту і відповідний їй антикодон, і є справжнім субстратом для реакції синтезу поліпептидного ланцюга білка.

Активація амінокислот полягає в підборі відповідної тРНК (такої, що містить антикодон, який є комплементарним кодонової амінокислоти) і в приєднанні залишку цієї амінокислоти макроергічним зв'язком до 3'-кінця підбраної тРНК. Цей підбір та з'єднання каталізують ферменти аміноацил-тРНК синтетази- вони утворюють ковалентний зв'язок між карбоксильною

групою амінокислоти і гідроксильною групою рибози на 3'-кінці тРНК за участю АТФ.

Активація амінокислот проходить у дві реакції. Каталізуються обидві реакції ферментами аміноацил-тРНК-синтетазами (АРС-азами) (рис. 10).

1. Акцептором амінокислоти у першій реакції є макроергічна молекула АТФ. Карбоксильна група амінокислоти приєднується до α -фосфату АТФ. Отриманий нестабільний аміноациладенілат стабілізується, зв'язуючись з ферментом.

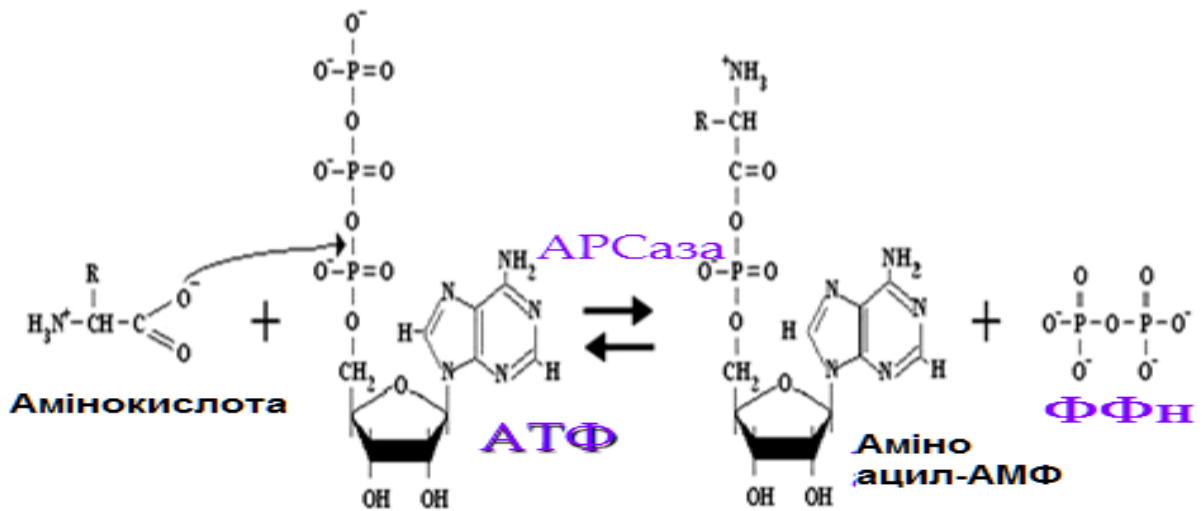


Рис. 10. Перший етап активації амінокислоти

2. Донором аміноацильного залишку для синтезу аміноацил-тРНК виступає аміноациладенілат (рис. 11).

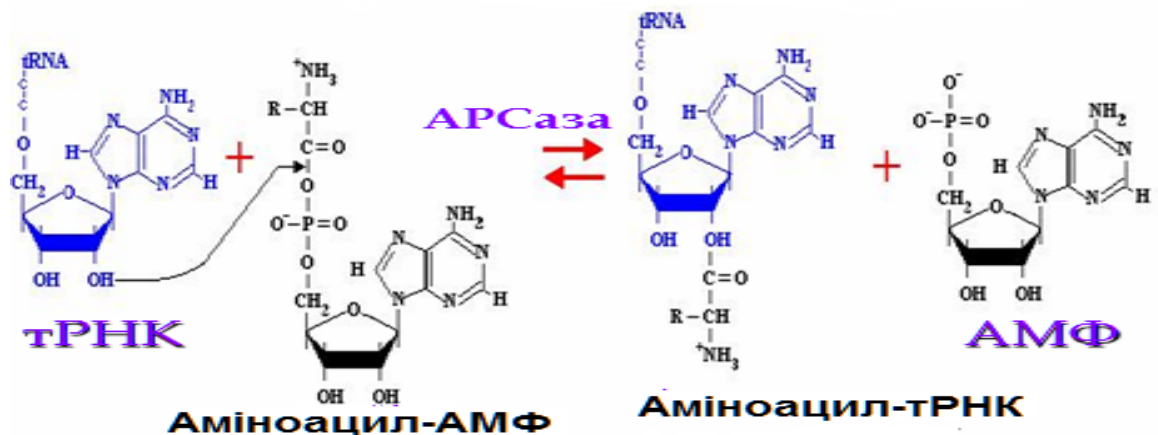


Рис. 11. Другий етап активації амінокислоти: перенесення аміноацильної групи аміноациладенілату на 2'- або 3'-ОН-групу рибози кінцевого аденілатного залишку тРНК.

Кожна клітина має 21 різновид аміноацил-тРНК синтетаз (по одному ферменту для кожної амінокислоти + один - для ініціюючої амінокислоти). Вони поділяються на 2 класи:

- клас 1 - ацилює 2'ОН рибози тРНК (10 різновидів)
- клас 2 - ацилює 3'ОН рибози тРНК (11 різновидів)

Усі АРС-ази походять від двох предкових форм і об'єднані на основі структурної подібності у два класи. Ферменти I класу є в більшості випадків мономерами (складаються з одного поліпептидного ланцюга). Вони приєднують амінокислоту до 2'-ОН групи тРНК. Ферменти II класу, як правило, є димерами або тетрамерами. За винятком фенілаланіл-тРНК, всі вони приєднують амінокислоти до 3'-ОН групи тРНК. Деякі аміноацил-тРНК-синтетази складаються з двох або чотирьох ідентичних ланцюгів, інші - димерні і тетрамерні ферменти - з субодиниць двох типів. Чіткої кореляції між розміром молекули ферменту або характером його субодиничної структури і специфічністю не існує.

Кожна АРС-аза здатна упізнавати усі ізоакцепторні (ті, що переносять одну і ту ж амінокислоту) т-РНК, одну певну амінокислоту і з'єднувати їх. Тому відповідність антикодону т-РНК і амінокислоти визначається саме цими ферментами. Декодує не рибосома, а аміноацил-тРНК синтетаза.

Аміноацил-тРНК синтетаза ідентифікує відповідність певній амінокислоті, перевіряючи не лише антикодон тРНК, а і специфічну послідовність (сайт) дигідроуридилової петлі тРНК. Деякі ферменти, мабуть, не здатні розпізнавати антикодоновий триплет і каталізують реакцію аміноацилювання навіть при зміненому антикодоні, принциповим є послідовність сайту дигідроуридилової петлі. Однак більшість ферментів проявляють знижену активність по відношенню до таких модифікованих тРНК і при заміні антикодону приєднують не ту амінокислоту.

Помилки декодування мають місце, але їх рівень не високий. Претрансферне редагування, як правило, відбувається в тому ж активному центрі, що і аміноацилювання. Посттрансферне редагування вимагає

попадання 3'-кінця аміноацил-тРНК у другий активний центр АРС-ази - редагуючий. Цей другий активний центр є не у всіх аміноацил-тРНК синтетаз, а у тих, у яких є, знаходиться в окремому домені глобули ферменту. Зустрічаються також вільно плаваючі ферменти, що беруть участь в посттрансферному редагуванні. За рахунок існування в активному центрі цих ферментів коригуючого механізму, що забезпечує негайне видалення помилково приєднаного амінокислотного залишку, досягається разюче висока точність роботи: на 1300 пов'язаних з тРНК амінокислот зустрічається тільки одна помилка.

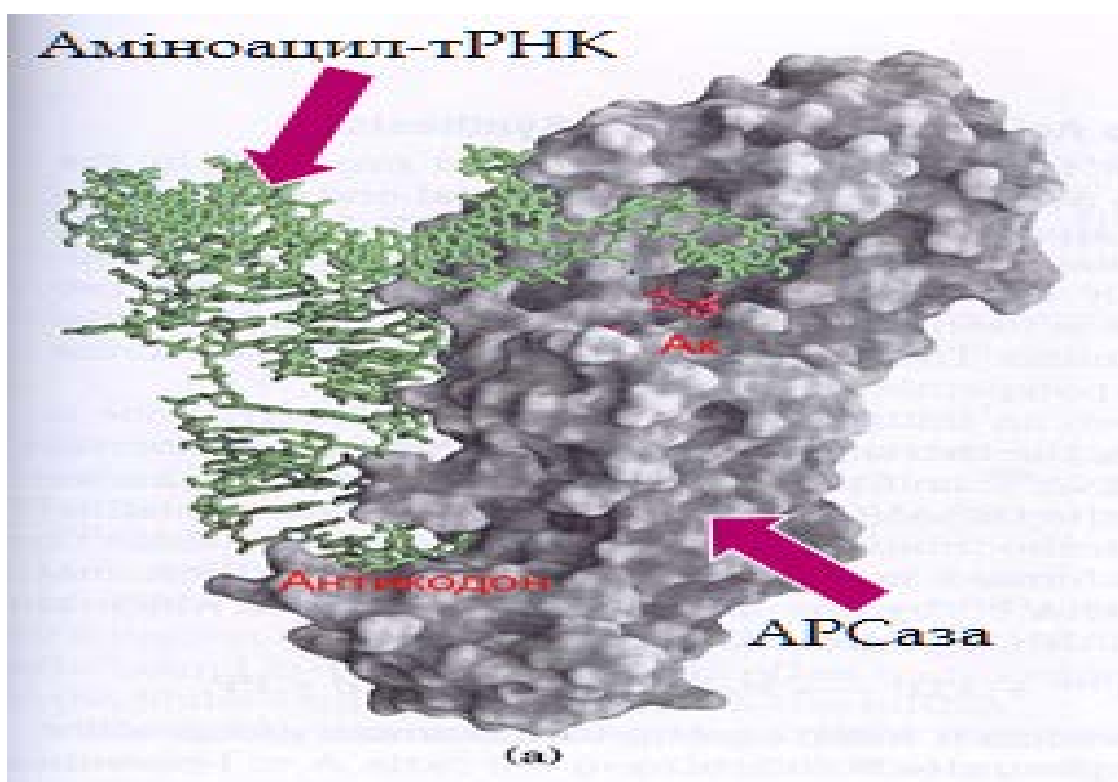


Рис. 12. Аміноацил-тРНК синтетаза (АРС-аза) I класу з утвореним продуктом

На початку 2000-х років вчені звернули увагу на відмінність первинної структури аміноацил-тРНК синтетаз у різних видів організмів. Було виявлено, що деякі бактеріальні (прокаріотичні) АРС-ази часто досить сильно відрізняються від еукаріотичних, і, зокрема, людських, аналогів. Вченими було згенеровано ідею про перспективність цього напрямку

досліджень і запроновано новий клас мішеней для блокування біосинтезу білка - аміноацил-тРНК-синтетази.

Колаборація українських (Інститут молекулярної біології та генетики УАН) і канадських біохіміків опублікувала у 2016 р. дві наукові роботи, у яких пропонуються принципово нові потенційні ліки від туберкульозу, спрямовані на селективну деактивацію ферменту лейцил-тРНК-синтетази туберкульозної палички.

Незважаючи на успіхи сучасної медицини, туберкульоз залишається одним із смертоносних захворювань. В 2014 році у світі від туберкульозу померли півтора мільйона чоловік. У зв'язку з появою бактерій, стійких до відомих антибіотиків, це значить, що «гонку озброєнь» з мікробами зупиняти не можна ні в якому разі. Щоб знаходити нові ліки від бактеріальних захворювань, слід спочатку знайти відповідну мішень - наприклад, який-небудь необхідний для життя білок-фермент, який буде сильно відрізнятися у патогенних бактерій і у людини, і який можна хімічно заблокувати. Тоді можна сподіватися, що з великою ймовірністю молекула, що блокує бактеріальний білок, не блокуватиме людський аналог.

Зараз синтезовані інгібітори туберкульозної лейцил-тРНК синтетази проходять апробацію щодо ефективності, токсичності і т.п. і можливо у найближчі роки вченими будуть запроновані нові високоефективні протитуберкульозні ліки.

Іншим прикладом використання можливості вибіркового блокування синтезу білка на стадії активації амінокислот у прокариотів є група антибактеріальних препаратів сульфаніламідів.

Сульфаніламід (наприклад, стрептоцид) є одним з найдавніших класів антибактеріальних препаратів. Ефект цих препаратів базується на структурній схожості з параамінобензойною кислотою (ПАБК), яка необхідна для життєдіяльності мікроорганізмів як субстрат синтезу тетрагідрофолієвої кислоти (ТГФК) - коферменту трьох важливих ферментів

синтезу нуклеотидів будь-якого організму, а також лише прокаріотичного та мітохондріального еукаріотичного ферменту трансформілази.

Трансформілаза – є другим після аміноацил-тРНК синтетази ферментом, необхідним для завершення активації ініціюючої амінокислоти у прокаріотів і в мітохондріях еукаріот. Вона формілює метіонін у складі метіоніл-тРНК, утвореної до цього АРС-азою (рис. 13).

У прокаріотів та в мітохондріях еукаріотів:

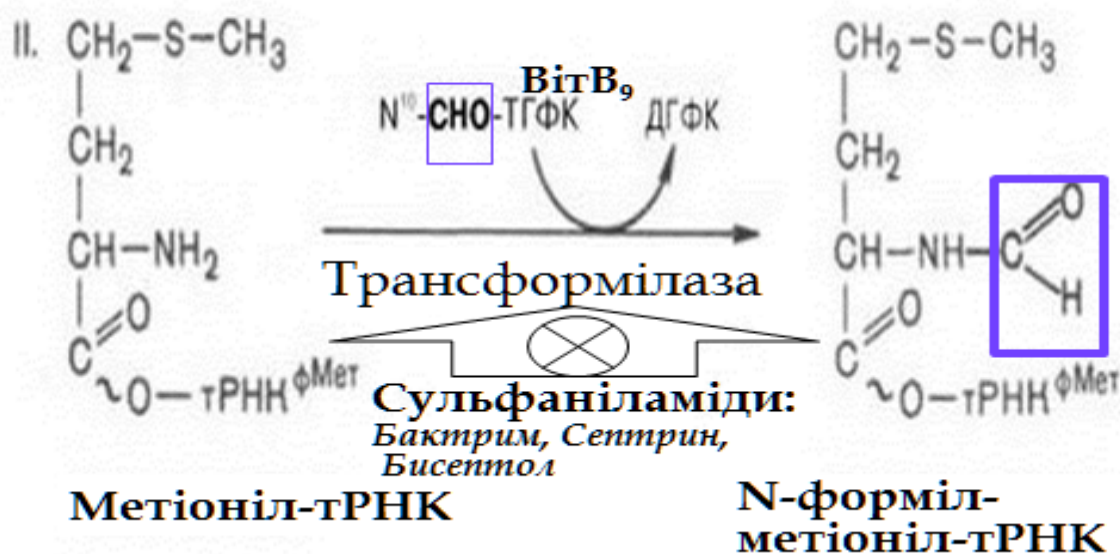


Рис. 13. Формілювання метіоніл-тРНК

Процес формілювання має важливий хімічний і біологічний сенс: блокуючи участь NH_2 -групи метіоніну в утворенні пептидного зв'язку, він забезпечує тим самим синтез білка у правильному напрямку $\text{NH}_2 \rightarrow \text{COOH}$.

Крім того утворена формілметіоніл-тРНК першою зв'язується з певною ділянкою 30S субодиниці рибосоми, з одного боку, і з ініціюючим кодоном AUG мРНК, з іншого боку. Отже, формільна мітка полегшує правильне розташування мРНК на рибосомі. У еукаріотів цю функцію виконують спеціальні білкові фактори.

Ця реакція представляє інтерес з наступних причин: сульфаніламідні препарати, маючи структурну подібність з параамінобензойною кислотою,

можуть конкурентно заміщувати її у ферментних системах мікроорганізмів, зокрема на стадії утворення формілметіоніл-тРНК, порушуючи у подальшому їх ріст та розмноження. Клітини людського організму не мають ферментів синтезу фолієвої кислоти, які б використовували у якості субстрату параамінобензойну кислоту або її структурний аналог стрептоцид. Фолієва кислота є вітаміном для людського організму. Тому сульфаніламід не впливають суттєво на процеси в клітинах людського організму, що дозволяє використовувати їх у якості протимікробних препаратів.

2.3. Характеристика компонентів білоксинтезуючої системи

Рибосоми

Рибосоми вперше були виявлені в середині 1950-х років. Вони є найважливішими немембранними органоїдами живої клітини.

У 2009 році за визначення структури і функцій рибосом була присвоєна Нобелівська премія з хімії вченому з Великої Британії Венкатраману Рамакрішнану, американцеві Томасу Стейцу і ізраїльтянці Аді Йонат.

Рибосоми представляють собою нуклеопротейд, у складі якого відношення РНК/білок становить 1: 1 у вищих тварин і майже 2: 1 у бактерій. Рибосомна РНК становить близько 80% усіх РНК клітини.

Рибосома має такий розмір, що покриває 20-60 нуклеотидних залишків мРНК. Довжина мРНК набагато більша. Очевидно, що для зчитування всієї послідовності, що кодує мРНК, рибосома повинна пересуватися вздовж матриці або протягнути її через себе. Іншими словами, рибосома працює як механізм протягування стрічки. Вона здатна «пробігати» приблизно 40-50 нуклеотидних залишків мРНК за секунду. Таким чином швидкість протеосинтезу може сягати 20 амінокислот / с (у прокариотів).

Рибосоми прокариотів та еукаріотів відрізняються як за структурою складових їх молекул, так і за розміром (рис. 14).

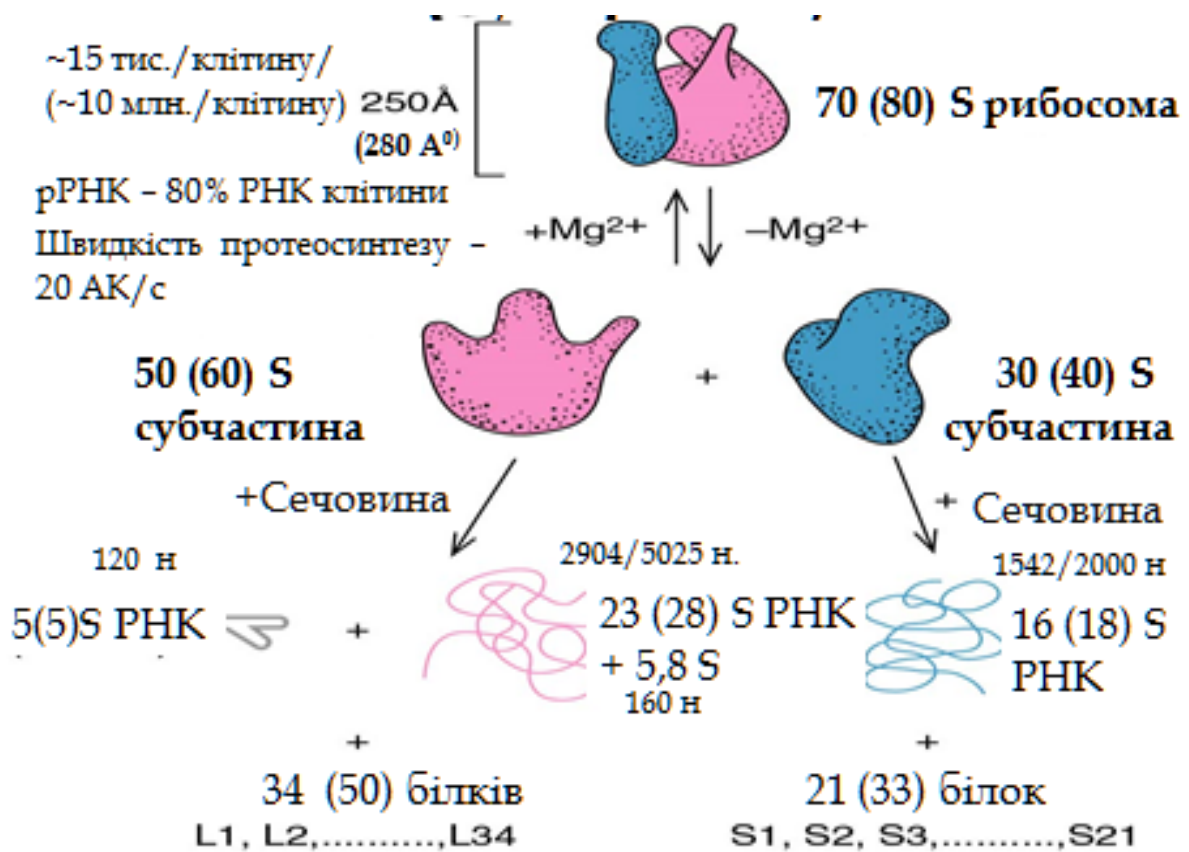


Рис. 14. Молекулярний склад рибосом прокариотів (еукаріотів):

70(80)S – числа одиниць сведберга прокариотичних (еукаріотичних) рибосом відповідно;
 L1-L34 – позначення рибосомальних білків великої (англ. Large) субдиниці;
 S1-S21 – позначення рибосомальних білків малої (англ. Small) субдиниці.

Свѣдберг – позасистемна одиниця виміру коефіцієнта седиментації, який визначається як відношення швидкості осідання часточок у розчині до центробіжного прискорення у ультрацентрифугах. Використовується для виміру нанорозмірних (1-100 нм) часточок: вірусів, органел та органодів клітин, білків, нуклеїнових кислот.

$S = D^2(d-1)(10^{13})/18\eta$, де D - діаметр часточки (см), d — питома вага часточки, η — в'язкість середовища.

Майже вся рибосомальна РНК (рРНК) знаходиться в вигляді магнієвої солі, що необхідно для підтримки структури; при видаленні іонів магнію рибосома дисоціює на субчастини.

Рибосоми за складністю структури та функції можна розглядати як нанороботи для біосинтезу білка.

Надмолекулярними складовими кожної рибосоми є дві субчастини: мала і велика. Для кожної можна позначити специфічну функцію:

мала субчатина – забезпечення кодон-антикодонових взаємодій між мРНК і аміноацил-тРНК;

велика субчастина – каталіз реакції утворення пептидного зв'язку за участю двох аміноацил-тРНК. Ця реакція каталізується 23S рРНК у прокаріотів і 28S рРНК еукаріотів. Зважаючи на наявність каталітичних властивостей ці молекули називаються подібно ферментам пептидилтрансферазами, однак існує спеціальна назва для РНК-каталізаторів – рибозими, тому називати пептидилтрансферазу ферментом неправильно, вона є рибозимом.

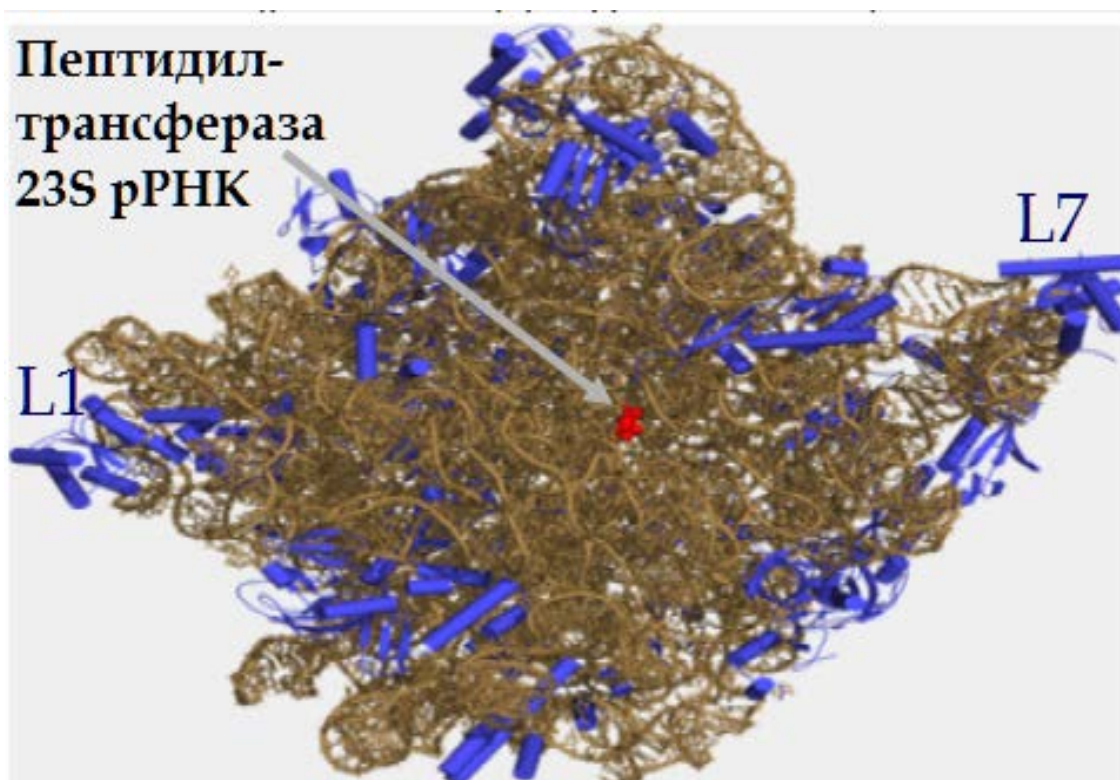


Рис. 15. Зображення великої 50S субчастини прокаріотичної рибосоми, створене за результатами рентгеноструктурного аналізу. L1, L7 – рибосомальні білки.

Розміри рибосом

У еукаріотів: 80S, 22x32 нм, М ~ 4,5 млн. Да.

- велика субодиниця: 60S, М = 3,0 млн. Да, [1 рРНК 5S (~ 120 нуклеотидів), 1 рРНК 5,8 S (~ 160 нуклеотидів), 1 рРНК 28S (~ 5 тисяч нуклеотидів), ~ 45 білків];

- мала субодиниця: 40S, М = 1,5 млн. Да, [1 рРНК 18S (~ 2 тисяч нуклеотидів), ~ 33 білка].

У цитоплазмі знаходиться у середньому близько 10 млн. рибосом еукаріотичного типу.

У прокаріотів: 70S, 21x29 нм, М ~ 2.8 млн. Да,

- велика субодиниця: 50S, М = 1,8 млн. Да, [1 рРНК 23S (~ 3200 нуклеотидів), 1 рРНК 5S (~ 120 нуклеотидів), ~34 білка];

- мала субодиниця: 30S, М = 1,0 млн. Да, [1 рРНК 16S (~ 1600 нуклеотидів), ~21 білок] |

У клітині *E.coli* налічується близько 15тисяч рибосом, вони складають 1/4 сухої маси клітини.

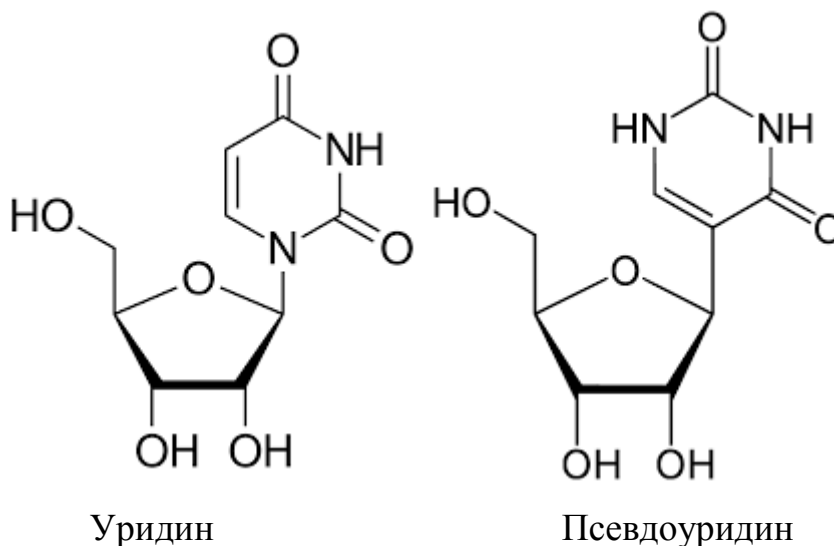
Рибосоми прокаріотичного типу присутності не лише у прокаріотів, а і в мітохондріях та пластидах еукаріотичних клітин.

Утворення рибосом

Утворення рибосом починається з транскрипції генів, які кодують рибосомальні РНК. У прокаріотів транскрипція здійснюється РНК-полімеразою, у еукаріотів є три різновиди РНК-полімераз, синтез рибосомальних РНК каталізує РНК-полімераза I та III. Саме синтез рРНК визначає здібність клітини до проліферації і росту, і велика кількість сигнальних молекул, що регулюють ці процеси, безпосередньо регулюють синтез рРНК. У ссавців кластери генів рРНК є: повторювані одиниці міжгенних спейсерів довжиною близько 30 кб (кілобаза = 1000 нуклеотидів) і ділянок, що кодують пре-рРНК, довжиною близько 14 кб. Ген рРНК кодує транскрипт-попередник, який посттранскрипційно модифікується за участю малих ядерцевих РНК та рибонуклеаз.

Малі ядерцеві РНК (мяцРНК, англ. small nucleolar RNAs - snoRNAs) - клас малих РНК, що беруть участь в хімічних модифікаціях (метилуванні та псевдоуридилуванні) рРНК, а також тРНК і малих ядерних РНК. Малі ядерцеві РНК вважаються підгрупою малих ядерних РНК. Більшість мяцРНК каталізують модифікації нуклеотидів, проте деякі беруть участь в розрізанні транскрипта-попередника пре-рРНК. мяцРНК у комплексі з білками доставляються в ядрця спеціальними шаперонами.

Метилування - приєднання метильних груп до різних субстратів. Зріла рРНК людини містять приблизно 115 метильованих нуклеотидних модифікацій, здебільшого по 2'О-атому рибози. Псевдоуридилування - ізомеризація уридину в псевдоуридин (Ψ). Зрілі рРНК людини містять близько 95 залишків псевдоуридинів.



Кожна молекула мяцРНК пов'язана щонайменше з чотирма молекулами білка, утворюючи РНК-білковий комплекс – малий ядерцевий рибонуклопротеїд (англ. snoRNP). Те, які білки входять до складу комплексу, залежить від типу мяцРНК. Молекула мяцРНК містить послідовність з 10-20 нуклеотидів, комплементарних послідовності, до складу якої входить той нуклеотид, який треба модифікувати, що дозволяє мяцРНК специфічно зв'язуватися з необхідною ділянкою рРНК, яка процесується. Після зв'язування мяцРНК з рРНК білки, що входять до складу комплексу, здійснюють каталіз хімічної модифікації азотистої основи. Модифікації

рРНК покращують складання цієї РНК у правильну конформацію, що сприяє взаємодії з рибосомними білками. Псевдоуридин (Ψ) у порівнянні з уридином має додаткову можливість для утворення водневих зв'язків. Сильно метилована РНК зазвичай краще захищена від гідролізу нуклеазами.

Велика частина генів мяцРНК хребетних розташована в інтронах генів, які кодують білки, що приймають участь у збиранні рибосом або трансляції. Гени мяцРНК транскрибуються РНК-полімеразою II типу, але можуть і транскрибуватися з власних промоторів РНК-полімеразою II або III типу.

Утворений у результаті транскрипції початковий транскрипт пре-рРНК розрізається на окремі рРНК (18S, 5.8S і 28S), що становлять основу рибосоми, а 5S рРНК транскрибується окремо РНК-полімеразою III.

У еукаріотів місця зосередження генів, що кодують рРНК, зазвичай добре помітні в ядрі клітини, завдяки скупченню навколо них субодиниць рибосом, самозбирання яких відбувається тут же. Ці скупчення добре фарбуються цитологічними барвниками і утворюють те, що називається ядерцем. Відповідно, наявність ядерця характерна не для всіх фаз клітинного циклу: при поділі клітини в профазі ядерце дисоціює, оскільки синтез рРНК призупиняється, і знову утворюється в кінці телофази при відновленні синтезу рРНК.

У міру того, як перша молекула РНК-полімерази проходить одну транскрипційну одиницю генів рРНК, на неї сідає наступна РНК-полімераза і синтезує нову пре-РНК. Кінцевим продуктом є пре-рРНК 45S. По ходу синтезу пре-рРНК огортається рибосомними білками, які надходять в ядро з цитоплазми. Після відділення 45S рРНК від ДНК і ферменту вона розщеплюється на більш дрібні молекули, які дають початок рибосомним субодиницям 40S і 60S. Малі субодиниці синтезуються в полісомах приблизно за 30 хвилин, а синтез великих субодиниць займає близько години. Новостворені субодиниці рибосоми виходять з ядра в цитоплазму через ядерні пори. Повна рибосома 80S утворюється після того, як мала

субодиниця зв'яжеться з мРНК та з ініціюючою метіоніл-тРНК і лише потім з великою субодиницею.

Утворення рибосом - один з найбільш енерговитратних процесів, що протікають в еукаріотичній клітині, і він пов'язаний з клітинним циклом та клітинною проліферацією. Показано, що активація утворення рибосом пов'язана зі швидким ростом клітини та її поділом.

Зібрана з рРНК та рибосомальних білків еукаріотична рибосома утворює 3 основних функціональних сайти: аміноацильний, у якому знову і знову буде розміщуватися аміноацил-тРНК; пептидильний, у якому буде знаходитися після транслокації пептидил-тРНК; exit-сайт, з якого буде вивільнятися тРНК (рис. 16).

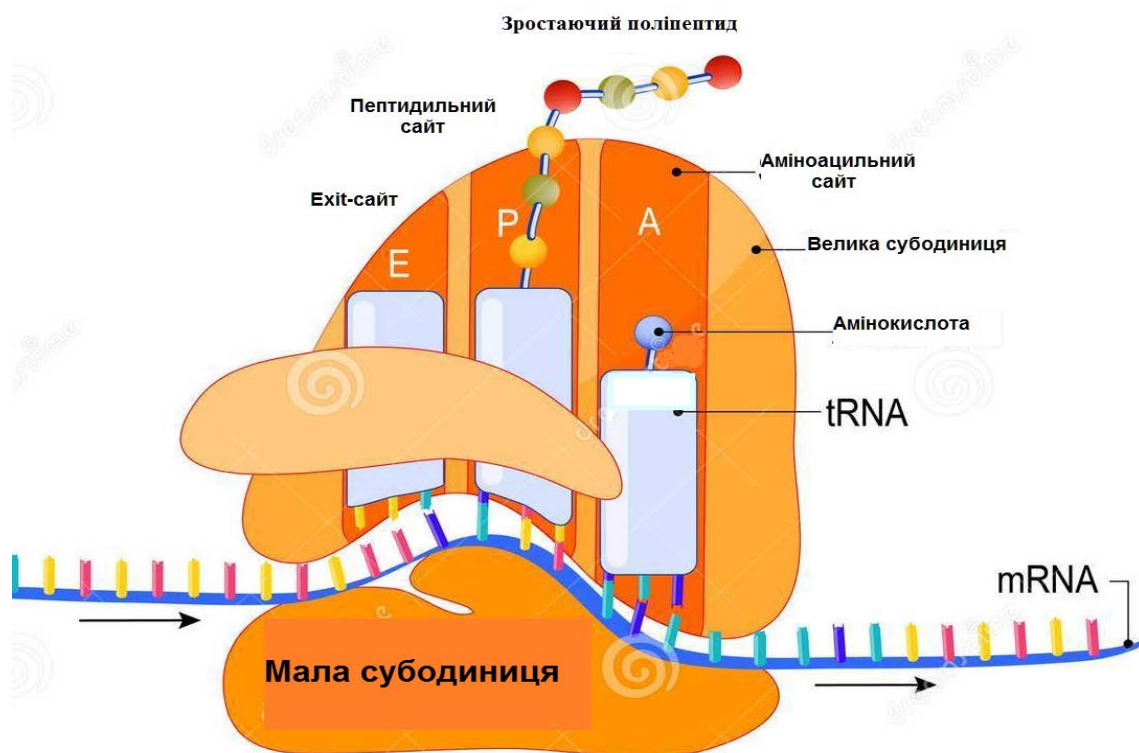


Рис. 16. Основні функціональні сайти еукаріотичної рибосоми: А – аміноацильний, Р – пептидильний, Е – сайт виходу з рибосоми тРНК

Матричні рибонуклеїнові кислоти (мРНК)

Матричні рибонуклеїнової кислоти (мРНК, інформаційні РНК, іРНК) - молекули РНК, що представляють собою комплементарні копії значущих

послідовностей ДНК - генів, в яких закодована інформація про амінокислотні послідовності поліпептидних ланцюгів білків. Вони утворюються в результаті транскрипції (синтез РНК на ДНК-матриці за допомогою ферменту ДНК-залежної РНК-полімерази) і процесингу первинного транскрипту (видалення надлишкових некодуючих РНК-послідовностей з обох кінців та всередині молекули, а також зшивання кодуючих ділянок РНК один з одним. мРНК переносять генетичну інформацію від генів до рибосом, де відбувається трансляція. При цьому один ланцюг мРНК можуть транслювати одночасно декілька рибосом. мРНК завжди складається з одного полінуклеотидного ланцюга. Вторинна структура мРНК представлена багаточисельними двухспіральними ділянками ("шпильками"), що утворюються в результаті комплементарної взаємодії між азотистими основами (А з U і G з C) одного і того ж ланцюга; шпильки з'єднані між собою короткими однотяжевими ділянками. При зв'язуванні з рибосомою макромолекулярна структура мРНК суттєво змінюється, а двоспіральні її ділянки в районі безпосереднього контакту з рибосомою переходять в однотяжевий стан.

мРНК становлять незначну частку (3-5%) від сумарної клітинної РНК. У клітині бактерій мРНК досить нестабільні і швидко руйнуються: час їх напівжиття складає 2-3 хвилин. На відміну від них, мРНК в клітинах еукаріотів, як правило, зберігаються протягом декількох годин. Значною мірою це пов'язано з тим, що в клітині мРНК завжди знаходяться в комплексі з білками, утворюючи рибонуклеопротеїни, або інформосоми. Білковий склад інформосом в період, що передує трансляції, і в момент трансляції (тобто в складі полісом) різний. Молекули мРНК містять два типи нуклеотидних послідовностей - трансльовані і нетрансльовані. Трансльована послідовність мРНК складена послідовністю кодонів. Вона починається з ініціюючого кодону AUG і закінчується до термінуючого (один з UAG, UAA або UGA). Одна молекула мРНК прокаріотів (бактерії і синьо-зелені водорості) часто кодує два або більше різних поліпептидних ланцюги (такі мРНК називаються

поліцистронними) і містить відповідно кілька кодуєчих послідовностей. У поліцистронній мРНК послідовності, що кодують поліпептидні ланцюги, розділені міжцистронними нетрансльованими ділянками - спейсерами, довжина яких варіює в широких межах. Між ініціюючим кодоном найближчої до 5'-кінця мРНК трансльованої послідовності і цим кінцем зазвичай знаходиться 50-200 нуклеотидних залишків. 3'-кінець мРНК, відділений від термінуючого кодону значно довшою нетрансльованою ділянкою (до декількох тисяч нуклеотидних залишків). Ці нетрансльовані ділянки необхідні для створення специфічної макромолекулярної структури мРНК, а також містять так звані сигнали ініціації трансляції. Найкраще досліджено таку сигнальну послідовність в мРНК прокариотів (відкрита Дж. Шайном та Л. Дальгарно і носить їхнє ім'я – послідовність Шайна-Далгарно, у еукаріотів подібна послідовність має назву послідовність Козак). Послідовність Шайна-Дальгарно містить 3-7 нуклеотидних залишків, розташованих перед ініціюючим кодоном. Вона є комплементарною 3'-кінцевій послідовності рРНК малої субодиниці рибосоми і утворює з нею у процесі ініціації трансляції двоспиральний комплекс. Вторинна структура мРНК в районі сигнальної послідовності та ініціюючого кодону впливає на ефективність ініціації трансляції. Наявність або відсутність вільної 5'-кінцевої послідовності в мРНК прокариотів несуттєва для початку трансляції. В окремих випадках рибосома здатна починати трансляцію внутрішніх кодуєчих послідовностей. Деякі мРНК прокариотів (найчастіше ті, які кодують ферменти біосинтезу амінокислот) окрім основних трансльованих послідовностей ближче до їх 5'-кінця містять регуляторну послідовність, в якій закодовано короткий поліпептид, що має назву «атенюатор»). Синтез цього поліпептиду відбувається під час утворення мРНК і може призводити до передчасного закінчення синтезу останньої, тобто передчасно закінчується транскрипція. У деяких РНК-вірусів еукаріотів в РНК закодовано велика кількість білків, які в процесі трансляції синтезуються у

вигляді гігантського поліпептидного ланцюга (поліпротеїну), який потім розщеплюється специфічними протеазами на окремі білкові молекули.

У еукаріотів мРНК, як правило, є моноцистронною. 5'-Кінець таких мРНК містить кеп (англ. cap - шапка, ковпак), який приєднується до мРНК після завершення транскрипції за допомогою специфічної ферментної системи. Ті нуклеотидні залишки, які слідує за кепом, також модифіковані - містять залишки метильованої рибози. Наявність кепа в мРНК підвищує ефективність її трансляції. Припускають, що у еукаріотів мала субодиниця рибосоми спочатку зв'язується з 5'-кінцем молекули, а потім "ковзає" по ланцюгу мРНК аж до ініціюючого кодону трансльованої послідовності, де зупиняється і починається збирання апарату для зчитування мРНК.

Більшість молекул мРНК в еукаріотичній клітині містить на своєму 3'-кінці гомополімерну послідовність (поліаденілат) з 20-200 залишків аденілової кислоти. Поліаденілювання здійснюється ферментом поліаденілатполімеразою після закінчення транскрипції як останній етап процесингу 3'-кінцевої ділянки мРНК. Функціональна роль поліаденілатної послідовності в мРНК є, імовірно, зв'язування зі спеціальними білками в інформосомі. Деякі мРНК, наприклад, гістонові мРНК, поліаденілюються лише частково.

| Прокаріоти | Еукаріоти |
|--|--|
| | «5' кеп» (захист від нуклеаз) |
| 5' нетрансльована ділянка включає послідовності: | |
| Шайна-Далгарно | Козак |
| трансльована ділянка – починається з AUG | |
| 3' нетрансльована ділянка – починається зі стоп-кодонів (нонсенс-кодонів): UAG, UGA, UAA | |
| | 3' поліаденілатний «хвіст» (транспорт, захист від нуклеаз) |

Таблиця 4. Порівняння структурних і функціональних особливостей мРНК прокаріотів та еукаріотів

Транспортні рибонуклеїнові кислоти (тРНК)

т-РНК виконують функції адаптерів (специфічних посередників) між кодонами м-РНК і амінокислотами. На 3'-кінці молекули завжди знаходяться чотири неспарених нуклеотиди, причому три з них - це обов'язково ССА. 5'- і 3'-кінці ланцюга тРНК утворюють акцепторне стебло. Ланцюги утримуються разом завдяки комплементарному спаровуванню семи пар нуклеотидів.

Усі тРНК містять псевдоуридилову шпильку. Вона містить два нехарактерних для рибонуклеїнових кислот залишки: риботимиділат (Т) і псевдоуридилат (Ψ). Шпилька складається з дволанцюгового стебла, утвореного п'ятьма спареними азотистими основами і петлі довжиною сім нуклеотидів. Триплет ТΨС завжди розташований в одному і тому ж місці петлі.

У антикодонівій шпильці стебло завжди утворене сімома спареними основами. Триплет, комплементарний смислового кодону мРНК, - антикодон - знаходиться всередині петлі, утвореної сімома нуклеотидами.

Ще одна шпилька – дигідроуридилова - складається з стебла довжиною три-чотири пари нуклеотидів і петлі різного розміру, що містить дигідроурацил.

Роль окремих ділянок тРНК: псевдоуридилова петля забезпечує зв'язування аміноацил-тРНК з рибосоною, дигідроуридилова петля, найімовірніше, необхідна як сайт для пізнавання ферментом аміноацил-тРНК-синтетазою (рис. 17).

Кожна амінокислота має декілька відповідних їй різновидів тРНК. Число генів, що кодують тРНК для однієї і тієї ж амінокислоти, може відрізнятися у різних організмів. Загальна кількість генів тРНК в у людини більше 1 тисячі. В генах тРНК еукаріотів функціонально важливий 3'-кінцевий триплет не кодується ДНК, він добудовується посттранскрипційно за допомогою ферменту тРНК-нуклеотидилтрансферази.

Структура тРНК

тРНК- 15% РНК клітини 10-25% нуклеотидів – мінорні
 Довжина: 74-95 нуклеотидів Виявлено 60 різних тРНК

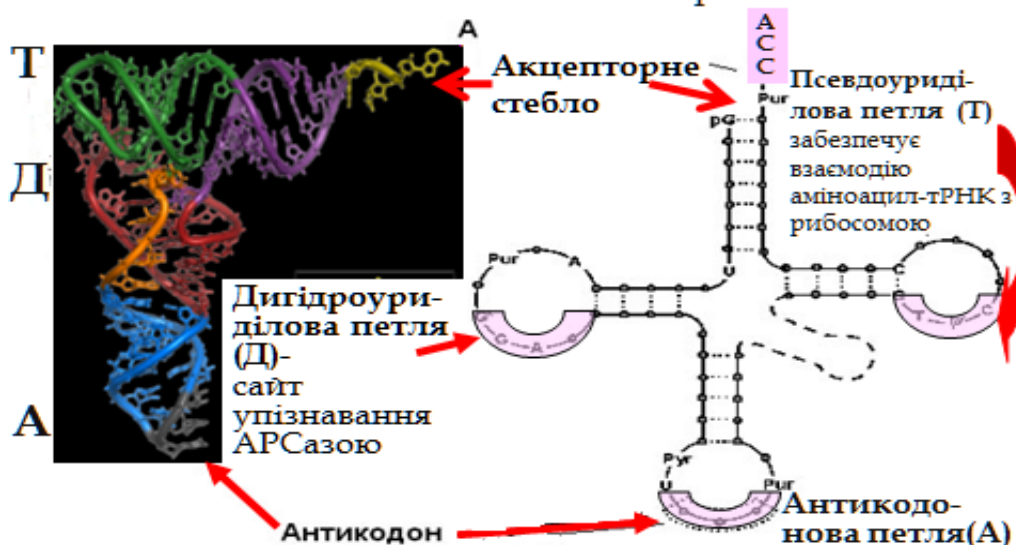


Рис. 17. Структура тРНК у вигляді літери L та листка люцерни

Крім акцепторно-адапторної функції в білковому синтезі, багато тРНК можуть виконувати роль затравки при зворотній транскрипції (синтез ДНК на РНК-матриці) завдяки комплементарності 3-кінця тРНК (17-20 нуклеотидів) і ділянки РНК ретровірусів, а також ретротранспозонів.

Функції факторів ініціації прокариотів:

- IF 3 - пов'язаний з 30S-субодиницею, запобігає передчасній асоціації з великою 50S субодиницею рибосоми, зберігаючи її відокремленою до зв'язування з матричною РНК. Комплекс IF 3 з 30S субчастиною рибосоми упізнає спеціальні послідовності мРНК: 1) ініціаторний кодон AUG, 2) послідовність Шайна-Далгарно з якою комплементарно зв'язується 16S рРНК. Таким чином фіксується мРНК на рибосомі.

- IF2 - взаємодіє з аміноацил-тРНК, розщеплює ГТФ.

Після того, як 30S-субчастина - IF3 комплекс зв'язався з мРНК до неї залучаються ініціаторна аміноацил-тРНК з IF2. Експериментально доведено, що синтез білка у еукаріотів починається з метіоніл-тРНК. У прокариотів першою аміноацил-тРНК є формілметіоніл-тРНК. Ініціаторна аміноацил-тРНК фіксується у Р (пептидильній) ділянці малої субчастини рибосоми.

Потім приєднується 50S-субчастина, відбувається гідроліз ГТФ і фактори ініціації дисоціюють. Зібрана рибосома починає синтезувати поліпептидний ланцюг.

- IF1 - не обов'язковий фактор (у деяких видів відсутній), підвищує спорідненість малої субчастини до IF2 і IF3.

Аналогічні білкові фактори ініціації виявлені і в еукаріотичних клітинах. Відкрито близько 10 еукаріотичних білкових факторів ініціації. Всі вони важливі для ініціації, однак тільки три з них абсолютно необхідні і суттєві для білкового синтезу: eIF-2, eIF-3 і eIF-5.

Функції факторів елонгації прокариотів:

- EF-Tu (аналог у еукаріот eEF1 α) - зв'язування аміноацил-тРНК з А (аміноацильним)-сайтом рибосоми за рахунок гідролізу ГТФ;

- EF-Ts (аналог у еукаріот eEF1 β) - вивільнення ГДФ з EF-Tu-ГДФ;

- EF-G (аналог у еукаріот eEF2) - транслокація (переміщення рибосоми по відношенню до мРНК на 1 триплет) за рахунок гідролізу ГТФ.

Процес елонгації поліпептидного ланцюга у E. coli починається з утворення першого пептидного зв'язку і безпосередньо, точніше топографічно, пов'язаний з великою субчастиною (50S) рибосоми, що містить два центри для зв'язування тРНК: один з них називається аміноацильним (А), інший - пептидильним (Р).

Процес елонгації прийнято ділити на 3 стадії: 1) упізнання кодону і зв'язування аміноацил-тРНК, 2) утворення пептидного зв'язку і 3) транслокація.

У процесі транслокації рибосома переміщується вздовж мРНК у напрямку до її 3'-кінця на відстань в один кодон, тобто точно на один триплет. Таким чином, на стадії елонгації відбувається послідовне нарощування поліпептидного ланцюга по одній амінокислоті у відповідності з послідовністю триплетів (кодонів) у молекулі мРНК.

Функції факторів термінації прокариотів: RF1 і RF2 упізнають стоп-кодони; RF3 здійснює гідроліз пептидил-тРНК, як результат - вивільнення

синтезованого пептиду. Джерелом енергії для завершення трансляції є ГТФ. Фактор термінації у еукаріотів один – RF.

Істотним є з'ясування питання про кількість енергії, необхідної для синтезу одного пептидного зв'язку під час трансляції. Як було відзначено, при активації амінокислоти ще до стадії ініціації, тобто при формуванні аміноацил-тРНК, витрачається енергія розпаду АТФ на АМФ і пірофосфат, що приблизно еквівалентно гідролізу 2 молекул АТФ до 2 молекул АДФ, оскільки пірофосфат піддається розпаду на 2 молекули неорганічного фосфату. Для включення аміноацил-тРНК в аміноацильний центр використовується енергія гідролізу молекули ГТФ на ГДФ і неорганічний фосфат. Нарешті, транслокація рибосоми також потребує енергії гідролізу ще однієї молекули ГТФ. Таким чином, енергетичні потреби синтезу кожного пептидного зв'язку еквівалентні енергії гідролізу 2 молекул АТФ і 2 молекул ГТФ (тобто гідроліз чотирьох макроергічних фосфатних зв'язків) до відповідних нуклеозиддифосфатів. Легко уявити, наскільки великі енерговитрати кожної клітини при синтезі не тільки однієї молекули білка, а великої кількості молекул найрізноманітніших білків за одиницю часу.

мРНК транслюється одночасно декількома рибосомами. Структура, в якій мРНК асоційована з багатьма транслюючими рибосомами, називається полірибосоною або полісоною. Кожна рибосома займає на мРНК ділянку довжиною близько 80 нуклеотидів, тому рибосоми розташовуються на мРНК з інтервалом приблизно в 100 нуклеотидів. Кількість рибосом, що складають полісому, залежить від довжини мРНК: зазвичай 3-20 рибосом, а на дуже довгих мРНК можуть перебувати одночасно 50-100 рибосом.

2.4. Механізм трансляції

Як і інші матричні синтези трансляція поділяють на три стадії (етапи): ініціація, елонгація, термінація.

Ініціація трансляції у прокаріотів

Для ініціації трансляції необхідні мала і велика дисоційовані субодиниці рибосоми; мРНК; ГТФ; формілметіоніл-тРНК; три білкових фактора ініціації: IF1, IF2, IF3.

На початку цієї стадії формуються два потрібних комплекси:

- перший комплекс: мРНК + мала субодиниця + IF3,
- другий комплекс: формілметіоніл-тРНК + IF2+ ГТФ.

Після формування потрібні комплекси об'єднуються з великою субодиницею рибосоми. У цьому процесі беруть активну участь білкові фактори ініціації, джерелом енергії служить ГТФ. Після складання комплексу ініціююча метіоніл-тРНК зв'язується з першим кодоном AUG матричної РНК і розташовується в пептидильному сайті - Р-сайті (англ. Peptidyl-tRNA binding site) великої субодиниці. Аміноацильний сайт – А-сайт (англ. Aminoacyl-tRNA binding site) залишається вільним, він буде задіяний на стадії елонгації для зв'язування аміноацил-тРНК.

Ініціація трансляції у еукаріотів

У еукаріотичних клітинах основною лімітуючою стадією синтезу білка є ініціація трансляції. Як правило, регуляція трансляції спрямована на полегшення або, навпаки, гальмування саме ініціації трансляції. Ініціація трансляції переважної більшості (понад 97%) еукаріотичних мРНК відбувається за так званим кеп-залежним механізмом.

Кеп-залежна ініціація трансляції. Скануюча модель.

Більшість еукаріотичних мРНК мають схожу будову: вони містять на 5'-кінці кеп структуру - «перевернутий» та метильований GTP (рис. 18).

Відповідно до «скануючої моделі», запропонованої у кінці 80-х років минулого століття, мала 40S субодиниця рибосоми за допомогою білкових факторів ініціації трансляції (eIF, eukaryotic initiation factor) - приєднується до кеп структурі на 5 'кінці мРНК. Після цього 40S субодиниця в комплексі з різними факторами рухається по мРНК в 3 'напрямку, скануючи 5' нетрансльовані послідовності у пошуках стартового кодону AUG. Як тільки такий кодон знайдено, до малої субодиниці приєднується велика 60S

субодиниця, тобто збирається ціла 80S рибосома, і починається синтез поліпептидного ланцюга.

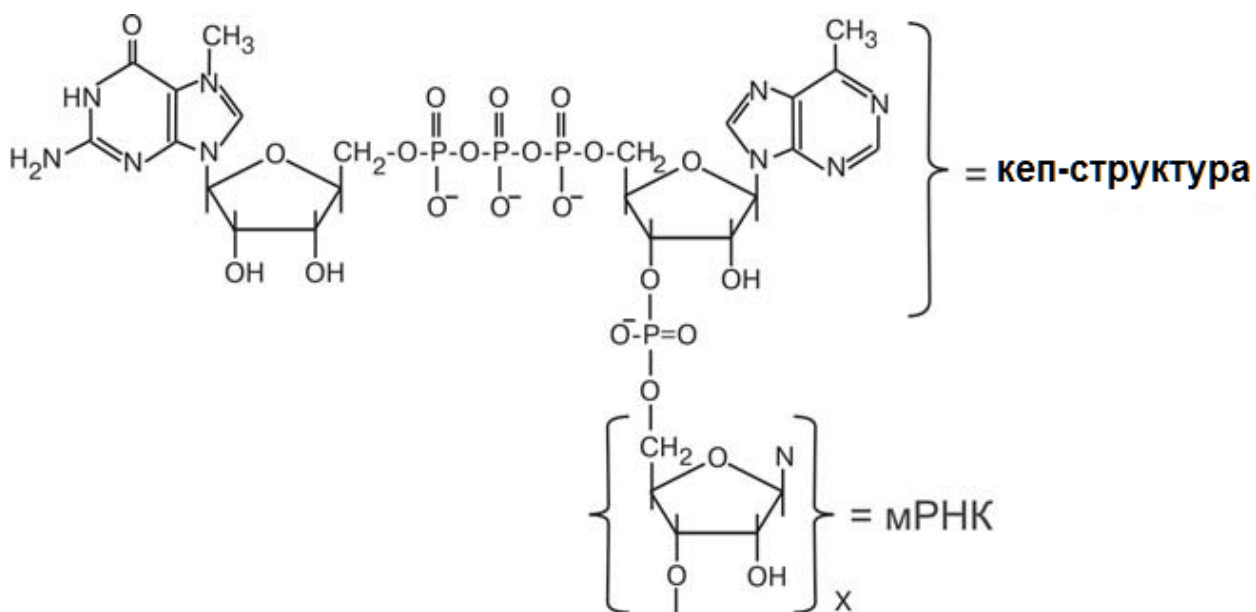


Рис. 18. Структура 5'-кінця еукаріотичної мРНК

Ключову роль в ініціації трансляції грає ініціююча метіоніл-тРНК ($\text{Met-tRNA}^{\text{iMet}}$). Саме за її допомогою, за рахунок кодон-антикодонової взаємодії, скануючий комплекс знаходить стартовий AUG кодон. Участь $\text{Met-tRNA}^{\text{iMet}}$ в ініціації трансляції забезпечує фактор ініціації eIF2, який складається з трьох різних субодиниць - альфа, бета та гамма. Через гамма субодиницю здійснюється зв'язування з $\text{Met-tRNA}^{\text{iMet}}$ і молекулою GTP, через бета субодиницю відбувається взаємодія з факторами eIF2B і eIF5, альфа субодиниця бере участь в регуляції активності eIF2 (за допомогою фосфорилування серина 51 в її складі). $\text{Met-tRNA}^{\text{iMet}}$ та eIF2 беруть участь в ініціації трансляції в складі потрійного комплексу: $\text{Met-tRNA}^{\text{iMet}} - \text{eIF2-GTP}$. Взаємодія цього комплексу, 40S субодиниці рибосоми і факторів eIF1, eIF3, eIF1A призводить до утворення рибосомального преініціаторного комплексу (рис. 19).

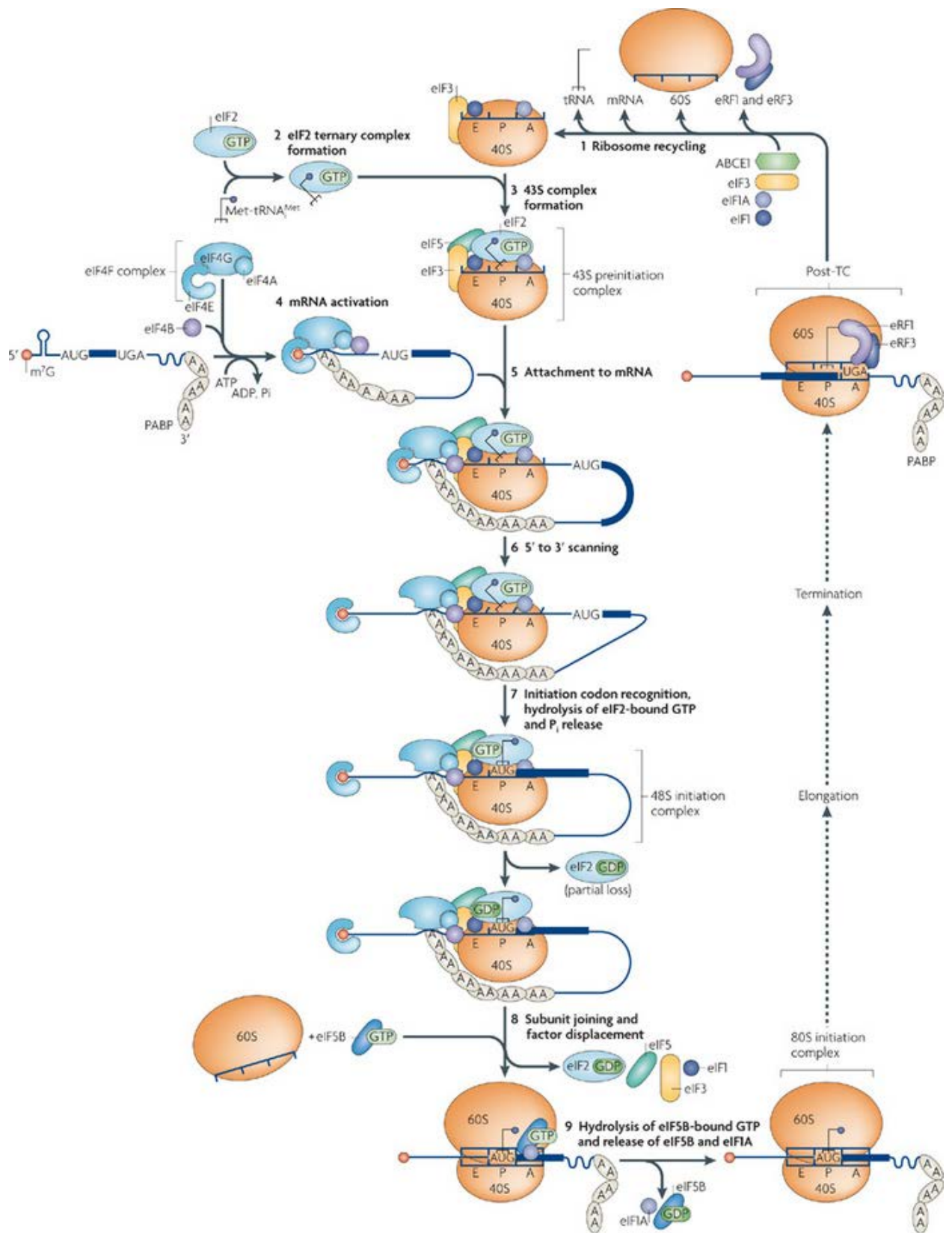


Рис. 19. Ініціація трансляції у еукаріотів (Images from publication: Jackson R. J. The mechanism of eukaryotic translation initiation and principles of its regulation / R. J. Jackson, C. U. Hellen, T. V. Pestova // Nat. Rev. Mol. Cell Biol., 2010 Feb. - № 11(2). – P.113).

Активация мРНК

В еукариотичних клітинах мРНК, як правило, є асоційованою з мРНК-зв'язуючими білками і тому знаходиться у стані рибонуклеопротеїну (РНП). Для ініціації трансляції необхідно очистити 5'-кінцеву ділянку РНП від молекул білка, а також «розплести» присутні в ній елементи вторинної структури. Ця функція виконується фактором 4F - одним з найважливіших елементів трансляційного апарату клітини, який складається з трьох різних білкових субодиниць: eIF4E, eIF4G і eIF4A. Невеликий білок eIF4E має високу спорідненість до кеп-структури на 5'-кінці мРНК і за рахунок нього здійснюється приєднання eIF4F до мРНК. Фактор eIF4G грає найважливішу роль в ініціації трансляції, забезпечуючи зв'язок між різними білками, які беруть участь у цьому процесі. eIF4A є РНК-залежною хеліказою, яка, використовуючи енергію АТФ, «розкручує» елементи вторинної структури 5'-ділянки мРНК. Цей процес стимулюється факторами eIF4B і eIF4H.

Приєднання активованої мРНК до преініціаторного комплексу

Активована за допомогою білкових факторів 4-ї групи мРНК приєднується до рибосомального предініціаторного комплексу. Це приєднання забезпечує eIF4G за рахунок взаємодії з eIF3 в складі предініціаторного комплексу і, таким чином, 40S субодиниця і Met-тРНК^{iMet} виявляються на 5'-кінці мРНК. Проте антикодон тРНК ще не пов'язаний з ініціюючим кодоном AUG. Наступним етапом кеп-залежною ініціації трансляції є пошук цього триплету в складі мРНК. 40S субодиниця в комплексі з факторами ініціації рухається вздовж мРНК в 3'-напрямку, перевіряючи кожен триплет на комплементарність антикодону Met-тРНК^{iMet}. Ефективність упізнавання ініціюючого кодону залежить від того, які нуклеотиди знаходяться навколо нього, від так званого контексту AUG кодону. За допомогою сучасних методів вдалося встановити, що додавання декапованої бета-глобінової мРНК, АТФ, GTP, білкових факторів 2, 3, 4A, 4B, 4F і Met-тРНК^{iMet} призводило до утворення на 5'-кінці мРНК 43S-преініціаторного комплексу, але він залишався нерухомим. Однак, якщо

разом з іншими компонентами відразу до цієї суміші додавали ще й фактори 1 і 1A, то комплекс виявлявся вже на AUG кодоні. Також було показано, що eIF1 необхідний для правильного упізнавання AUG кодону - без нього скануючий комплекс «не розрізняє» контекст стартового триплету. Очевидно, що присутність eIF1 переводить рибосому в інший стан, у якому взаємодія з AUG стає більш специфічною. Також отримано дані, що свідчать про те, що у скануванні задіяний обмін між вільним eIF4A і 4A в складі eIF4F, що супроводжується гідролізом АТФ.

Асоціація 80S рибосоми

Після правильного приєднання антикодону ініціюючої аміноацил-тРНК (Met-тРНК^{iMet}) до AUG 40S субодиниця рибосоми повинна бути звільнена від факторів ініціації. Цей процес забезпечується факторами eIF5 і eIF5B. Кодон-антикодонна взаємодія призводить до зміни конформації eIF2, що, в свою чергу, веде до гідролізу GTP у складі потрібного комплексу. Гідроліз GTP здійснюється за допомогою eIF5, який зв'язується з бета-субодиницею eIF2. Для приєднання 60S субодиниці і утворення 80S рибосоми необхідний гідроліз ще однієї молекули GTP, пов'язаний з фактором eIF5B. З'єднання 40S і 60S забезпечує комплекс eIF5B і GTP, а гідроліз необхідний для дисоціації eIF5B.

Перетворення eIF2-GDP в eIF2-GTP

Гідроліз GTP в складі потрібного комплексу веде до вивільнення eIF2-GDP. Як і більшість так званих G-білків, eIF2 зв'язує GDP у 100 разів сильніше, ніж GTP. Однак на початкових стадіях ініціації трансляції eIF2 необхідний у комплексі з GTP. Для цього спеціальний білок eIF2B забезпечує заміну GDP в комплексі з eIF2 на GTP.

Участь 3'-кінця мРНК у ініціації трансляції

Описаний вище механізм ініціації білкового синтезу пов'язаний з 5'-кінцем мРНК, і головними діючими елементами цього процесу є кап і 5'-нетрансльована послідовність. Однак в ініціації трансляції задіяний ще один структурний елемент мРНК - 3'-нетрансльована послідовність, а саме

поліаденілатний «хвіст». Виявилося, що ця поліаденілатна послідовність не лише захищає мРНК від 3'→5' деградації, а й бере найактивнішу участь в кеп-залежній ініціації трансляції, яка відбувається на протилежному кінці мРНК. Було ідентифіковано білок, який забезпечує участь поліаденілатного хвоста в ініціації трансляції – поліА-зв'язуючий білок або РАВР (англ. PolyA-binding protein). Кілька молекул цього білка кооперативно покривають 3'-кінець мРНК і взаємодіють з eIF4G або деякими іншими факторами ініціації. РАВР і eIF4G є сполучними ланками наступного ланцюга:

5'-кінець мРНК-кеп-eIF4E-eIF4G-РАВР-3'- кінець мРНК.

Таким чином, в процесі ініціації трансляції мРНК виявляється замкнутою у кільцеву структуру за рахунок РНК-білкових та білок-білкових взаємодій. Така «циклізація» кепованої і поліаденілованої мРНК в присутності eIF4E, eIF4G і РАВР стабілізує мРНК. Крім того РАВР взаємодіє ще з декількома білками. Були ідентифіковані білки Paip1 і Paip2 (англ. PolyA-binding protein interacting proteins). Paip1 є гомологічним частині eIF4G, може взаємодіяти як з РАВР, так і з eIF4A і стимулює кеп-залежну трансляцію. Paip2, навпаки, зв'язуючись з РАВР, перешкоджає його взаємодії з поліаденілатним «хвостом» і у такий спосіб інгібує трансляцію мРНК. Paip1 і Paip2 конкурують між собою за зв'язування з РАВР і, таким чином, надають клітині ще одну можливість для регуляції трансляції.

Елонгація трансляції

Для цієї стадії має бути набір у достатній кількості усіх 21 аміноацил-тРНК, білкові фактори елонгації, ГТФ. Подовження ланцюга відбувається зі швидкістю приблизно 20 амінокислот за секунду.

Елонгація є циклічним процесом. Перший цикл (і наступні цикли) елонгації включає три етапи:

1. Приєднання аміноацил-тРНК її антикодоновою стороною до кодону мРНК (наступного за ініціюючим), аміноацил-тРНК при цьому вбудовується в А-сайт рибосоми. Джерелом енергії служить ГТФ. Здійснюють фактори елонгації.

2. Рибозим пептидилтрансфераза (є складовою великої субодиниці рибосоми) здійснює перенесення залишку метіоніну (а у подальшому пептиду) з метіоніл-тРНК (у подальшому пептидил-тРНК), яка знаходиться у Р-сайті, на другу аміноацил-тРНК, яка знаходиться у А-сайті з утворенням пептидного зв'язку між залишками метіоніну (у подальшому пептиду) і другої амінокислоти. При цьому вже активована карбоксильна група метіоніну зв'язується з вільною аміногрупою другої амінокислоти. Джерелом енергії служить макроергічний зв'язок між залишками метіоніну (у подальшому наступної амінокислоти) та тРНК, утворений раніше на стадії активації амінокислоти.

3. Фермент транслоказа переміщує мРНК відносно рибосоми таким чином, що перший кодон AUG виявляється поза Р-сайтом рибосоми, другий кодон переміщується з А-сайту в Р-сайт. Разом з мРНК переміщуються приєднані комплементарно: 1) до її ініціюючого AUG кодону (у подальшому наступного кодону) тРНК з якої було використано метіонільний залишок (у подальшому пептидильний) та 2) пептидил-тРНК. Таким чином у А-сайт потрапляє наступний третій і т.д. кодон. Рибосомальна ніша А-сайту вільна і готова прийняти наступну аміноацил-тРНК. Для переміщення мРНК з приєднаними до неї тРНК та пептидил-тРНК відносно рибосоми потрібна енергія, вона забезпечується гідролізом ГТФ (рис. 20).

Друге повторення циклу починається з приєднання третьої аміноацил-тРНК до третього кодону мРНК та вбудовування її у А-сайт. Далі трансферазна реакція повторюється і утворюється трипептид у А-сайті, після чого він зміщується в Р-сайт завдяки транслоказній реакції. У порожній А-сайт входить четверта аміноацил-тРНК і починається третій цикл елонгації:

Цикл елонгації повторюється стільки раз, скільки амінокислот необхідно включити в поліпептидний ланцюг за інструкцією мРНК.

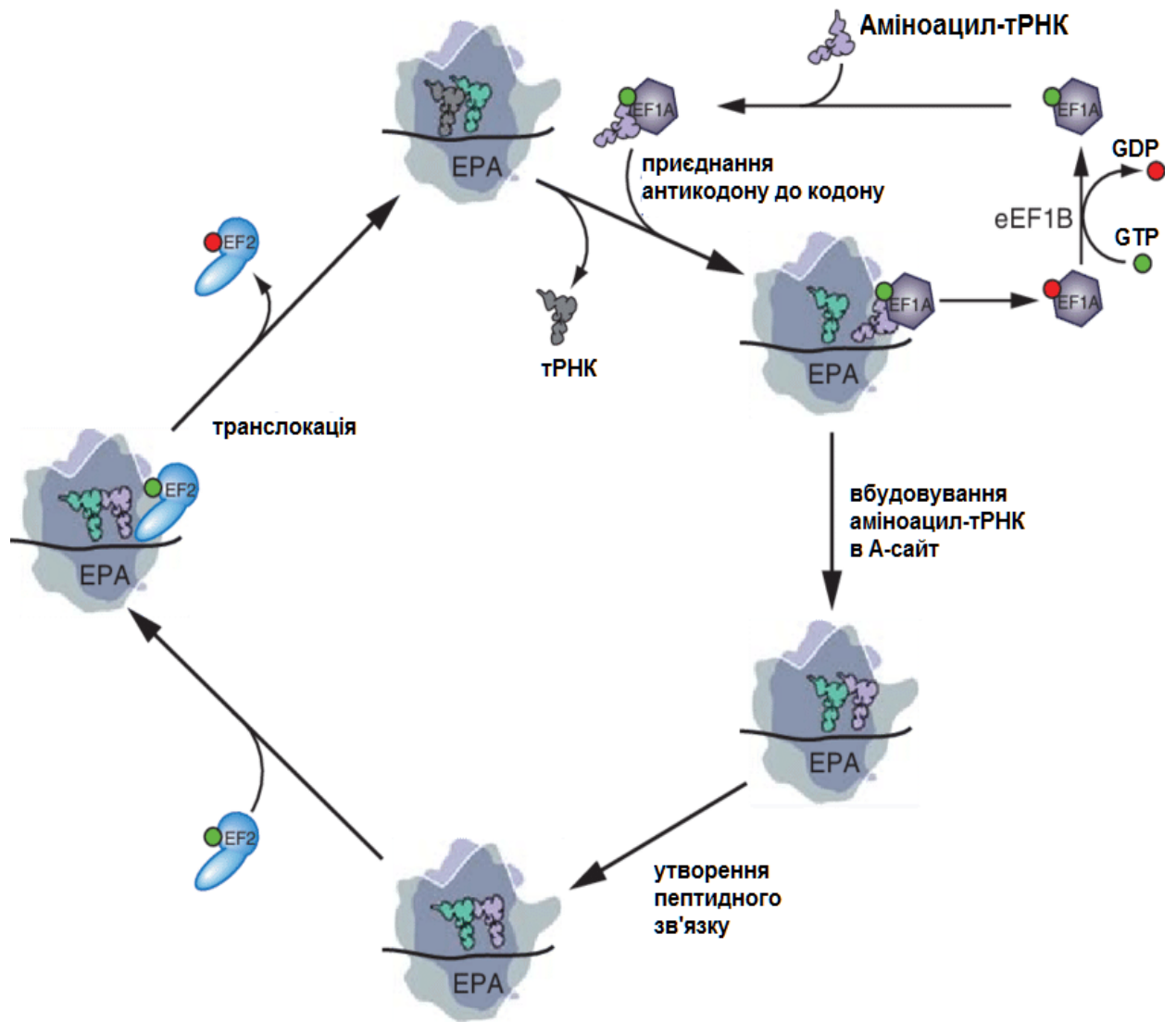


Рис. 20. Елонгація трансляції: послідовність подій

Термінація трансляції

Синтез білка триває до тих пір, поки рибосома не досягне на мРНК особливих термінуючих кодонів - стоп-кодонів UAA, UGA, UAG. Дані триплети не кодують жодної з амінокислот, їх також називають нонсенс-кодонами. При входженні цих кодонів в А-сайт рибосоми відбувається активація білкових факторів термінації, які послідовно каталізують:

- 1) гідролітичне відщеплення синтезованого поліпептиду від тРНК;
- 2) відокремлення з рибосоми звільненої від пептидилу тРНК;
- 3) дисоціацію рибосоми на субодиниці.

Джерелом енергії для завершення трансляції є GTP.

2.5. Вплив фізіологічно активних сполук на біосинтез білків

Так як перебіг трансляції залежить від інших матричних синтезів через участь у цьому процесі різних видів РНК, фізіологічно активні сполуки, які мають дію на матричні синтези (реплікацію, транскрипцію) впливають також і на трансляцію.

Пригнічення матричних біосинтезів може здійснюватися шляхом:

- структурної модифікації матриці або рибосом;
- інактивації ферментів;
- зниження синтезу субстратів (НТФ, дНТФ, аміноацил-тРНК).

Уповільнення або навіть зупинка будь-якого з матричних біосинтезів небезпечна для клітин і може викликати їх загибель. Саме з цієї причини інгібітори матричних синтезів здебільшого є отрутами для живого організму. Проте деякі інгібітори матричних біосинтезів знайшли застосування в медицині. Так, антибіотики, що пригнічують процес транскрипції і трансляції та є специфічними відносно білок-синтезуючої системи лише прокариотів, можуть використовуватися як антибактеріальні препарати; а антибіотики, які порушують матричну функцію ДНК, знайшли застосування при лікуванні злоякісних новоутворень і є протипухлинними препаратами.

Вплив фізіологічно активних сполук на рівні транскрипції

Так як продукти транскрипції – рРНК, тРНК та мРНК, приймають безпосередню участь у трансляції, існує пряма залежність трансляції від впливу факторів, які здатні змінювати перебіг транскрипції та посттранскрипційного процесингу.

1. Білковий синтез може гальмуватися такими гетероциклічними сполуками, як актиноміцин D, доксорубіцин та дауноміцин. Вони мають здатність інтеркалювати (вбудовуватися між ланцюгами молекули ДНК) між двома сусідніми парами основ Г-Ц. У результаті виникає перешкода для руху РНК-полімерази (ефект "заїдання блискавки") і зупинка транскрипції. Таким чином гальмується синтез усіх типів клітинної РНК, особливо мРНК. Отже гетероциклічні сполуки-інтеркалятори є інгібіторами транскрипції.

Токсичність актиноміцину D у порівнянні з його антибактеріальним ефектом перешкоджає його використанню в якості антибіотику для лікування інфекційних захворювань. У той же час він має протипухлинну дію, що дозволяє використовувати його в якості паліативної терапії деяких типів раку. Проте унаслідок високої токсичності застосовується рідко. Вибірковість протипухлинних препаратів таких як доксорубіцин, дауноміцин та інших ліків, які взаємодіють з ДНК трансформованих клітин пухлини, невелика. Вона забезпечується, як правило, більш високою швидкістю синтезу ДНК та РНК у цих клітинах, а також підвищеною проникністю плазматичних мембран клітин пухлин для метаболітів у порівнянні нормальними клітинами, у яких швидкість метаболізму значно нижча. Сполуки, які інгібують реплікацію та транскрипцію, є токсичними, насамперед, для нормальних клітин організму, які швидко діляться - таких, як стовбурові клітини кровотворної системи, клітини слизової шлунка і кишечника, фолікулів волосся тощо. В останні роки проводяться дослідження пошуку та створення препаратів, які б забезпечували доставку інгібітора тільки в пухлинні клітини. Це досягається зв'язуванням цитотоксичних антибіотиків з білками, рецептори до яких є головним чином лише у пухлинних клітин.

2. Рифампіцин зв'язується з β -субодиницею РНК-полімерази прокариотів та пригнічує її. Завдяки такій вибірковості дії рифампіцин діє тільки на бактерії і є препаратом для лікування туберкульозу.

Антибіотик рифаміцин, утворений бактеріями *Streptomyces*, і його напівсинтетичне похідне рифампіцин специфічно інгібують ініціацію транскрипції. Ці антибіотики не запобігають зв'язуванню РНК-полімерази з ДНК-матрицею. Рифампіцин перешкоджає утворенню першого фосфодієфірного зв'язку в ланцюзі РНК. При цьому антибіотик практично не впливає на елонгацію ланцюга. Слід зазначити, що недавно відкрита противірусна дія рифаміцину, дозволяє використовувати його у лікуванні трахоми, яка викликається ДНК-вмісним вірусом. Як антивірусний засіб

препарат активно пригнічує реплікацію вірусів віспи, саркоми Рауса, деяких штамів аденовірусів, вірусу простого герпесу, а також вірусу сказу. Очевидно, цей антибіотик може увійти у практику лікування пухлин, що викликаються вірусами.

Подібну до цих антибіотиків дію на клітини еукаріотів має альфа-аманітин – токсин блідої поганки. Причиною загибелі людей при отруєнні блідою поганкою *Amanita phalloides* є α -аманітин, який міститься в тілі гриба і викликає необоротну дисфункцію печінки і нирок. Висока токсичність цієї сполуки для людини пов'язана з тим, що він інгібує вибірково еукаріотичні РНК-полімерази. Найбільшу чутливість до отрути виявляє РНК-полімераза II, що каталізує синтез мРНК. Для α -аманітіна LD50 (доза per os, при якій гине 50% осіб, які отримали токсин) становить 0,1 мг / кг маси тіла.

Вплив фізіологічно активних сполук на рівні трансляції

1. Інактивація факторів ініціації:

Інтерферони активують внутрішньоклітинні протеїнкінази, які, в свою чергу, фосфорилують білковий фактор ініціації eIF-2 і пригнічують його активність.

Багато вірусів, наприклад віруси віспи, грипу, поліомієліту, потрапляючи в еукаріотичні клітини, припиняють в них синтез нуклеїнових кислот і білків, характерних для даного організму, перемикаючи ферментні системи та енергетичні ресурси на відтворення вірусних часточок.

У відповідь на вірусну інфекцію в клітинах еукаріотів синтезуються інтерферони. Вони індуюють в заражених клітинах утворення протеїнкінази, яка здійснює фосфорилування фактору ініціації трансляції eIF2 і, таким чином, припиняє роботу білоксинтезуючого апарату. Крім того, інтерферони стимулюють синтез ферменту олігонуклеотидполімерази, що каталізує утворення невеликих кількостей коротких олігоаденілатів: 2', 5'-оліго (А). Ці олігонуклеотиди є активаторами рибонуклеаз - ферментів, що розщеплюють матричні та рибосомні РНК. Підвищення активності РНКаз, що розщеплюють мРНК, у тому числі вірусні, призводить до припинення

синтезу білка і загибелі інфікованих клітин. Це перешкоджає розмноженню та розповсюдженню вірусів у організмі людини. Таким чином інтерферони забезпечують захист організму від вірусних інфекцій.

2. Порушення кодон-антикодонових взаємодій:

Стрептоміцин - історично перший (був відкритий другим після пеніциліну) антибіотик групи аміноглікозидів і перший, який виявився активним проти туберкульозу і чуми. Він приєднується до малої субодиниці рибосоми прокаріотів та перешкоджає зв'язуванню формілметіоніл-тРНК з рибосомою і порушує таким чином правильну ініціацію трансляції. Крім того, стрептоміцин призводить до неправильного зчитування мРНК. Він сприяє утриманню на рибосомі аміноацил-тРНК, яка не є відповідною до того кодону, який знаходиться у А-сайті. У результаті такого помилкового декодування синтезуються неправильні поліпептиди, з великою кількістю помилок у первинній структурі, що і обумовлює бактерицидний ефект. Стрептоміцин діє вибірково на бактеріальні 70 S рибосоми, а такі антибіотики як канаміцин та неоміцин індукують помилкове декодування на еукаріотичних 80S рибосомах.

Місце дії стрептоміцину в рибосомі було визначено в результаті дослідів з реконструкції компонентів рибосом чутливих і стійких до стрептоміцину бактерій. Такі штами бактерій розрізняються мутацією в єдиному гені. Експеримент показав, що детермінант чутливості до стрептоміцину локалізований у 30S-субчастині рибосоми - ним виявився білок S12.

3. Пошкодження структури рРНК

Надзвичайно токсичний білок рицин, виділений з рицини звичайної, являє собою N-глікозилазу, яка видаляє один залишок аденіну з 28S рРНК великої субодиниці рибосоми і таким чином пригнічує синтез білка у еукаріотів. Рицин - білковий компонент касторової олії, іноді використовується як проносний засіб. Через високу токсичність рицину лікування касторовою олією проводять короткими курсами, тому що тривале

вживання може викликати безперервний пронос, порушення роботи кишечника і навіть загибель хворого.

4. Блокування стадії елонгації:

4. 1. Тетрацикліни блокують А-центр рибосоми і позбавляють її здатності зв'язуватися з аміноацил-тРНК. Механізм протимікробної дії тетрациклінів пов'язаний з пригніченням синтезу білка рибосомами бактерій та здійснюється наступним чином: тетрацикліни порушують зв'язування аміноацил-тРНК з акцепторним сайтом комплексу мРНК-рибосома. Це блокує включення наступних амінокислот у поліпептидний ланцюг, що пригнічує синтез білка на 30 S субчастині рибосоми. Таким чином здійснюється бактеріостатичний ефект. Крім цього, тетрацикліни зв'язують іони двовалентних металів Ca^{2+} та Mg^{2+} , що призводить до інгібування металозалежних ферментних систем організмів.

4. 2. Існує цілий перелік інгібіторів, які пригнічують EF-Tu- або eEF-1 α -залежне зв'язування аміноацил-тРНК з рибосомою шляхом блокування факторзв'язуючої ділянки 50S або 60S субчастин рибосом. Такий механізм дії мають антибіотики тіострептон та сіоміцин. Великі за розміром молекули антибіотиків міцно зв'язуються з 50S субчастиною рибосоми у місці локалізації білку L11 та перешкоджають взаємодії EF-Tu а також EF-G з факторзв'язуючою ділянкою. Підтвердженням цього є той факт, що мутантні бактерії, у яких рибосомальний білок L11 відсутній або його структура змінена, є нечутливими до дії цих антибіотиків.

4. 3. Антибіотик фузидова кислота також є інгібітором зв'язування аміноацил-тРНК, але він не діє на рибосому, а зв'язується з EF-G таким чином, що у цього фактора збільшується спорідненість до факторзв'язуючої ділянки 50S субчастини рибосоми і він залишається там навіть після транслокації та гідролізу ГТФ. Приєднаний до рибосоми комплекс EF-G – ГДФ - фузидова кислота блокує таким чином взаємодію EF-Tu та аміноацил-тРНК з 50S субчастиною рибосоми.

4. 4. Антибіотик кірроміцин діє на сам EF-Tu, не перешкоджаючи зв'язуванню аміноацил-тРНК, а блокуючи наступну стадію процесу. Він діє подібно до фузидової кислоти, яка впливає на EF-G: він збільшує спорідненість EF-Tu з аміноацил-тРНК до рибосоми настільки, що фактор після гідролізу ГТФ не від'єднується і таким чином блокує участь аміноацильного залишку у транспептидації.

4. 5. Подібну дію має хлорамфенікол (левоміцетин) – він порушує приєднання амінокислотного залишку аміноацил-тРНК до розташованої на 50S-субчастині рибосоми пептидилтрансферазної ділянки. Взаємодія антикодону тРНК з розміщеним на 30S-субчастині кодоном мРНК при цьому не порушується. У результаті пептидилтрансфераза не взаємодіє зі своїм субстратом - амінокислотою, і пептидний зв'язок не утворюється. Таким чином знижується активність пептидилтрансферази.

4. 6. Ентеротоксин збудника дифтерії *Corynebacterium diphtheriae* інгібує синтез білків в клітинах слизової оболонки зіву і гортані. Деякі штами цього патогенного мікроорганізму отримують ген токсину від бактеріального вірусу, що називається β -фагом, який інфікує бактерію і індукує синтез токсичного для людини одноланцюгового білка з молекулярною масою 60 кД. У цитоплазмі клітин господаря під впливом протеолітичних ферментів токсин розщеплюється на 2 фрагменти, один з яких є ферментом АДФ-рибозилтрансферазою. Цей фермент каталізує перенесення залишку АДФ-рибози з NAD^+ на ОН-групу залишку серину в молекулі фактора елонгації eEF2. Інактивація фактора пригнічує просування рибосоми вздовж мРНК на стадії транслокації. У результаті зростаючий поліпептидний ланцюг залишається в аміноацильному центрі рибосоми. Таким чином біосинтез білків в інфікованих клітинах слизової зіву і гортані припиняється.

4. 7. Еритроміцин зв'язується з 50S-субчастиною рибосоми та інгібує транслоказу.

4. 8. Пуроміцин за структурою схожий з тирозил-тРНК, входить в А-центр рибосоми і бере участь у пептидилтрансферазній реакції, утворюючи зв'язок з наявним пептидом. Після цього комплекс пуроміцин-пептид відділяється від рибосоми, що перериває синтез поліпептидного ланцюга. Пуроміцин гальмує синтез білка як у прокаріотів так і у еукаріотів.

3. МЕТАБОЛІЗМ АМІНОКИСЛОТ

Для синтезу білків у організмі дорослої здорової людини використовуються в середньому 80% амінокислот, які надходять в організм з шлунково-кишкового тракту. Решта 20% вступають в різноманітні метаболічні процеси. Всі ці процеси можна розділити на 2 групи.

1) Загальні шляхи катаболізму амінокислот (для більшості амінокислот вони однакові). У них беруть участь ті функціональні групи амінокислот, які є однаковими у всіх протеїногенних амінокислот: альфа-аміногрупа та альфа-карбоксыльна група. Загальними шляхами (реакціями) катаболізму амінокислот є:

- 1) трансамінування;
- 2) дезамінування
- 3) декарбоксылювання.

2) Специфічні шляхи метаболізму для кожної окремої амінокислоти (різні для різних амінокислот) – у них задіяні радикали амінокислот.

Джерелом вільних амінокислот в організмі є екзогенні білки, що надходять з їжею; білки власних тканин, амінокислоти, які синтезуються в реакціях проміжного обміну (замінні). Депонування амінокислот в тканинах організму не відбувається.

Загальний вміст вільних амінокислот у крові коливається в межах 4-6 мг%, однак процентний вміст окремих амінокислот неоднаковий. Вміст глутамату, глутаміну, аланіну і серину в крові набагато вищий, ніж інших амінокислот. Це пояснюється особливостями використання даних амінокислот у тканинах головного мозку, м'язів, печінки, нирок. М'язи і

печінка грають головну роль у підтриманні на постійному рівні вільних амінокислот, що циркулюють в крові.

Аланін є основною глікогенною амінокислотою. Більша частина глутамату і глутаміну в нирковій та м'язовій тканинах перетворюється на аланін. Швидкість синтезу глюкози в печінці людини з аланіну є найвищою у порівнянні з використанням у цьому процесі інших глікогенних амінокислот.

Глутамін є головним продуктом утилізації аміаку в нервовій тканині, з іншого боку глутамін служить донором аміногрупи в синтетичних процесах інших тканин організму людини. Аланін і глутамін секретуються в кров, головним чином, м'язами. Нирки продукують у великій кількості серин. Амінокислоти з розгалуженим бічним радикалом, а також частково валін, секретуються м'язами і активно використовуються печінкою і головним мозком.

На рис.21 представлені всі можливі шляхи утворення та використання амінокислот, що визначають їх пул у крові:

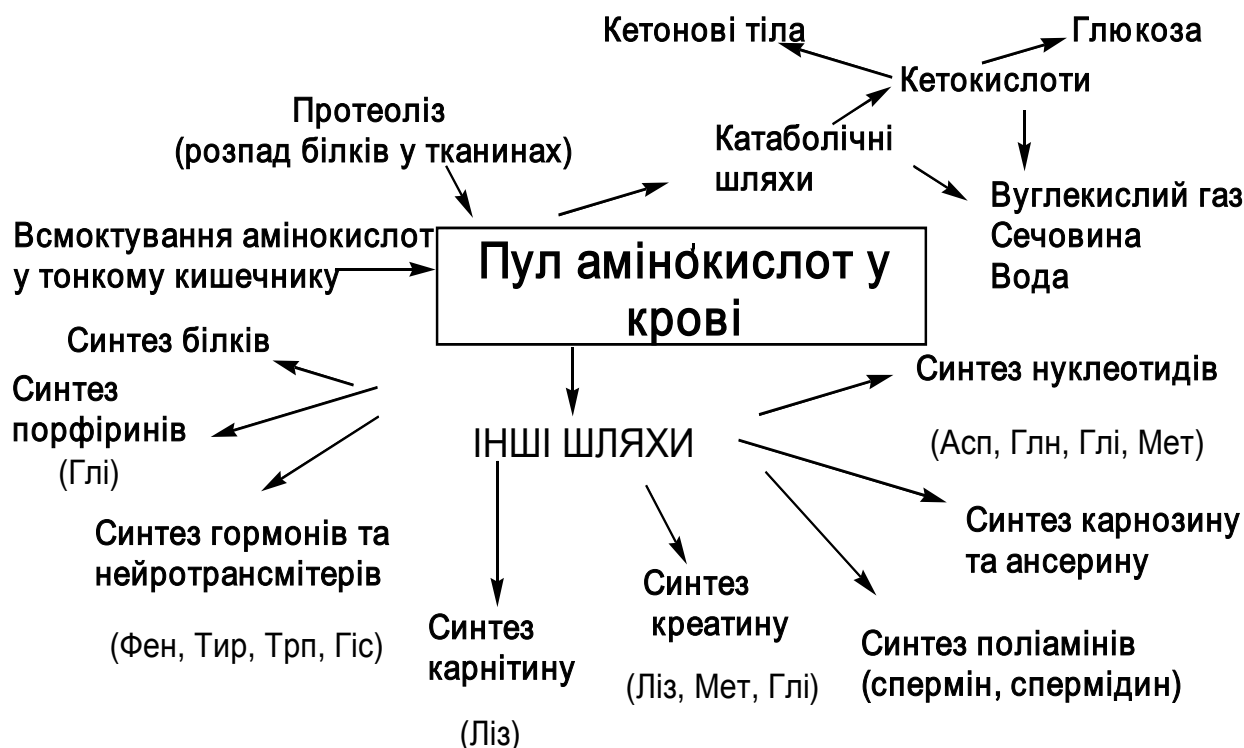


Рис. 21. Основні шляхи обміну амінокислот в організмі людини

3.1. Загальні шляхи обміну амінокислот

Незважаючи на те, що для кожної амінокислоти існують спеціальні шляхи обміну, вони можуть підлягати перетворенням, характерним для всіх амінокислот. До подібних загальних шляхів катаболізму відносяться трансамінування, трансдезамінування, пряме дезамінування і декарбоксілювання (рис. 22).

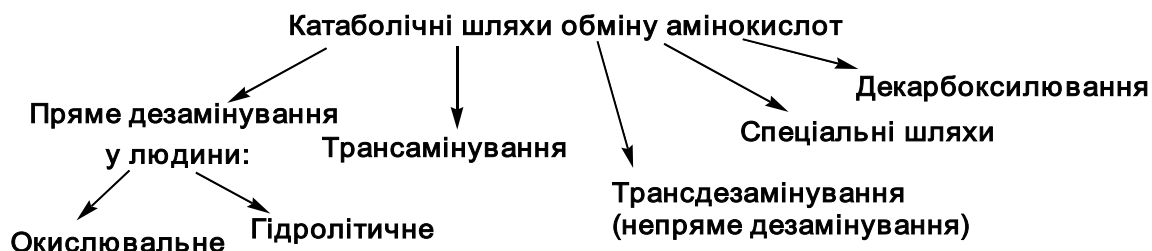
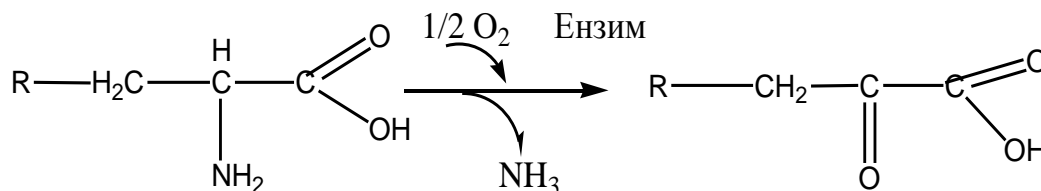


Рис. 22. Катаболічні шляхи обміну амінокислот в організмі людини

Дезамінування амінокислот

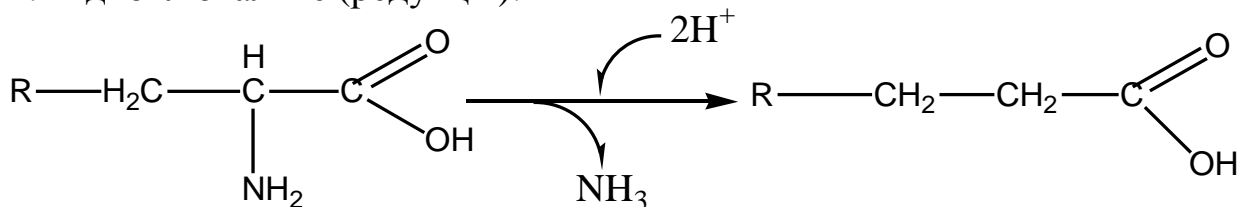
Дезамінування - це процес видалення аміногрупи зі структури амінокислоти з утворенням вільного аміаку. У живих організмах існує кілька видів дезамінування:

1. Окислювальне (локалізоване в мітохондріях)

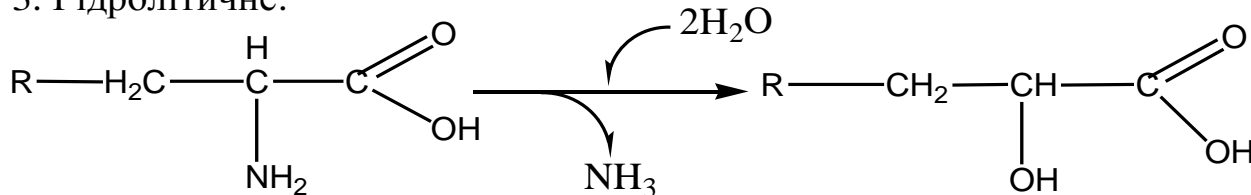


Ензим - дегідрогеназа або оксидаза

2. Відновлювальне (редукція):

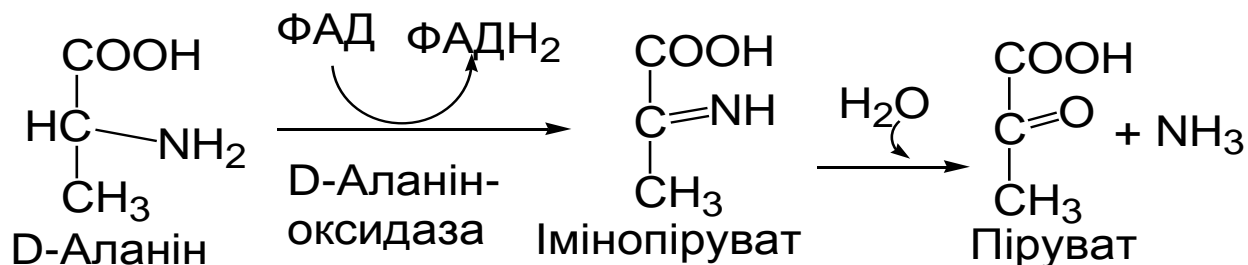


3. Гідролітичне:



Для організму людини характерним є окислювальне дезамінування. На першому етапі окислювального дезамінування за участю ферменту відбувається дегідрування амінокислоти з утворенням імінокислоти, яка дуже нестійка і в присутності води спонтанно (без участі ферменту) розкладається на альфа-кетокислоту та аміак.

У печінці та нирках виявлено ферменти - оксидази L- та D-амінокислот, які каталізують окислювальне дезамінування. Оксидази L-амінокислот у якості простетичної групи містять ФМН, а оксидази D-амінокислот - ФАД. Схематично процес окислювального дезамінування може бути представлений в наступному вигляді:

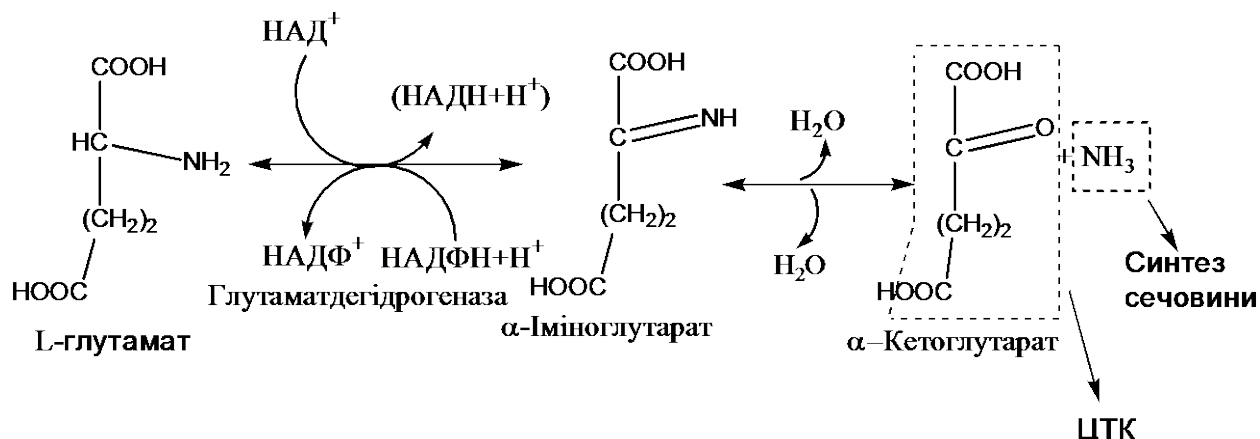


Оксидази L-амінокислот малоактивні при фізіологічних значеннях рН, (оптимум рН їх дії дорівнює 10), а в тканинах тварин і людини середовище з такими параметрами відсутнє.

Більшу активність мають оксидази D-амінокислот. Проте білки організму людини і тварин містять L-амінокислоти. D-амінокислоти знайдено у складі клітин рослин та мікроорганізмів, тому вони регулярно надходять до організму людини з продуктами харчування. Під дією оксидаз D-амінокислот ці амінокислоти перетворюються у відповідні α-кетокислоти. Отримані таким чином α-кетокислоти можуть перетворюватися завдяки трансамінуванню у відповідні L-амінокислоти, або окислюватися з вивільненням енергії.

Найбільш активним ферментом окислювального дезамінування в тканинах людини є глутаматдегідрогеназа, яка проявляє особливо високу активність в головному мозку і печінці. Глутаматдегідрогеназа представлена двома ізоферментами в клітині: НАД-залежним мітохондріальним (у

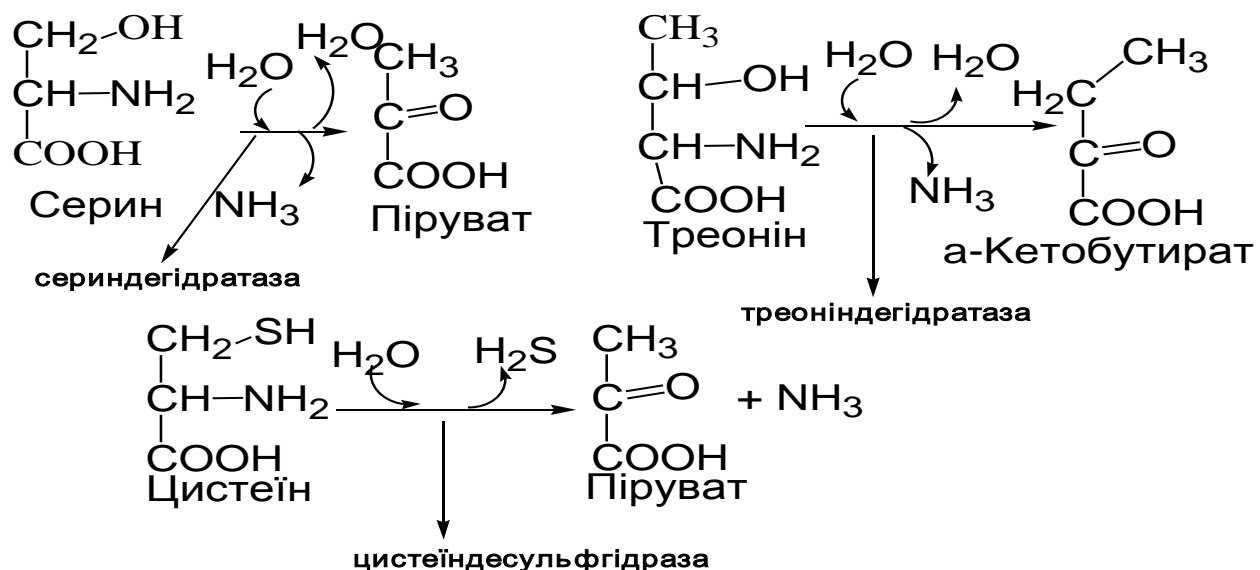
матриксі мітохондрій) та НАДФ-залежним цитоплазматичним. Реакція дезамінування L-глутамінової кислоти протікає в дві стадії і є оборотною:



У нервовій тканині зворотна реакція (відновне амінування α -кетоглутарата в L-глутамат) має виняткове значення, так як це основний шлях утилізації токсичного аміаку в головному мозку. Реакція проходить в цитозолі за участю цитоплазматичної НАДФ-залежною глутаматдегідрогенази.

Глутаматдегідрогеназа є алостеричним ферментом. Активність її стимулюється високими концентраціями АДФ та ГДФ, а інгібується при накопиченні в клітині АТФ, ГТФ та НАДН.

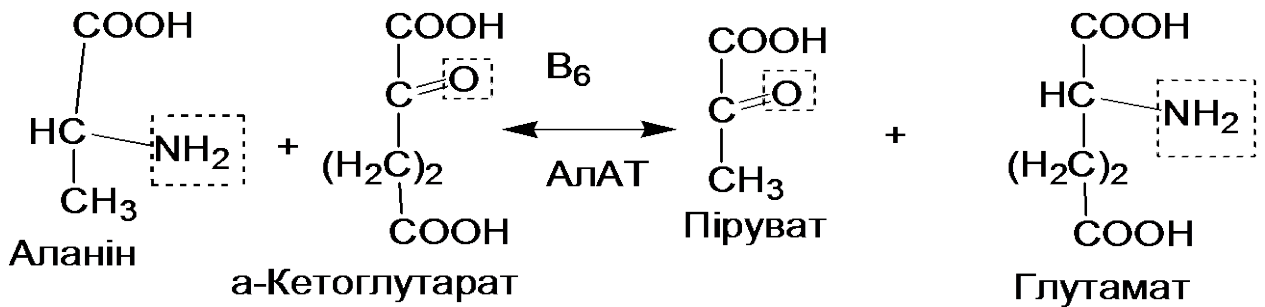
Для цистеїну, треоніну та серину можливе неокислювальне дезамінування. Ферменти, які каталізують ці реакції, у якості коферменту містять піридоксальфосфат:



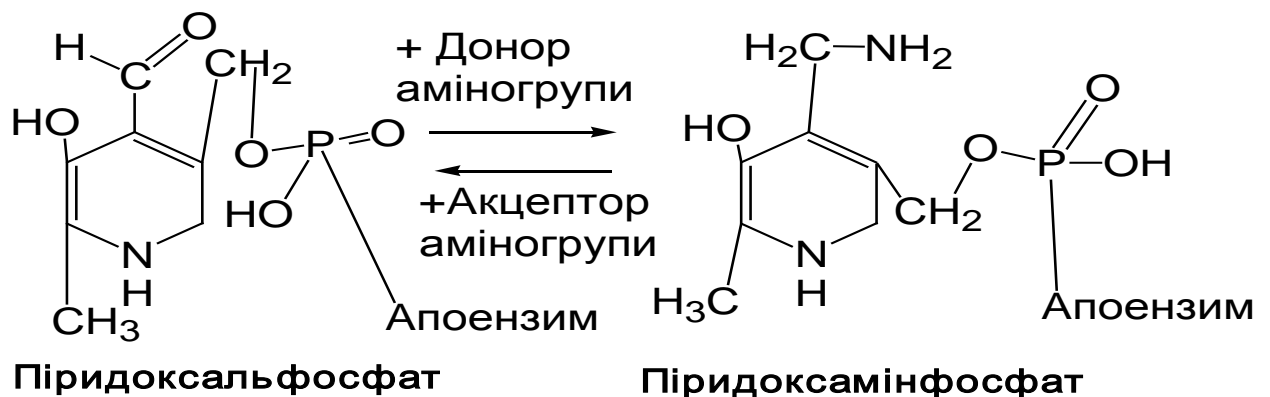
Реакції дезамінування дозволяють утворити з амінокислот кетокислоти, які включаються до загальних шляхів катаболізму, або можуть бути використані в гліюконеогенезі.

Трансамінування

Ця реакція був вперше була вивчена біохіміками О. Є. Браунштейном і М. Г. Кріцманом. Наприклад, реакція трансамінування аланіну каталізується аланінамінотрансферазою (АлАТ):



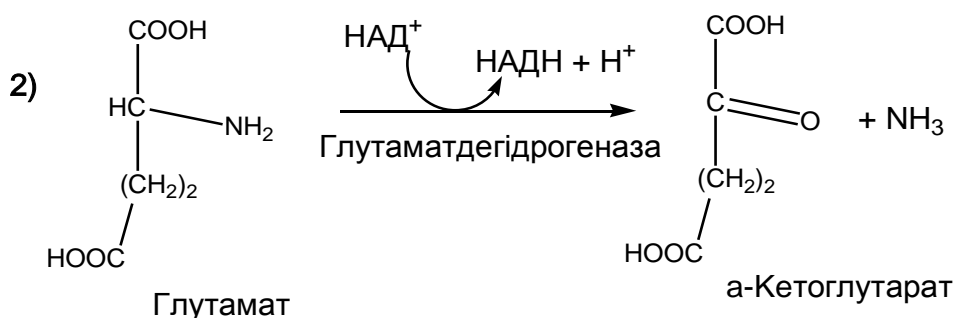
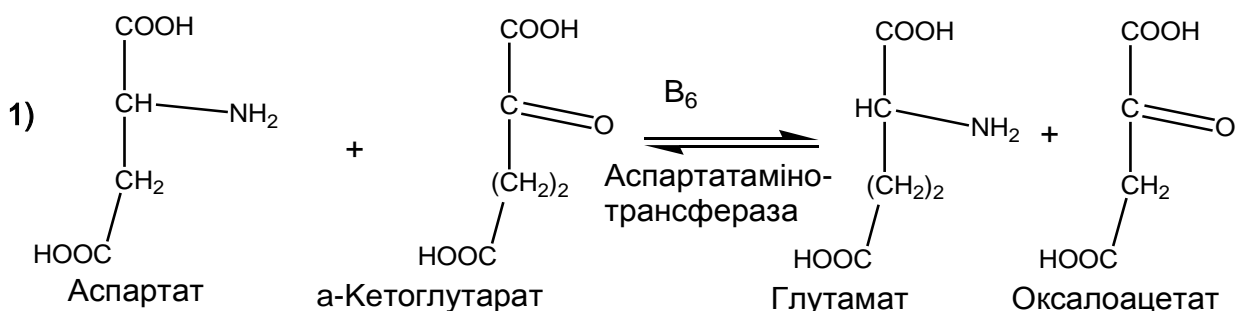
У процесі трансамінування відбувається перенесення аміногрупи амінокислоти на кетокислоту з утворенням нової амінокислоти і кетокислоти. Реакції трансамінування характерні для всіх амінокислот, за винятком лізину і треоніну. Ферменти, які каталізують даний тип реакцій, називають амінотрансферазами або трансаміназами. Вони проявляють групову специфічність. Коферментами амінотрансфераз є піридоксальфосфат (ПАЛФ) та піридоксамінфосфат (ПАМФ) - похідні вітаміну В₆. У механізмі реакції трансамінування відбувається взаємоперетворення даних коферментів через проміжні стадії утворення шиффових основ:



Реакції трансамінування відіграють важливу роль у метаболізмі амінокислот, так як вони використовуються:

- для утворення замінних амінокислот з відповідних альфа-кетокислот;
- у якості першої стадії процесу трансдезамінування (непрямого дезамінування) амінокислот, для яких неможливе пряме дезамінування; при цьому акцептором аміногрупи виступає переважно альфа-кетоглутарат.
- як шлях утворення кетокислот, необхідних для глюконеогенезу, циклу Кребса;
- як шлях розпаду амінокислот з метою отримання енергії для клітини.

Наприклад, нижче представлено рівняння двох стадій процесу трансдезамінування аспарагінової кислоти:



Визначення активностей аланін- та аспартатамінотрансфераз в сироватці крові служить важливим інструментом у діагностиці та оцінці результатів лікування інфаркту міокарда, гепатитів, у тому числі токсичних уражень печінки промисловими отрутами: хлороформом, чотирихлористим вуглецем тощо.

При інфаркті міокарда в 95% випадків активність аспартатамінотрансферази (АсАТ) у крові зростає вже через 4 години після виникнення гострого больового нападу. Активність АсАТ досягає максимуму

до 24-25 години і лише на 3-7 день знижується до нормального рівня. Підвищення активності АсАТ спостерігається навіть при таких формах інфаркту міокарда, які не діагностують за електрокардіограмою.

При хворобі Боткіна виникає гіперферментемія аланінамінотрансферази (АлАТ). Висока активність АлАТ проявляється ще до появи жовтяниці і тримається на високому рівні протягом перших 10-15 днів захворювання, після чого починає поступово знижуватися.

У діагностичних цілях доцільно визначати коефіцієнт де Рітіса:

$$\frac{[АсАТ]}{[АлАТ]}$$

Коефіцієнт де Рітіса = ----- = 1,33 ± 0,14

$$[АлАТ]$$

При захворюваннях печінки його значення менше одиниці; при інфаркті міокарда коефіцієнт зростає в три і більше разів.

На активність амінотрансфераз впливають гормони: інсулін підвищує їх активність, а кортикостероїди і глюкагон – зменшують. Норадреналін знижує активність амінотрансфераз навіть на тлі високих концентрацій вітаміну В₆ - попередника коферментів цих ферментів.

Шляхи метаболізму безнітрогенних залишків амінокислот в організмі людини

Після відщеплення аміногрупи безазотисті залишки усіх двадцяти амінокислот надалі можуть перетворюватися лише на п'ять продуктів: ацетил-КоА, α-кетоглутарат, сукциніл-КоА, фумарат, оксалоацетат, які потім вступають в цикл лимонної кислоти і підлягають аеробному окисленню з утворенням СО₂, Н₂О і виділенням енергії.

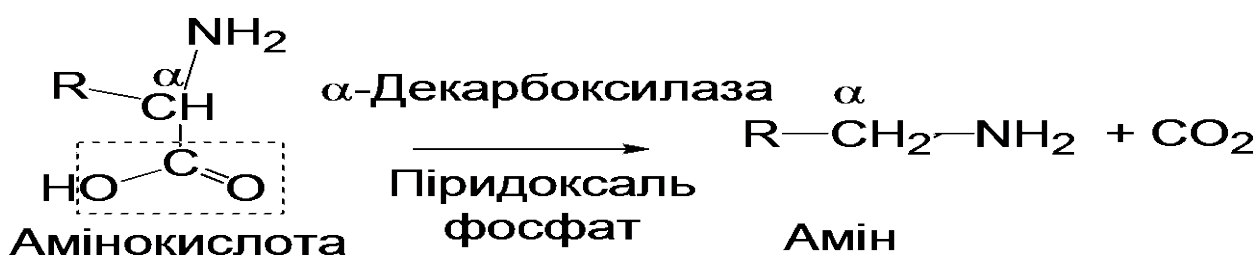
При цьому вуглецеві скелети 10 амінокислот, розпадаючись утворюють ацетил-КоА: п'ять з них (Ала, Глі, Сер, Тре, Цис) розщеплюються до ацетил-КоА через піруват, а інші п'ять (Фен, Тир, Трп, Ліз, Лей) - через ацетоацетил-КоА.

П'ять амінокислот (Арг, Гіс, Про, Глн, Глу) утворюють альфа-кетоглутарат; три (Іле, Вал, Мет) - сукциніл-КоА; дві (Асп, Асн) – оксалоацетат; дві інші (Фен, Тир) – фумарат.

П'ять амінокислот, які розщеплюються з утворенням ацетоацетил-КоА, називають кетогенними. У печінці вони можуть бути використані в якості попередників кетонних тіл. Інші 15 амінокислот, які розпадаються з утворенням пірувату, сукциніл-КоА, оксалоацетату, альфа-кетоглутарату відносяться до глюкогенних. Однак, чіткої межі між кетогенними і глюкогенними амінокислотами не існує, оскільки тирозин, фенілаланін, лейцин, триптофан, лізин належать одночасно як до одної так і до іншої групи. Істинно кетогенною амінокислотою являється тільки лейцин.

Декарбоксілювання амінокислот

Декарбоксілювання - це реакція видалення карбоксильної групи зі структури амінокислоти у вигляді діоксиду вуглецю CO_2 . α -Декарбоксілази містять кофермент піридоксальфосфат. Механізм реакції включає утворення шиффових основ при взаємодії піридоксальфосфату і амінокислоти з наступним відщепленням карбоксильної групи у вигляді CO_2 та утворенням органічного біогенного аміну. Рівновага реакції сильно зміщена вправо:



При декарбоксілюванні гістидину утворюється гістамін:



Гістамін має судинорозширювальний ефект на кровоносні судини, стимулює шлункову секрецію, приймає участь у розвитку запальних процесів і алергічних реакцій організму.

З глутамінової кислоти при α -декарбоксилюванні утворюється γ -аміномасляна кислота (ГАМК), яка є медіатором гальмування в ЦНС:

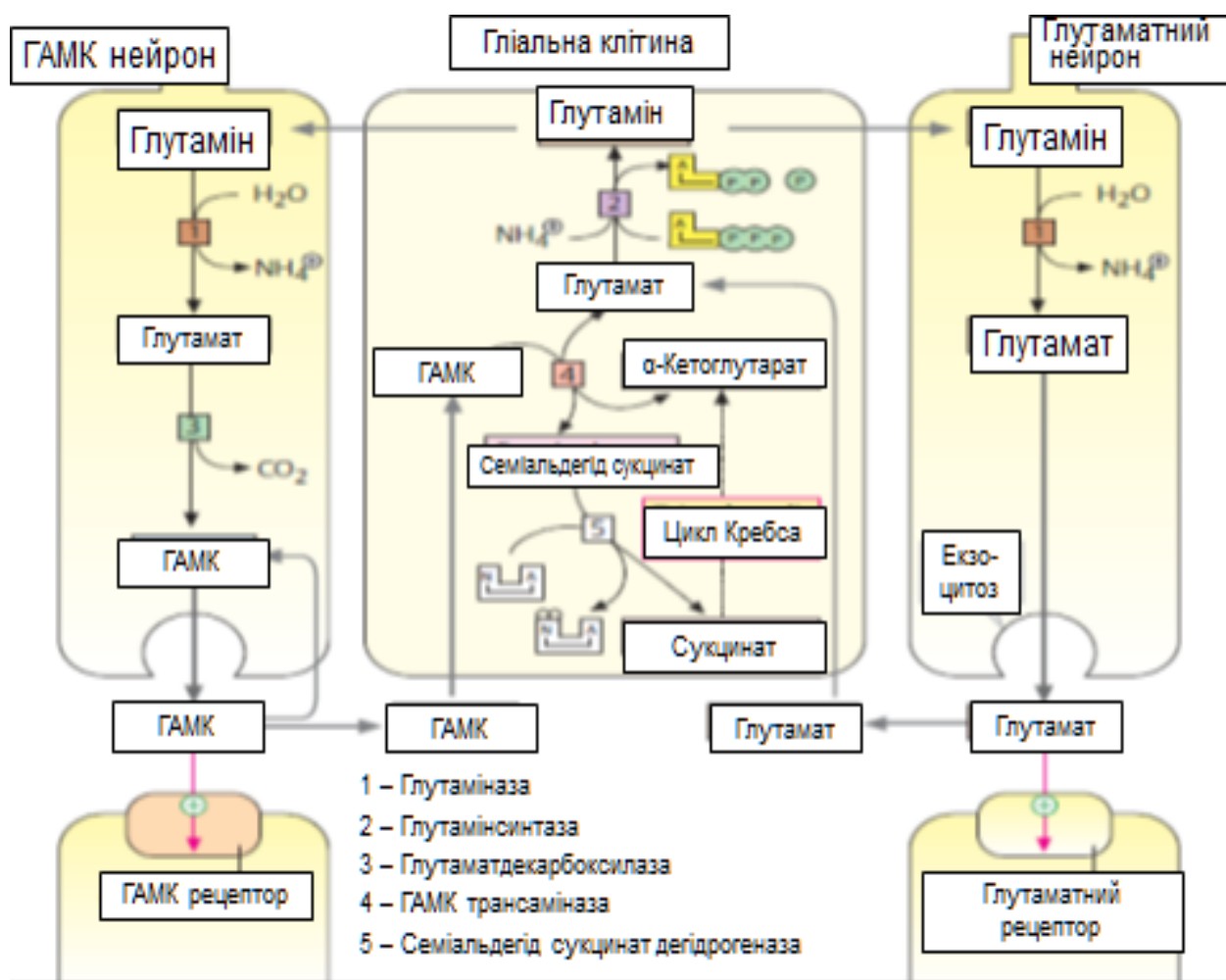


Рис. 23. Глутаматний та ГАМК-шунти

В обміні тирозину α -декарбоксилювання використовується для утворення в нервовій тканині нейромедіатора дофаміну. У мозковій речовині надниркових залоз дофамін служить попередником у синтезі гормонів-катехоламінів (адреналіну, норадреналіну), а в пігментних клітинах (меланоцитах) - попередником пігменту меланіну.

Декарбоксілювання 5-окситриптофану призводить до утворення серотоніну (5-окситриптаміну), який проявляє потужну судинозвужувальну дію, бере участь у регуляції артеріального тиску, регуляції швидкості клубочкової фільтрації, в стимуляції м'язового скорочення. В епіфізі серотонін перетворюється за рахунок ацетилювання та метилювання у мелатонін - гормон, що регулює біоритми людини. Пряме альфа-декарбоксілювання триптофану дає утворення триптаміну, який в ЦНС має функцію нейромедіатора.

Перетворення цистеїну на таурин включає реакцію декарбоксілювання. Таурин в печінці використовується у кон'югації з жовчними кислотами, а у нервовій системі виконує роль нейромедіатора.

Декарбоксілювання амінокислот при гнитті білків в товстому кишечнику під дією ферментів бактерій призводить до утворення токсичних амінів (з лізину утворюється кадаверин, з орнітину -путресцин, з валіну - ізобутиламін), які в подальшому знешкоджуються у печінці.

Детоксикація біогенних амінів пов'язана з їх окислювальним дезамінуванням під дією моноамінооксидаз (MAO). Ці ферменти виявлені майже у всіх тканинах людського організму. Їх поділяють на 2 типи: А і В. Наприклад, у нейронах і клітинах нейроглії присутні обидва типи, локалізовані ці ферменти у зовнішній мембрані мітохондрій. Серотонін, норадреналін, адреналін зазвичай розщеплюються під дією моноамінооксидази А, дофамін інактивується однаково успішно обома типами MAO.

Процес незворотній і протікає у дві стадії:

1) Анаеробна стадія:



2) Аеробна стадія:



Альдегіди, що утворюються у процесі знешкодження амінів, окислюються за участю альдегіддегідрогеназ до органічних кислот, які видаляються з організму переважно з сечею, а перекис водню далі розпадається на воду і кисень.

3.2. Спеціалізовані шляхи обміну амінокислот

Особливості обміну фенілаланіну та тирозину в організмі людини

Фенілаланін відноситься до незамінних амінокислот, і в тканинах здорової людини 90% фенілаланіну перетворюється на тирозин, завдяки дії ферменту фенілаланін-4-монооксигенази (друга назва ферменту - фенілаланін-гідроксилаза). Обидві амінокислоти організм людини застосовує головним чином у синтезі білків, але специфічні перетворення тирозину (рис. 24) мають велику цінність для нейроендокринної системи і формування ряду біологічних ознак людини.

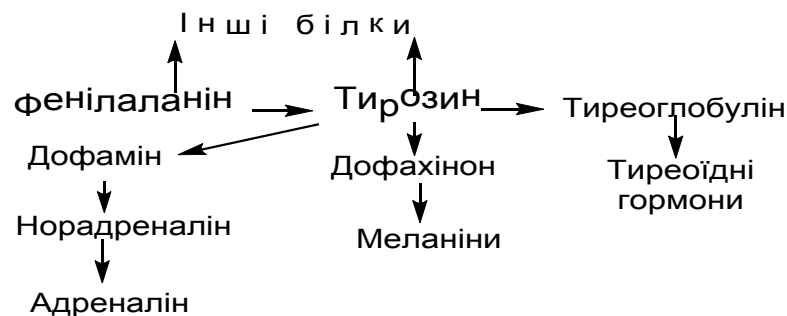


Рис. 24. Специфічні перетворення тирозину.

Гідроксилування тирозину під дією тетрагідробіоптерин-залежної гідроксилази надає продукт дігідроксифенілаланін (ДОФА), його α -декарбоксилування (потребує коферменту піридоксальфосфату – похідного вітаміну B₆) призводить до утворення в нервовій тканині нейромедіатора дофаміну.

У нейронах та у мозковій речовині надниркових залоз дофамін гідроксилується під дією L-аскорбат-залежної гідроксилази з утворенням

норадреналіну, який є субстратом для спеціальної метилтрансферази (донором метильної групи є S-аденозилметіонін).



* ---- Ферменти мають однакову небілкову частину - тетрагідробіоптерин.

Рис. 25. Утворення дофаміну з фенілаланіну та тирозину.

При порушенні синтезу фенілаланін-4-монооксигенази весь фенілаланін підлягає трансамінуванню з утворенням фенілпіровиноградної кислоти.

Гідроксилування ароматичних амінокислот вимагає наявності в структурі ферменту спеціального коферменту - тетрагідробіоптерину. У процесі гідроксилування цих амінокислот відбувається дегідування коферменту з утворенням дигідробіоптерину (рис. 26), регенерація якого можлива тільки за умови дії дигідробіоптеринредуктази, яка містить кофермент НАДФН:

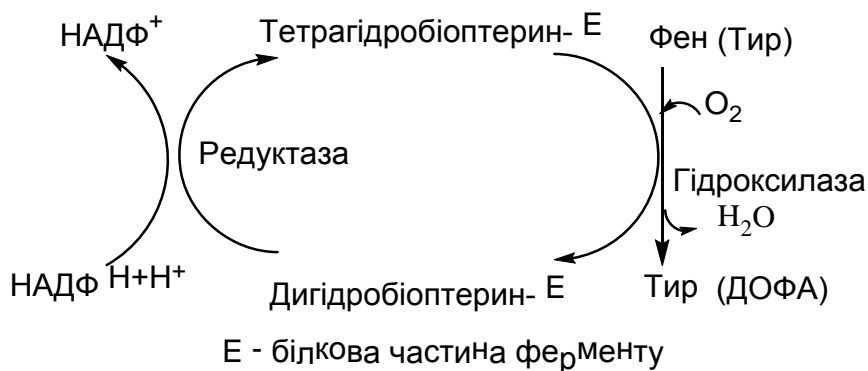


Рис. 26. Регенерація небілкової частини гідроксилази ароматичних амінокислот.

Генетичні ензимопатії обміну фенілаланіну поділяються на три групи:

- дефекти в структурі фенілаланін-4-монооксигенази (гіперфенілаланінемія I типу або класична фенілкетонурія);
- дефекти в структурі дигідробіоптеринредуктази (гіперфенілаланінемія II та III типів);
- дефекти ферментів синтезу дигідробіоптерину (гіперфенілаланінемія IV та V типів).

У разі вищевказаних порушень виникає накопичення фенілаланіну і фенілпіровиноградної кислоти, яка декарбоксилюється в фенілацетат, що після кон'югації з глютаміном виділяється з сечею у вигляді фенілацетилглютаміну. У зв'язку з гальмуванням перетворення фенілаланіну в тирозин виникають вторинні порушення в обміні тирозину. Наслідком цього є зменшення синтезу адреналіну, норадреналіну, дофаміну, меланіну у хворих.

Найбільш важкими формами гіперфенілаланінемії є тип I і II. Головними клінічними симптомами гіперфенілаланінемії типу I є розумова відсталість у дитини, що супроводжується психозом; появою екземи; сеча хворих має спеціальний запах (мишачий запах). Друга назва даної патології - фенілпіровиноградна олігофренія або фенілкетонурія. За характером успадкування це аутомно-рецесивне захворювання з високою частотою сімейних випадків (1:4000). Батьки хворих дітей є гетерозиготними носіями дефектного гена фенілаланін-4-монооксигенази. При виявленні випадків народження дітей з вищезазначеною патологією в роду, майбутні мати і батько перевіряються на наявність дефектного гена, або в пренатальному періоді розвитку дитини проводиться аналіз ДНК плоду для підтвердження діагнозу.

У пологових відділеннях визначення вмісту фенілаланіну в крові новонароджених у перші 1-3 дні життя (для визначення достатньо 20 мікролітрів крові) є скрінінг-тестом. Якщо вміст фенілаланіну в крові

новонародженого перевищує 40 мг/мл - це може бути важливою ознакою наявності патології. Накопичення фенілпіровиноградної кислоти (ФПК) у тканинах відбувається не так швидко, як фенілаланіну, тому тест з хлорним залізом на вміст ФПК в сечі може бути негативним у хворого новонародженого перші 1-3 дні. Тільки наприкінці першого тижня життя сеча хворої дитини дасть при додаванні розчину хлорного заліза характерне зелено-синє забарвлення у разі появи фенілпірувату в сечі дитини. В таблиці 5 представлені дані щодо вмісту фенілаланіну та фенілпіровиноградної кислоти у крові та сечі здорових дітей і хворих на фенілкетонурію. Вчасно виявлена патологія виліковна шляхом призначення спеціальної дієти, що містить білкові гідролізати, позбавлені фенілаланіну. Лікування триває до 6-7 річного віку.

Тирозин використовується для синтезу білків, утворення катехоламінів, тиреоїдних гормонів, меланіну та підлягає розпаду до CO_2 і H_2O . Початковим етапом метаболізму тирозину в печінці є його трансамінування з утворенням 4-гідроксифенілпірувату, який під дією специфічної мідь-вмісної оксидази підлягає окисленню до гомогентизинової кислоти.

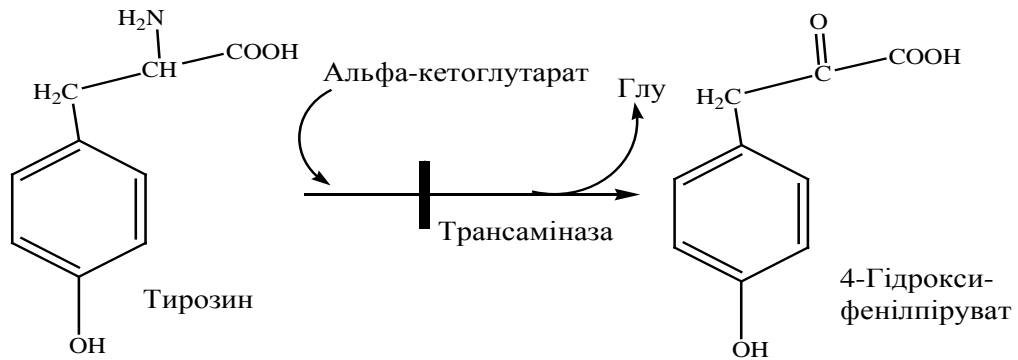
Таблиця 5. Діапазон вмісту фенілаланіну та фенілпіровиноградної кислоти в крові та сечі здорових та хворих пацієнтів

| Показник, одиниці | Здоровий пацієнт | | Хворий на фенілкетонурію | |
|------------------------|------------------|------|--------------------------|----------|
| | Плазма | Сеча | Плазма | Сеча |
| Фенілаланін, мг/100мл | 1-2 | 30 | 15-63 | 300-1000 |
| Фенілпіруват, мг/100мл | - | - | 0,3-1,8 | 300-1000 |

Для нормальної активності цієї оксидази необхідна аскорбінова кислота. 4-гідроксифенілпіруват включається в ряд перетворень (гідроксилювання, декарбоксілювання та внутрішньомолекулярне переміщення бічного ланцюга) з утворенням гомогентизинової кислоти. Окислення

гомогентизинової кислоти в малеїлацетооцтову кислоту каталізує фермент оксидаза гомогентизинової кислоти (рис. 27). Для функціонування цього ферменту необхідні катіони заліза Fe^{2+} і кофермент відновлений глутатіон. Малеїлацетоацетат при дії ізомераз перетворюється на фумарилацетоацетат, який далі підлягає гідролізу до фумарової та ацетооцтової кислот. Продукти, що утворюються, можуть окислюватися до CO_2 та H_2O або використовуватися для синтезу глюкози і жирних кислот. Щодо вказаного шляху перетворень в медичній літературі описано ряд генетичних порушень:

Тирозинемія типу II спостерігається у хворих з дефіцитом ферменту тирозинтрансaminaзи:



Неонатальна тирозинемія проявляється при генетичному дефекті ферменту 4-гідроксифенілпіруватоксидази:

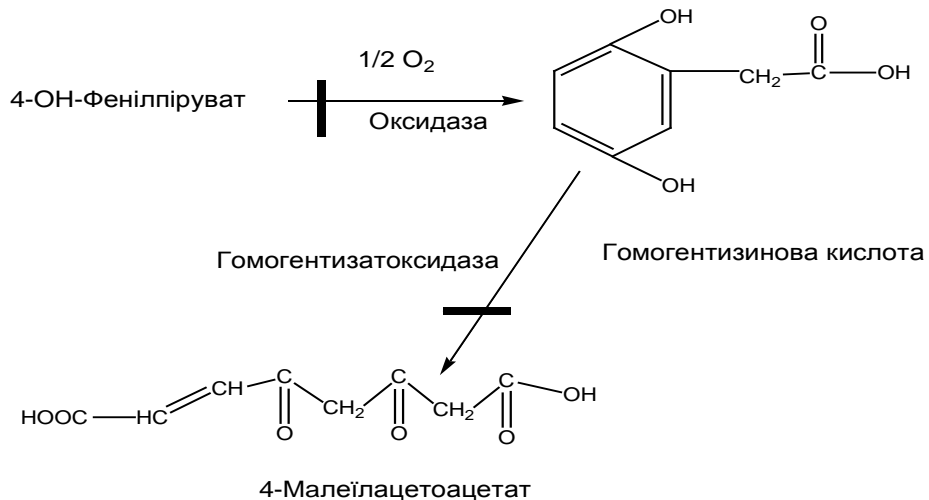


Рис. 27. Утворення та утилізація гомогентизинової кислоти.

Основними клінічними проявами тирозинемій у хворих є міастенія, відставання у фізичному розвитку. У крові цих пацієнтів зазвичай

визначаються підвищений рівень тирозину та знижена концентрація інших амінокислот. У сечі хворих присутня велика кількість пара-гідроксифенілмолочної, пара-оксифенілпіровиноградної та пара-гідроксифенілоцтової кислот.

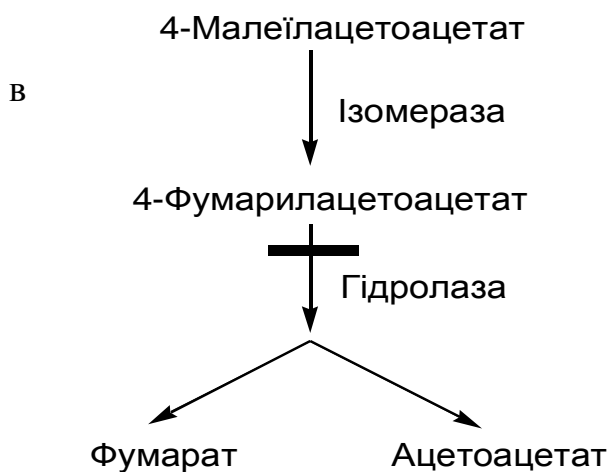


Рис. 28. Перетворення малеїлацетату фумарат та ацетоацетат.

Алкаптонурия спостерігається при дефіциті ферменту гомогентизатоксидази. У цьому випадку гомогентизинова кислота екскретується у великих кількостях із сечею дитини, під дією кисню повітря окислюється до алкаптона чорного кольору, тому сеча дитини має темне забарвлення. У разі відсутності лікування (призначається спеціальна дієта) у пацієнтів розвивається пігментація сполучних тканин. Гомогентизати накопичуються в тканинах хворого, викликають розвиток артриту, порушення клубочкової фільтрації у нирках.

Тирозинемія типу 1 спостерігається у разі дефекту фермента гідролази, що бере участь у перетворенні 4-фумарилацетоацетата.

Тирозин є також попередником пігментів - меланінів. У спеціальних клітинах – меланоцитах фермент тирозиназа окислює тирозин в ДОФА та дофахінони. У результаті дисмутації 2 молекул дофахінона неферментативно утворюється гала-хром. При декарбоксілюванні гала-хрому утворюється індол-5,6-хінон, який спонтанно перетворюється на меланін. Меланіни представляють собою групу полімерів з неврегульованою структурою, яка забезпечує пігментацію шкіри, очей, волосся.

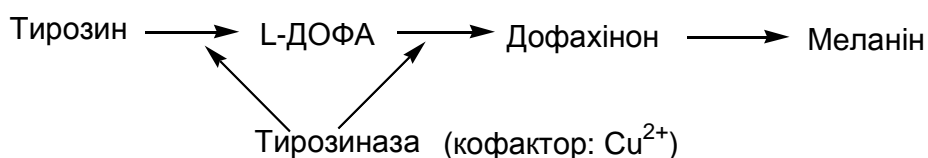


Рис. 29. Шлях утворення пігментів-меланінів з тирозину.

У випадку відсутності тирозинази в меланоцитах виникає захворювання *альбінізм*. Розрізняють повний і частковий альбінізм. При повному альбінізмі в організмі відзначається повна відсутність меланіну. Волосся на голові, брови, вії, волосся на тілі у хворих білі, шкіра біло-рожева або жовтуватого забарвлення, що обумовлене жовтуватим кольором рогового шару епідермісу. Очі рожево-червоні із-за просвічування кровоносних судин крізь очні оболонки через відсутність пігменту. У разі часткового альбінізму в шкірі деяких частин тіла пігмент меланін присутній.

Ще одним шляхом метаболізму тирозину є його використання в біосинтезі гормонів щитовидної залози. Але для цього застосовується не вільний тирозин, а його бічні радикали в складі білка тиреоглобуліну. Вони підлягають йодуванню, кон'югації та гідролітичному відщепленню у вигляді вільних трийодтироніну і тироксину.

Більшість ферментів зазначених перетворень контролює тиреотропний гормон, що секретується аденогіпофізом (рис. 30).

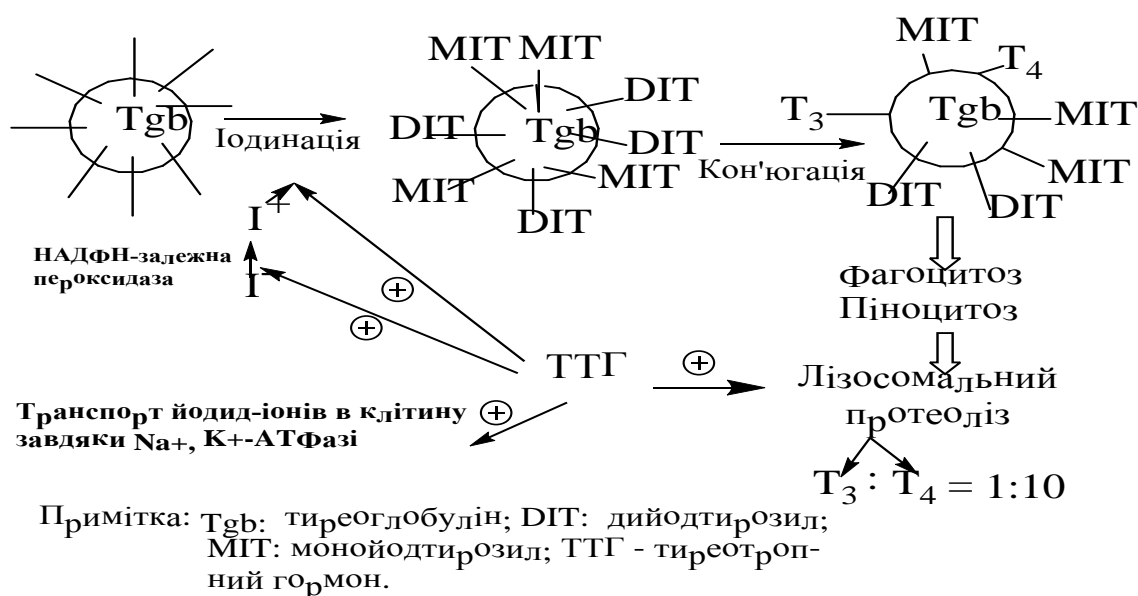


Рис. 30. Утворення трийодтироніну (T₃) та тироксину (T₄) з залишків тирозину у складі тиреоглобуліну.

Обмін триптофану в організмі людини

Триптофан, як і фенілаланін, є незамінною амінокислотою. Його розпад в організмі здійснюється двома шляхами: кінуреніновим (~ 95%) та серотоніновим (~ 1%), хоча існує ще й третій шлях, пов'язаний з утворенням триптаміну та індолілоцтової кислоти (рис. 31).

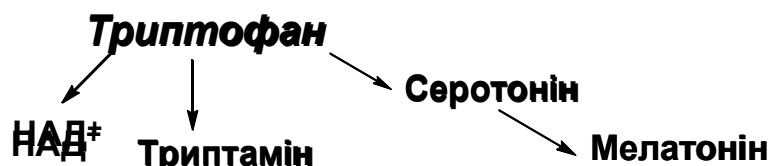
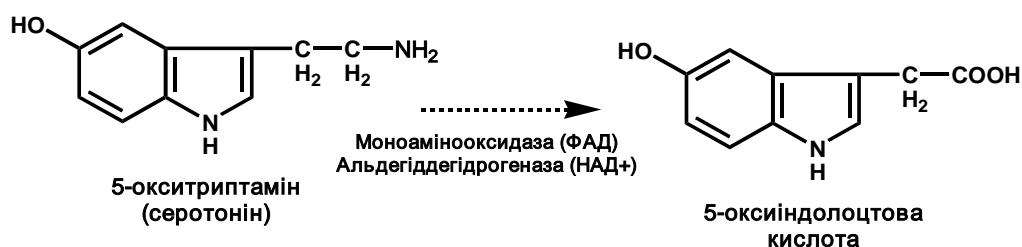


Рис. 31. Схема специфічних шляхів використання триптофану

Серотоніновий шлях триптофану включає його гідроксилювання з утворенням 5-гідрокситриптофану, який при альфа-декарбоксілюванні перетворюється на серотонін. Серотонін проявляє потужну судинозвужувальну дію, бере участь у регуляції артеріального тиску, регуляції швидкості клубочкової фільтрації, в стимуляції м'язового скорочення. В епіфізі серотонін перетворюється за рахунок ацетилювання та метилювання у мелатонін - гормон, що регулює біоритми людини. Пряме альфа-декарбоксілювання триптофану надає продукт триптамін, який в ЦНС виконує функцію нейромедіатора.

В епіфізі серотонін кон'югується з ацетил-КоА при дії ацетилтрансферази з утворенням N-ацетилсеротоніну, він є субстратом метилтрансферази, яка перетворює його у гормон мелатонін (рис. 32). Слід зазначити, що утворення мелатоніну можливе в інших тканинах людини теж, але в них мелатонін виконує функції природного антиоксиданта.

Катаболізм серотоніну починається під дією MAO з утворенням 5-оксиіндолілоцтового альдегіду, який окислюється до 5-оксиіндолілоцтової кислоти, вона екскретується з організму з сечею:



У хворих зі злоякісною карциномою кишечника вміст цієї речовини в сечі різко підвищений.

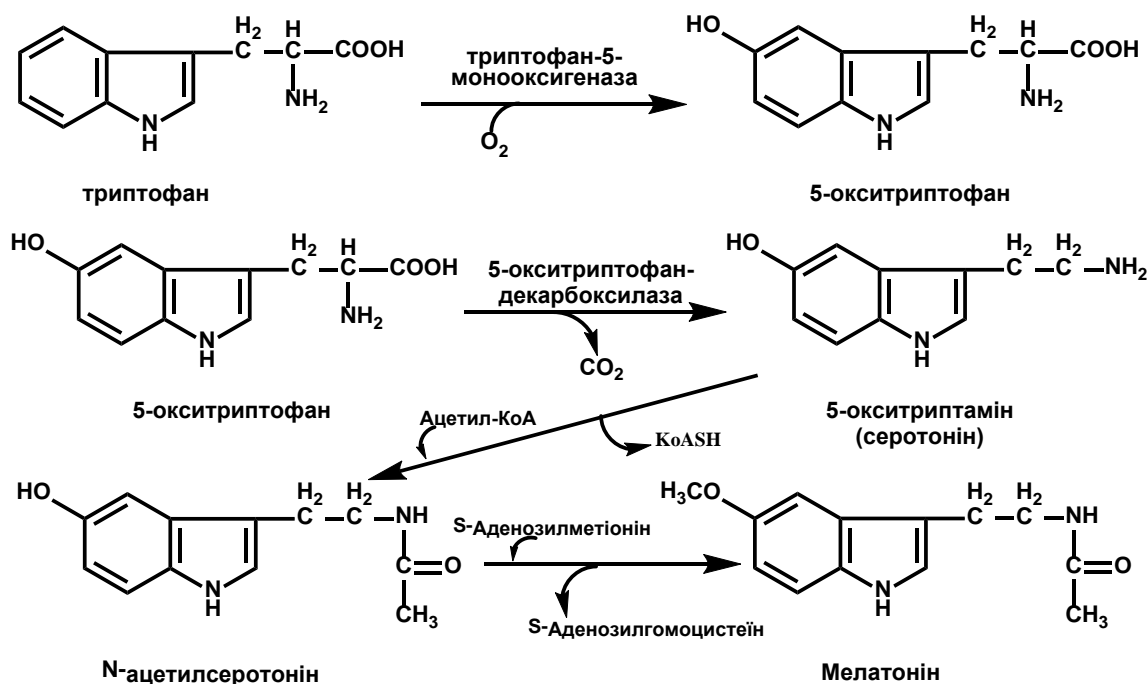


Рис. 32. Специфічні перетворення триптофану в нейронах та в епіфізі.

Кінуреніновий шлях розпаду триптофану починається з його окислення в печінці під впливом триптофан-2,3-діоксигенази до формілкінуреніну. Формілкінуренін руйнується в ланцюзі послідовних ферментативних перетворень з утворенням проміжних продуктів, які можуть бути використані для синтезу НАД⁺, зменшуючи при цьому потреби організму в вітаміні РР (нікотинамід).

Третій шлях катаболізму триптофану призводить до утворення індолілоцтової кислоти, яка виділяється з сечею у вигляді індолілацетурової кислоти - продукту кон'югації індолілоцтової кислоти з гліцином. Мікроорганізми товстого кишечника можуть розщеплювати індолілоцтову кислоту з утворенням скатолу, скатоксилу, індолу та індоксилу, які виявляють токсичну дію на організм. Ці продукти частково всмоктуються з товстого кишечника в кров, знешкоджуються в печінці, продукт знешкодження (індікан) виводиться із сечею.

Хвороба Хартнупа

Ця хвороба пов'язана з накопиченням амінокислоти триптофану у сечі пацієнтів зі зменшенням її концентрації у плазмі крові. У пацієнтів є дефектним ген, який містить інформацію про структуру транспортної системи реабсорбції цієї амінокислоти у нирках. Результатом цього є виведення надмірної кількості амінокислоти триптофану з сечею. Якщо занадто мало триптофану в крові, організм не в змозі виробляти достатню кількість НАД⁺, особливо в умовах стресу, коли підвищується потреба у вітаміні РР.

За допомогою хроматографії в сечі пацієнтів з хворобою Хартнупа виявляються підвищені рівні нейтральних амінокислот (наприклад, глютамін, валін, фенілаланін, лейцин, аспарагін, цитрулін, ізолейцин, треонін, аланін, серин, гістидин, тирозин, триптофан) та індікану. Підвищений вміст індікану у сечі можна перевірити за допомогою тесту Обермейера.

Обмін триптофану знаходиться в тісній залежності від забезпеченості організму вітаміном В₆. Це обумовлено тим, що багато ключових ферментів катаболізму триптофану містять активну форму цього вітаміну у якості кофактора. При недостатньому надходженні вітаміну В₆ з їжею, порушенні його всмоктування або при посиленому виведенні (стрес, гіпертонія, вагітність) виникають порушення в обміні триптофану. Відхилення у метаболізмі цієї амінокислоти виявляються вже на ранніх стадіях дефіциту вітаміну В₆.

Обмін лейцину, ізолейцину та валіну в організмі людини.

Хвороба «кленового сиропу»

Вищевказані амінокислоти є незамінними і, головним чином, застосовуються у синтезі поліпептидів, білків, проте їх катаболічний шлях має деякі особливості перебігу. Завдяки трансамінуванню їх вуглецевий скелет зберігається у складі 2-кетозокапронової, 2-кето-3-метил-валеріанової та 2-кетозовалеріанової кислот відповідно, які є субстратами дегідрогенази

альфа-кетокислот з розгалуженим бічним радикалом (за типом ця реакція відноситься до окисного декарбоксілювання (рис. 33).

Дегідрогеназа альфа-кетокислот з розгалуженим бічним радикалом є мультиферментним комплексом, який складається з трьох білків: E1 (містить альфа і бета субодиниці; ТПФ-кофермент E1-бета-субодиниці), E2, E3. В результаті дії цього мультиферментного комплексу з кожної кетокислоти утворюється відповідний ацил-КоА, який надходить в процес β -окислення вищих жирних кислот, де утворюються кінцеві продукти: ацетил-КоА, чи сукциніл-КоА – метаболіти циклу Кребса. При порушенні функції дегідрогенази альфа-кетокислот з розгалуженим бічним радикалом виникає хвороба «кленового сиропу».

Причини розвитку хвороби «кленового сиропу»

Частота виникнення хвороби «кленового сиропу» 1:185000. Виділяють наступні клініко-генетичні форми хвороби кленового сиропу:

- класична, або неонатальна (найбільш поширена)
- проміжна
- інтермітуюча
- тіамін-залежна
- обумовлена дефіцитом E3-протеїна, вона супроводжується лактатним ацидозом (мітохондріальне захворювання).

Головною причиною розвитку класичної форми хвороби є генетичне порушення, яке викликає дефіцит дегідрогенази альфа-кетокислот з розгалуженим бічним радикалом. В тканинах хворого накопичуються 2-кетозокапронова, 2-кетоз-3-метил-валеріанова та 2-кетозовалеріанова кислоти. У плазмі крові збільшується концентрація, у першу чергу, лейцину (друга назва захворювання «лейциноз»), в меншій мірі валіну та ізолейцину при одночасному зниженні концентрації Ала, Глі, Глн, Тир, Трп. Патогенез наведеного захворювання пов'язаний з порушеннями, які проявляються у вигляді кетоацидозу, гіпонатріємії, набряків і розвинення атрофії головного мозку, вторинної гіперамоніємії, гіпоглікемії. Відбувається зниження

швидкості глюконеогенезу, мітохондріальних процесів, зокрема окисного фосфорилування.

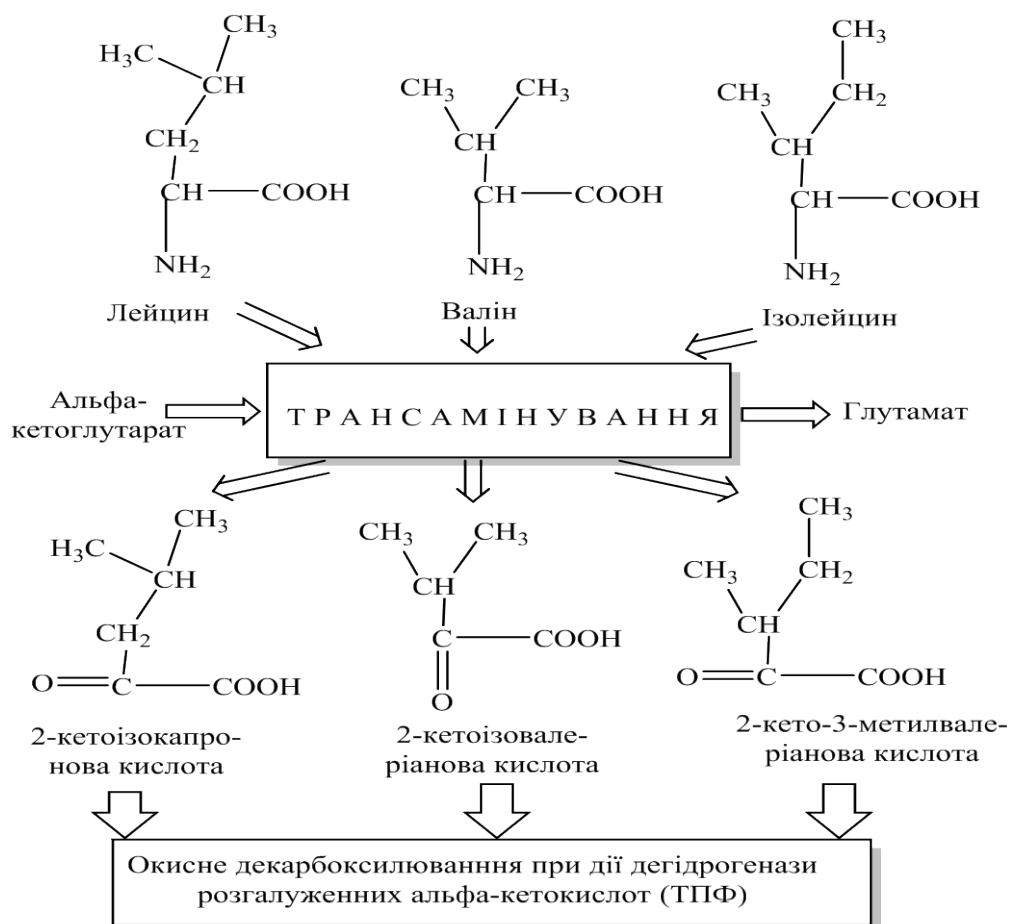


Рис. 33. Включення лейцину, ізолейцину та валіну у катаболізм.

При захворюванні, яке пов'язане з дефектом E3-протеїну дугідрогенази, патогенез більш складний. Зазначена субодиниця комплексу є компонентом декількох мультиферментних комплексів: дегідрогенази кетокислот з розгалуженим ланцюгом, піруватдегідрогеназного комплексу і α -кетоглутаратдегідрогеназного комплексу, які беруть участь у метаболізмі пірувату і функціонуванні циклу Кребса. Наслідком порушення дії цих комплексів є розлади клітинної біоенергетики та лактатний ацидоз, тому даний варіант хвороби зазвичай класифікують як мітохондріальне захворювання.

Діагностика хвороби «кленового сиропу»

Всі малюки з обтяженим сімейним анамнезом, а також новонароджені, у яких після періоду задовільного стану проявилися типові симптоми захворювання, такі як відмова від їжі, блювота, судоми, патологічне збудження або летаргія, атаксія, кома, ацидоз, повинні проходити обстеження на лейциноз. При постановці діагнозу проводиться ретельне вивчення анамнезу та скарг батьків, загальний огляд дитини з визначенням м'язового тону і ваги, оцінкою рухової активності.

Розлади в обміні речовин у період кризи хвороби характеризуються ацидозом, кетоацидозом, високим вмістом молочної кислоти в крові, гіпоглікемією. У крові і сечі накопичуються амінокислоти з розгалуженим ланцюгом - лейцин (більшою мірою), ізолейцин, валін, а також алоізолейцин, який є діагностичним маркером захворювання. Із сечею виводяться 2-кетозокапронова, 2-оксо-ізокапронова, 2-кетозовалеріанова, 2-кетоз-3-метилвалеріанова, 2-гідрокси-3-метил-п-валеріанова та інші органічні кислоти. Присутність в сечі цих похідних обумовлює незвичайний запах подібний запаху кленового сиропу. Ці кислоти обумовлюють також позитивну пробу з реактивом Фелінга або з 2,4-дінітрофенілгідразіном. У крові хворих виявляється знижений вміст аланіну, гліцину, може спостерігатися гіпонатріємія. Активність ключового ферменту (дегідрогеназа кетокислот з розгалуженим радикалом) в лейкоцитах та фібробластах при класичній формі хвороби складає менше 2% від нормальних значень, при інтермітуючій, проміжній і тіамін-залежній формах - 5-20%, 3-30% і близько 40 % від норми відповідно. У випадку захворювання, зумовленого дефіцитом E3-протеїну, перші ознаки зазвичай з'являються у віці старше 8 тижнів: прогресуюче відставання психомоторного розвитку, блювота, гіпотонія/дистонія, порушення дихання. У дитини виявляється метаболічний ацидоз, підвищення в крові рівня лактату, пірувату, α -кетоглутарової кислоти, лейцину, ізолейцину, валіну, спостерігається періодична гіпоглікемія.

При інтермітуючому типі патології напади супроводжуються виникненням атаксії мозочка, в цьому випадку у хворого порушується хода і координація рухів. Проміжний лейциноз протікає важче. Пароксизми не мають чітких часових меж і відрізняються хвилеподібним наростанням і затиханням. Такі малюки відстають у розвитку, страждають від атаксії, судом і м'язової гіпотонії, пізно освоюють ходьбу і мову.

Тіамін-залежний тип захворювання може проявлятися легким або помірним ступенем вираженості симптомів. У перебігу захворювання домінують ознаки: порушення ходи і координації рухів, м'язовий тонус знижений, іноді розвиваються судоми. У хворих з ЕЗ-залежною формою виявляється прогресуюче відставання моторного та психічного розвитку, блювота, м'язовий гіпотонус, розлад дихання. Періодично виявляється гіпоглікемія, що супроводжується апатією, слабкістю, запамороченнями, підвищеною сонливістю.

Лікування хвороби «кленового сиропу»

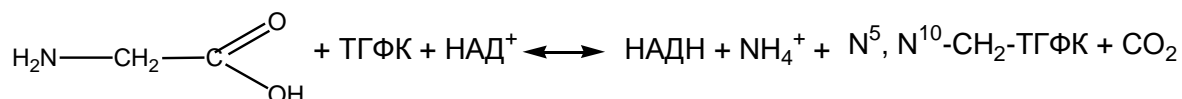
Лікування хвороби кленового сиропу спрямоване на:

- пригнічення утворення токсичних метаболітів-кетокислот;
- активацію процесів анаболізму, зі застосуванням лейцину, валіну та ізолейцину;
- зменшення швидкості формування кетоацидозу;
- попередження виникнення набряку мозку і ураження внутрішніх органів.

Для нормалізації стану хворого призначається дієта, яка заснована на заміні білкової їжі білковими гідролізатами, що не містять валіну, ізолейцину та лейцину. У терапевтичних цілях таким малюкам показано проведення кофакторної терапії, заснованої на введенні в організм препаратів тіаміну і левокарнітину. Також всім хворим призначається симптоматична терапія, яка спрямована на купірування симптомів хвороби. З цією метою малюкам призначається введення вітамінів групи В, антиконвульсантів, протиблювотних засобів і ноотропів.

Обмін гліцину в організмі людини

Гліцин відноситься до замінних амінокислот. Він може утворюватися з треоніну під дією треонінальдолази, з серину - під дією сериноксиметилтрансферази, коферментом якої служить тетрагідрофолієва кислота (ТГФК). Специфічним шляхом утворення гліцину є розпад холіну з утворенням проміжних метаболітів: бетаїнальдегіда, бетаїну, диметилгліцину, саркозину. Основним катаболічним шляхом метаболізму гліцину є його окисне розщеплення до CO_2 , NH_3 і метиленової групи, яка приєднується до тетрагідрофолату. Реакція зворотна і каталізується гліцинсинтетазою:



Біологічне значення цієї реакції полягає в утворенні активного одноуглецевого фрагменту $\text{N}^5, \text{N}^{10}\text{-CH}_2\text{-ТГФК}$, який використовується в синтезі дезоксцитимідилової кислоти, пуринових нуклеотидів, в обміні метіоніну тощо (рис. 34). Іншим катаболічним шляхом перетворення гліцину є його дезамінування під дією гліциноксидази з утворенням гліоксилової кислоти. Гліоксилова кислота в тканинах декарбоксілюється з утворенням мурашиної кислоти або оксалату. Цей шлях перетворень порушується при вродженому захворюванні - первинній гіпероксалурії. Відомі два типи первинної гіпероксалурії. Гіпероксалурія I типу обумовлена генетично детермінованою недостатністю ферменту кетоглутарат-гліоксілат-карболігази, яка, застосовуючи тіамініпрофосфат, каталізує реакцію зв'язування гліоксилової кислоти з альфа-кетоглутаровою кислотою. Гліоксилова кислота, яка накопичується в організмі, під впливом лактатдегідрогенази легко перетворюється в щавлеву кислоту, що веде до підвищеної екскреції з сечею оксалату кальцію і гліоксілату.

Гіпероксалурія II типу (d-гліцерінова ацидурія) спостерігається при відсутності D-гліцератдегідрогенази (КФ 1.1.1. 29), що забезпечує перетворення гліоксілата в гліколат в присутності піридоксаль-5-фосфату

(активної форми вітаміну В₆). У сечі, окрім оксалату кальцію, у великій кількості можна знайти D-гліцеринуву кислоту.

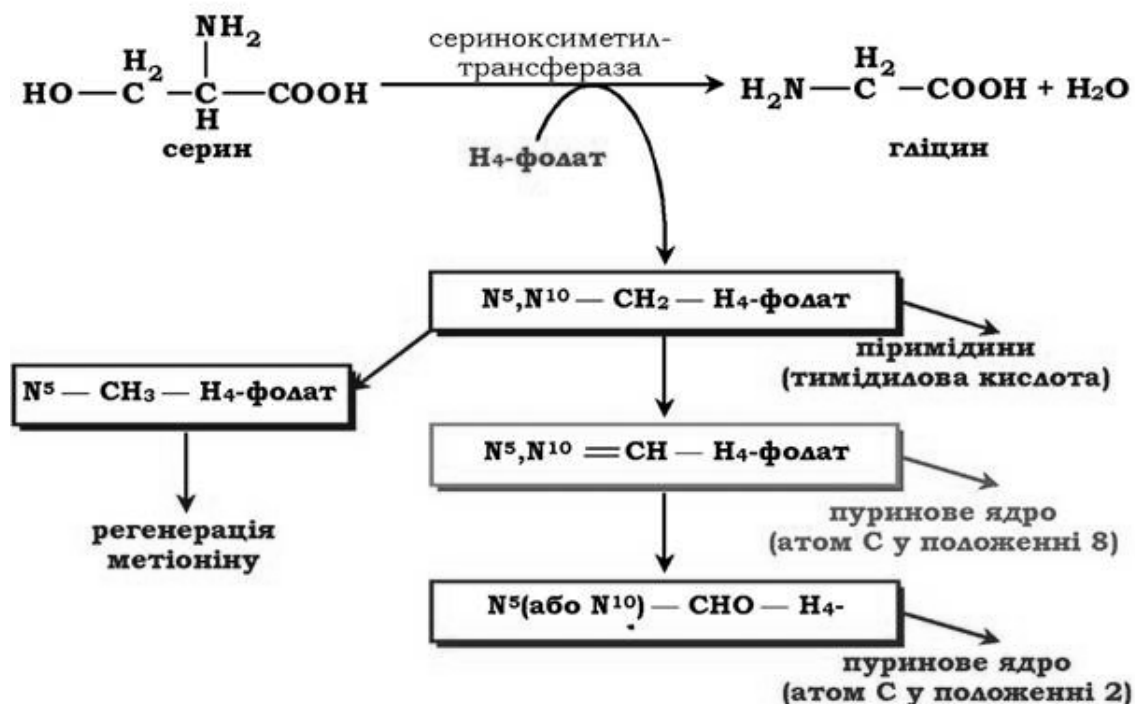


Рис. 34. Значення серинноксиметилтрансферази

Крім перерахованих шляхів метаболізму, в печінці гліцин бере участь в утворенні жовчних парних кислот; процесі знешкодження бензойної кислоти та інших органічних сполук до гіпурової кислоти (рис. 35):

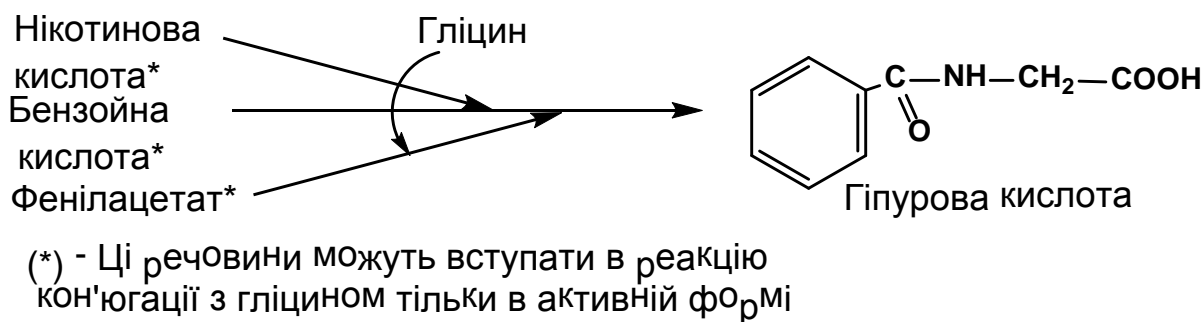


Рис. 35. Участь гліцину в кон'югації деяких ендогенних метаболітів.

У медичній практиці для оцінки детоксикаційної функції печінки використовують пробу Квіка (визначення вмісту гіпурової кислоти в сечі

пацієнта при навантаженні бензоатом натрію). Суть даного тесту: 3-4 г бензоату натрію одноразовою дозою призначається хворому для прийому *per os*. Через 3 години після прийому препарату хворий здає аналіз сечі, в якій визначають вміст гіпурової кислоти. Якщо вміст гіпурової кислоти в сечі становить 65%-85% від початкової маси бензоату натрію, призначеного *per os*, то це є свідченням нормальної знешкоджувальної функції печінки пацієнта.

Гліцин є субстратом ключового ферменту синтезу гему - δ-амінолевулінатсинтази (теж піридоксальфосфат-залежний фермент). Оскільки для гліцину можливе оборотне перетворення в серин, який при гідролітичному дезамінуванні перетворюється в піруват, обмін гліцину тісно пов'язаний з обміном вуглеводів та ліпідів.

Особливості обміну метіоніну та цистеїну в організмі людини

Метіонін є незамінною амінокислотою і його шляхи обміну (рис. 36) мають тісні взаємозв'язки з:

- обміном фосфоліпідів (синтез лецитину);
- обміном цистеїну, який утворюється з метіоніну;
- обміном креатину (переважно в м'язовій та нервовій тканинах);
- обміном катехоламінів (синтез адреналіну).

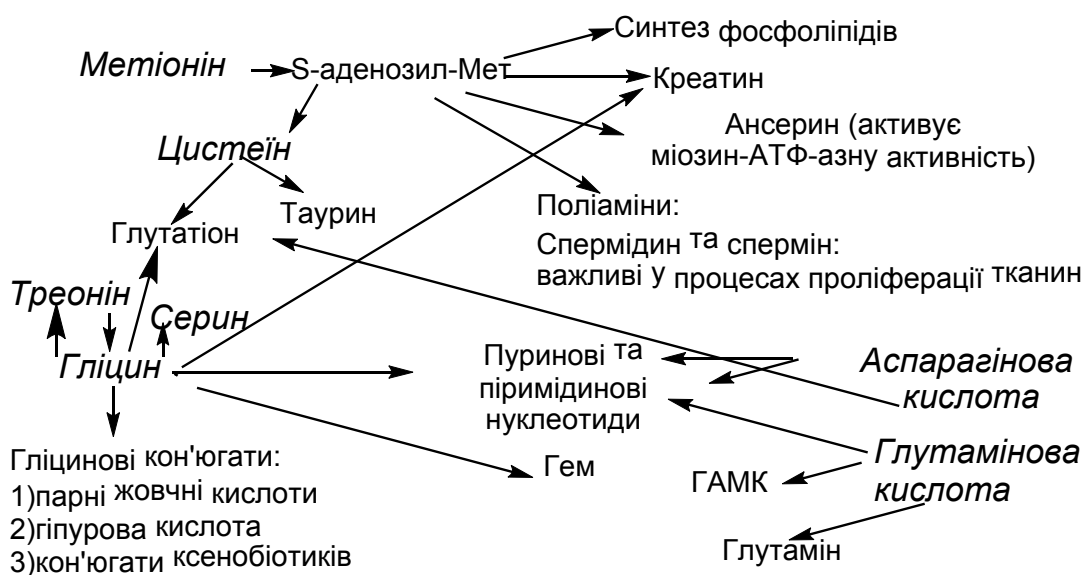
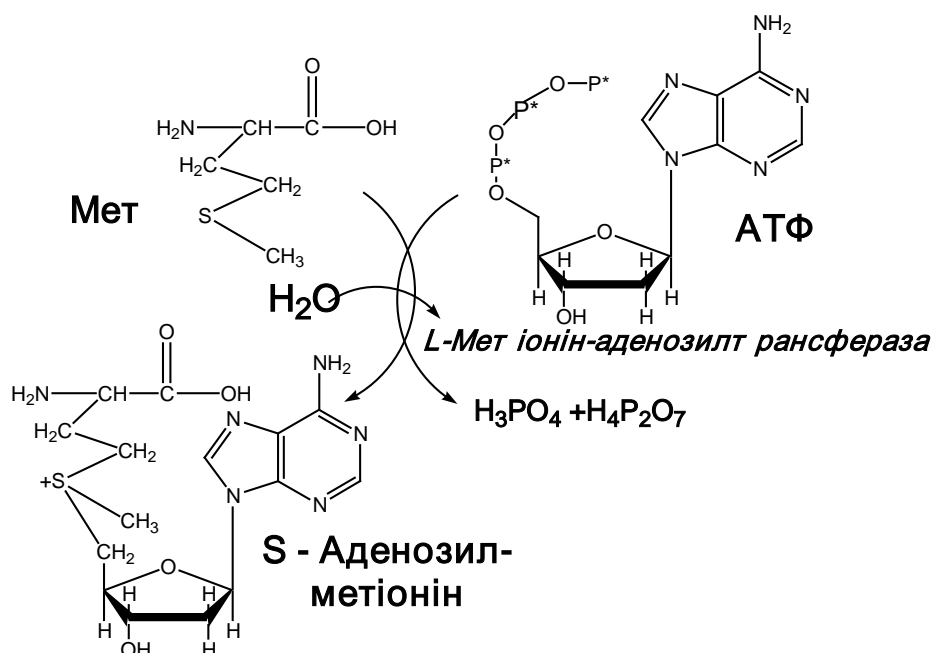


Рис. 36. Деякі метаболічні шляхи метіоніну, цистеїну, гліцину.

Синтез біологічних модюляторів процесів проліферації тканин сперміну та спермідину безпосередньо залежить від концентрації метіоніну, що надходить з продуктами харчування. Всі хімічні перетворення метіоніну в клітині вимагають наявності його активної форми, тому перехід вільного метіоніну в S-аденозилметіонін є найбільш важливою реакцією для метіоніну:



У реакціях трансметилування S-аденозилметіонін є донором метильної групи, яка слабо, у порівнянні з іншими фрагментами структури, приєднана до атома сірки. Нижче наведена схема перетворень (рис. 37), яка пояснює використання S-аденозилметіоніну в трансметилуванні з подальшою його трансформацією в цистеїн та альфа-кетобутират; останній, у свою чергу, руйнується до пропіоніл-КоА:

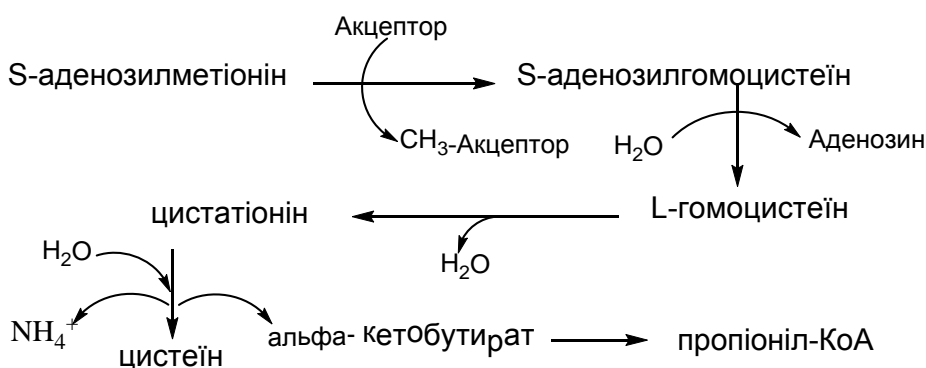


Рис. 37. Утворення цистеїну з активної форми метіоніну.

S-Аденозилметіонін, гліцин та аргінін беруть участь у синтезі органічної сполуки - креатину (за вмістом 85% синтезується в печінці, інші 15% - у нирковій тканині). Креатин транспортується через кровотік, головним чином, у м'язову тканину, проте близько 10% синтезованого креатину використовується головним мозком і нирками. Креатин розглядають як вихідний субстрат для утворення креатинфосфату в мітохондріях, який потім використовується креатинфосфокіназою цитоплазми для синтезу АТФ шляхом субстратного фосфорилування. Для м'язової тканини дане перетворення має важливу роль у разі інтенсивного тривалого фізичного навантаження на м'язи. При цьому частина креатину в цитоплазмі перетворюється на креатинін (рис. 38) - кінцевий продукт обміну, що екскретується з сечею.

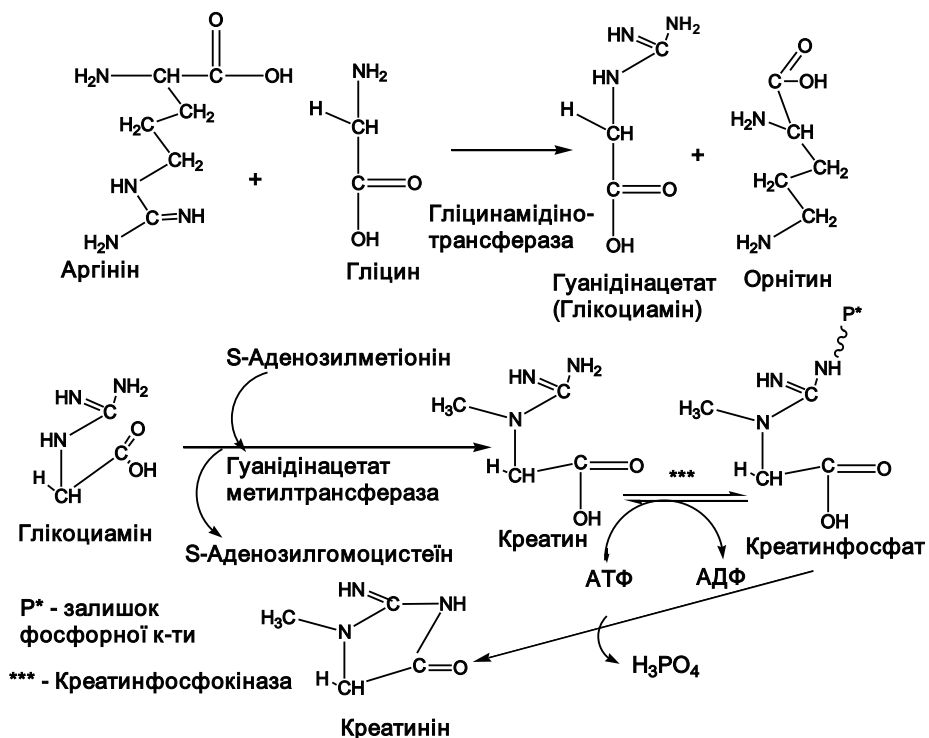
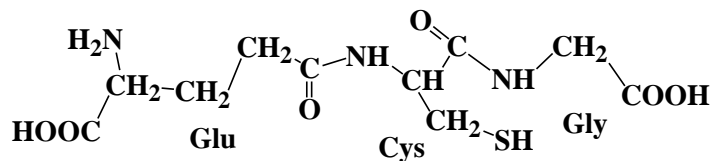


Рис. 38. Утворення креатину, креатинфосфату і креатиніну в тканинах людини

Креатин, креатинфосфат, креатинін та активність креатинфосфокінази є діагностичними показниками, які дозволяють оцінити функцію печінки (за

вмістом креатину), ниркової, м'язової тканин (за вмістом креатину та активністю креатинфосфокінази) при різних захворюваннях.

Цистеїн, гліцин та глютамінова кислота беруть участь у синтезі *глутатіону*:



Даний трипептид, завдяки наявності вільних сульфгідрильних груп цистеїну, може бути представлений у відновленій (2G-SH) і окисленій (GS-SG) формах у структурі ферментів, або у вільному стані.

G-SH є біологічно активною сполукою, що бере участь в окислювально-відновних процесах:

- він служить у якості сульфгідрильного буфера, що підтримує окислювально-відновні системи клітини, створюючи баланс для їх існування;
- він бере участь у якості коферменту спеціальної транспортної системи для дикарбонових і ароматичних амінокислот, яка локалізована в цитоплазматичній мембрані - γ -глутамілтрансфераза;
- він служить коферментом антиоксидантної ферментативної системи, яка знешкоджує пероксид водню і органічні пероксиди типу $R_1-O-O-R_2$, - глутатіонпероксидаза;
- він є коферментом глутатіонтрансферази печінки, яка бере участь у знешкодженні метилмеркаптанів.

Шляхи утворення та знешкодження аміаку в організмі людини

Утворення аміаку в тканинах людини відбувається при: 1) дезамінуванні амінокислот; 2) дезамінуванні біогенних амінів; 3) дезамінуванні пуринових і піримідинових основ; 4) дезамінуванні амідів амінокислот (аспарагіну і глютаміну).

Аміак токсичний для організму. Особливо чутлива до нього центральна нервова система. При надлишковому накопиченні аміаку в організмі можуть виникати важкі функціональні розлади з боку ЦНС: збудження, пригнічення

дихання, поява судом. Вміст аміаку в крові людини не має перевищувати концентрацію більше ніж 60 мкмоль/л. Концентрація аміаку близько 3 ммоль/л є летальною для ссавців.

У процесі еволюції виникли спеціальні механізми знешкодження аміаку. У більшості тварин аміак спочатку перетворюється в нетоксичну сполуку і в такому вигляді переноситься кров'ю від периферичних тканин до печінки або нирок.

Основні шляхи знешкодження аміаку:

- утворення амідів амінокислот (аспарагіну і глутаміну);
- відновне амінування α -кетоглутарату;
- біосинтез сечовини;
- утворення амонійних солей.

Шляхи утилізації аміаку асоційовані з типом тканини (рис. 39):

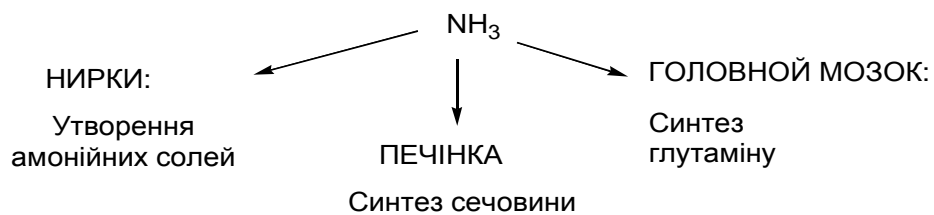


Рис. 39. Головні шляхи утилізації аміаку

В багатьох тканинах, включаючи мозок, сітківку ока, печінку, нирки та м'язи, аміак вступає в реакцію з глутаміновою або аспарагіновою кислотами при дії відповідних синтетаз. Частина аміаку, що вивільняється, зв'язується з α -кетоглутаровою кислотою у процесі відновного амінування, завдяки зворотності глутаматдегідрогеназної реакції (рис. 40):

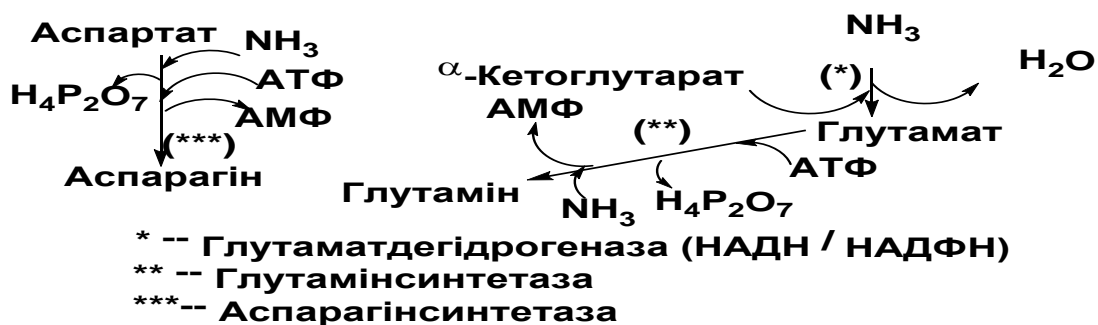
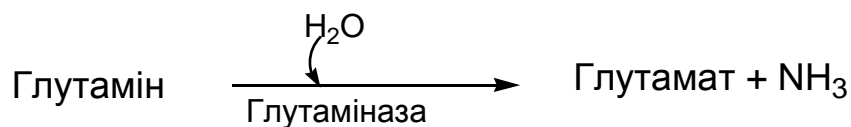


Рис. 40. Відновне амінування альфа-кетоглутарату, синтез аспарагіну і глутаміну.

Аміди, що утворюються, (глутамін, аспарагін) представляють собою транспортну форму аміаку в плазмі крові. Кровотоком вони можуть бути доставлені в печінку, або в ниркову тканину, де відбувається їх гідроліз під дією глутамінази, або аспарагінази з утворенням, відповідно, глутамату або аспартату та аміаку:



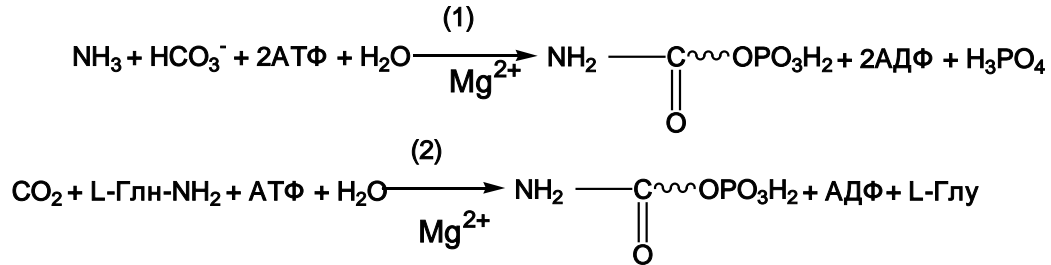
У печінці амоніак утилізується в орнітиновому циклі з утворенням сечовини. У ниркових каналцях аміак, що утворився, нейтралізує кислі іони (бікарбонати, моно- та дигідрофосфати) з утворенням амонійних солей - це ще один із шляхів підтримання нирками кислотно-основної рівноваги в організмі:



Особливу роль в перенесенні аміаку з м'язів грає аланін, що бере участь в глюкозо-аланіновому циклі. У першій реакції цього циклу аміак, що утворюється в м'язах, включається в структуру α -кетоглутарату під дією глутаматдегідрогенази (див. рис. 40), і утворюється глутамат. Глутамат є донором аміногрупи для пірувату - продукту гліколізу; реакцію перенесення аміногрупи на піруват каталізує аланінамінотрансфераза. Аланін виходить з м'язових клітин у кров і досягає печінки. У гепатоцитах аланінамінотрансфераза каталізує трансамінування аланіну з утворенням знову глутамату та пірувату. Глутамат під дією глутаматдегідрогенази печінки знову може перетворюватися на α -кетоглутарат та аміак, який знешкоджується в орнітиновому циклі синтезу сечовини.

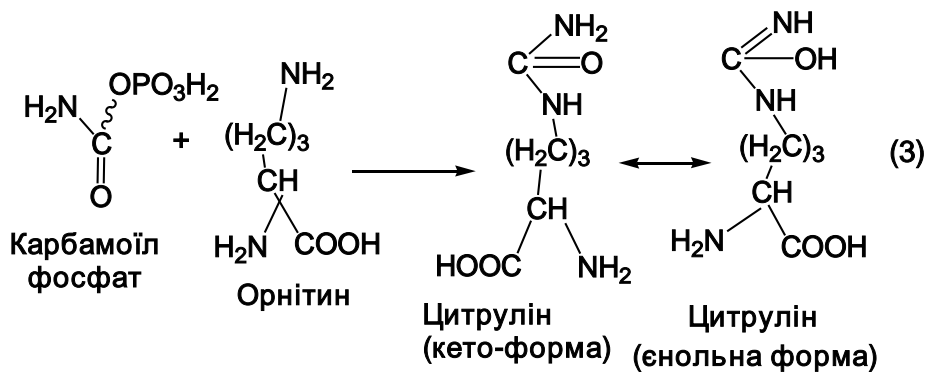
Синтез сечовини в печінці людини

У 1932 році Г. Кребс і К. Хензелейт вивчили реакції синтезу сечовини, які отримали назву цикл сечовиноутворення Кребса. Початковою реакцією цього циклу є синтез карбамоїлфосфату:

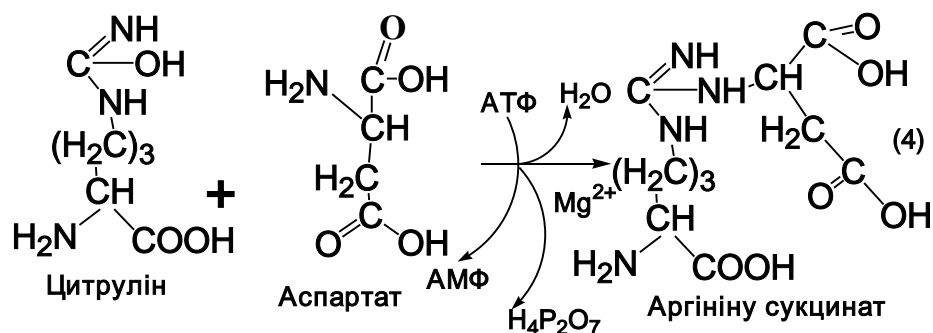


Карбамоїлфосфатсинтетаза (1), локалізована в матриксі мітохондрій, є алостеричним ферментом синтезу сечовини: його активність підвищується тільки в присутності N-ацетилглутамату. Цитозольна ізоформа даного ферменту (2) не регулюється даною речовиною. Карбамоїлфосфат є макроергічною сполукою.

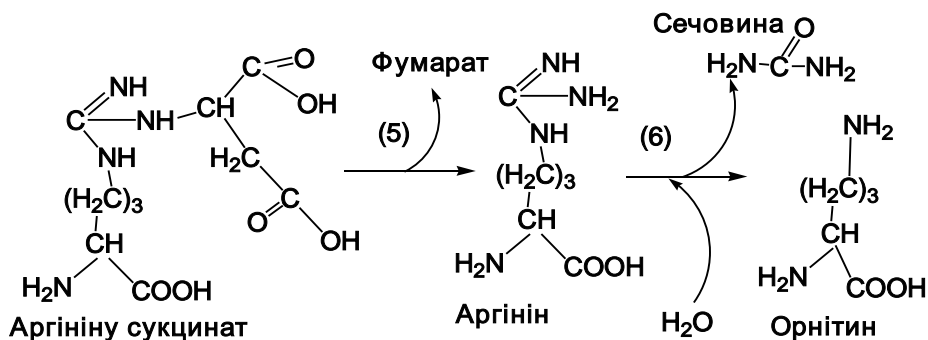
Орнітинкарбамоїлфосфаттрансфераза здійснює перенесення і включення фрагменту карбамоїлу до структури орнітину, в результаті чого утворюється цитрулін (реакція 3):



У цитруліні (до його взаємодії з аспарагіноюв кислотою) відбувається внутрішньомолекулярна ізомеризація, і тільки потім утворюється аргініносукцинат під дією аргініносукцинатсинтетази (реакція 4).



Аргініносукцинат в наступній реакції (5), що каталізується ліазою, руйнується до фумарату і аргініну. Потім аргіназа печінки руйнує аргінін до сечовини і орнітину (реакція 6):



Фумарат використовується в циклі трикарбонових кислот для регенерації оксалоацетату, який шляхом трансамінування з глутаматом знову перетворюється на аспартат. Таким чином, реакції перетворення фумарової кислоти являють собою ланку, що зв'язує цикл сечовини з циклом лимонної кислоти. Реакції (1) і (3) локалізовані в матриксі мітохондрій. Транспорт іонів бікарбонату і амонію, орнітину і цитруліну через мембрани мітохондрій здійснюють спеціальні білки-переносники.

Синтез сечовини є незворотним циклічним процесом у якому постійно відбувається регенерація орнітину з енергетичними витратами:

3 моля АТФ у розрахунку на 1 моль сечовини, що утворюється.

Основним постачальником АТФ є процес окисного фосфорилування, локалізований у мітохондріях печінки.

Регуляція орнітинового циклу сечовиноутворення

При безбілковій дієті екскреція нітрогену сечовини із сечею становить лише 60% від нітрогену азотистих сполук, представлених в хімічному складі

сечі (80% при збалансованій дієті), активність ферментів орнітинового циклу при цьому знижена.

При дієті, яка містить високий рівень білків (більше 100 г на добу) і при голодуванні, активність ферментів орнітинового циклу підвищена.

Сечовина надходить з гепатоцитів в кровоносне русло і виділяється з організму з сечею. Синтетичні шляхи організму людини не використовують сечовину в якості вихідного субстрату. Однак, помилково вважати сечовину інертним кінцевим продуктом азотистого обміну. Вона має певну біологічну активність, виступаючи в ролі важливого водорозчинного антиоксиданту. Проявляючи антиоксидантні властивості, сечовина попереджає ушкодження мембранних ліпідів активними радикалами: похідними кисню (супероксид-аніон, синглетний кисень, гідроперекисний радикал) і органічними радикалами типу RO-O[•].

Генетичні дефекти ферментів орнітинового циклу:

- *Гіперамоніємія типу I* виникає при порушенні синтезу карбамоїлфосфатсинтетази
- *Гіперамоніємія типу II* розвивається при порушенні синтезу орнітинкарбамоїлфосфаттрансферази
- *Цитрулінемія і цитрулінурія* виникають при недостатності в печінці аргініносукцинатсинтетази
- *Аргініносукцинатна ацидемія* спостерігається у хворих при дефіциті аргініносукцинатліази
- *Гіпераргінінемія і аміноацидурія* з високим вмістом аргініну в сечі виникає при порушенні синтезу аргінази печінки.

Найбільш важкими захворюваннями є перші два генетичних порушення. Дані патології діагностують у новонароджених в перший тиждень після народження. У новонародженого з дефіцитом карбамоїлфосфатсинтетази спостерігаються: епізодична енцефалопатія, конвульсії, атаксія. Крім цього, у дитини спостерігається блювота після годування, можливе виникнення летаргії. При безбілкової дієті дитини смертельний кінець неминучий у

перший тиждень життя. За відсутності терапевтичної корекції стану у хворої дитини розвивається розумова відсталість, так як до першого року життя у неї відбувається серйозне ураження тканин головного мозку. Даний патологічний стан супроводжується зниженням спорідненості ферментів до тіамініпрофосфату, тому, разом з іншими медикаментами, хворій дитині призначають терапевтичні дози тіаміну.

Використання показників: сечовина плазми крові і залишковий азот крові в діагностиці захворювань

Вміст сечовини в плазмі крові здорових дорослих людей коливається в межах 3,3 - 6,6 ммоль/л. Даний показник плазми крові є найбільш важливим для оцінки стану азотистого обміну тканин організму людини. Здебільшого він визначається в клініці паралельно з іншим показником азотистого обміну - залишковим азотом крові.

Залишковий азот крові - це загальний вміст нітрогену всіх азотовмісних сполук крові (сечовини, вільних амінокислот, креатину, креатиніну, сечової кислоти, біогенних амінів, кон'югованого білірубіну, гіпурової кислоти, індикану, нуклеозидів тощо), за винятком нітрогену білків.

Залишковий азот крові у здорових дорослих людей дорівнює 25-35 мг% або 15-25 ммоль/л.

Відношення азоту сечовини до залишкового азоту плазми крові не перевищує 48% у здорових дорослих людей. Якщо це відношення у пацієнта більше вищевказаної величини, то констатують стан «азотемія».

Розрізняють ретенційну і продукційну азотемії:

- *Ретенційна азотемія* спостерігається при нирковій недостатності, обумовлена збільшенням рівня сечовини в крові за рахунок порушення фільтрації сечовини в ниркових каналцях. Вміст сечовини в плазмі крові може досягати значень 50-83 ммоль/л.

- *Продукційна азотемія* спостерігається у пацієнтів з активною деградацією тканинних білків, що має місце при дифузних запальних процесах в тканинах, великих опіках, при кахексії.

Зниження вмісту сечовини в крові спостерігається у пацієнтів із захворюваннями печінки: хронічних гепатитах, цирозі печінки.

При нормальній функції нирок сечовина практично повністю екскретується з організму і становить 333-583 ммоль/добу в сечі здорових людей.

Загальне уявлення про аміноацидурії

Аміноацидурія - патологічний стан, що супроводжується збільшенням екскреції однієї або декількох амінокислот нирками. У здорових людей амінокислоти практично повністю реабсорбуються в ниркових канальцях і не виділяються з сечею. Здебільшого виникнення аміноацидурії обумовлено порушенням синтезу або регуляції функції транспортних систем для амінокислот. Назва аміноацидурія асоційована, головним чином, з назвою амінокислот, які у великій концентрації з'являються в сечі. Розглянемо деякі з них:

- *Цистинурія.* Порушена абсорбція основних амінокислот і цистину (димеру цистеїну) у тонкому кишечнику і ниркових канальцях, сумарний ефект цих порушень - акумуляція вищевказаних амінокислот в сечі. Цистин є речовиною погано розчинною у водній фазі, тому його накопичення призводить до формування кристалів цистину, утворення каменів у нирках, що супроводжується розвитком сечокам'яної хвороби. При лікуванні цистинурії хворому призначають прийом великих об'ємів рідини і пеніциламіну.

- *Гліцинурія.* Порушена абсорбція проліну, гідроксипроліну і гліцину в ниркових канальцях. Серйозних порушень в обміні речовин хворого не спостерігається, за винятком високої екскреції вищевказаних амінокислот з сечею.

- *Цистиноз.* Це рідкісне спадкове захворювання, що супроводжується порушенням синтезу транспортної системи для цистину в ниркових канальцях. Кристали цистину при його акумуляції в крові накопичуються в

тканинах і органах, в ретикуло-ендотеліальній системі, розвивається ниркова недостатність. Хворі з вказаною патологією помирають в ранній молодості.

- *Гістидинемія і гістидинурія.* Це спадкове захворювання, що рідко зустрічається. У його основі лежить порушення синтезу ферменту гістидази, що каталізує реакцію руйнування гістидину до уроканінової кислоти. Обмін гістидину при цьому йде шляхом утворення імідазолпіровиноградної кислоти. Ведучим клінічним симптомом гістидинемії у дітей є відставання у психічному та фізичному розвитку. При обстеженні у хворих виявляється підвищений рівень гістидину в крові, сечі та спинномозковій рідині. У сечі виявляються такі продукти обміну гістидину, як імідазолпіровиноградна, імідазолмолочна кислоти та ацетилгістидин.

- *Тирозиноз* - рідкісне спадкове захворювання. При цьому відбувається порушення одного з шляхів обміну тирозину, яке пов'язане з порушенням перетворення пара-гідроксифенілпіровиноградної кислоти в гомогентизинову. Розвивається тирозинемія і тирозинурія.

Тестові завдання для перевірки знань та відповіді до них

1. Катаболізм білків

1. Протеоліз – це процес:
 - A. Деградації вуглеводів
 - B. Синтезу пептидів
 - C. Деструкції білків
 - D. Синтезу протеолітичних ферментів
 - E. Регуляції трансляції
2. Усі протеолітичні ферменти відносяться до класу:
 - A. Ліази
 - B. Ізомерази
 - C. Лігази
 - D. Гідролази
 - E. Трансферази
3. Виберіть компартмент клітини, який містить головним чином гідролази, у тому числі, протеолітичні ферменти:
 - A. Мітохондрія
 - B. Ендоплазматичний ретикулум
 - C. Лізосоми
 - D. Цитоплазма
 - E. Ядро клітини
4. Назвіть фермент, який забезпечує енергонезалежний нелізосомний протеоліз:
 - A. Катепсин В
 - B. 26S-протеасома
 - C. Катепсин Н
 - D. Катепсин D
 - E. Кальпаїн
5. Назвіть білок, наявність якого в цитоплазмі є дуже важливим фактором для дії 26S-протеасоми:

- A. Убіквітин
 - B. Дігідробіоптерин
 - C. Пепстатин
 - D. Нігерин
 - E. Тетрабіоптерин
6. Три ферменти потрібні для зв'язування ланцюгів убіквітину з молекулою білку, якій з них потребує застосування молекули АТФ?:
- A. E1
 - B. E2
 - C. E3
 - D. E1 разом з E2
 - E. E2 разом з E3
7. Убіквітинація – це процес :
- A. Приєднання молекули убіквітину до АТФ
 - B. Приєднання молекули убіквітину до молекули білку
 - C. Приєднання поліубіквітину до молекули білку
 - D. Обмеженого протеолізу поліубіквітину
 - E. Повного протеолізу поліубіквітину до вільних амінокислот
8. Скільки молекул убіквітину формують поліубіквітиновий ланцюг?
- A. П'ять
 - B. Шість
 - C. Сім
 - D. Чотири
 - E. Три
9. Назвіть фрагмент структури 26S-протеасоми, який містить активні сайти деструкції білка-субстрата:
- A. 19S-комплекс
 - B. 20S-комплекс
 - C. Кришка 19S-комплексу
 - D. Основа 19S-комплексу

- Е. Бета-субодиниці 20S-комплексу
10. Які продукти надає 26S-протеасома у цитоплазму після деструкції молекули білка-субстрата?:
- А. Декапептиди
 - В. Короткі поліпептиди
 - С. Вільні амінокислоти
 - Д. Поліпептиди до сорока амінокислотних залишків
 - Е. Вільні амінокислоти і поліпептиди
11. Скільки типів специфічності відкрито для 26S-протеасоми?:
- А. П'ять
 - В. Три
 - С. Дві
 - Д. Чотири
 - Е. Шість
12. Назвіть протеолітичні ферменти, які створюють умови для некрозу клітини шляхом піроптозу:
- А. Кальпаїни
 - В. Катепсини
 - С. Каспази
 - Д. Нейтральні протеїнази
 - Е. Лізосомальні естерази
13. Обмежений протеоліз є важливим процесом для:
- А. Утворення поліпептидних гормонів
 - В. Модифікації поліпептидних ланцюгів після трансляції
 - С. Синтезу активних форм ферментів із зимогенів
 - Д. Активації або інактивації факторів транскрипції
 - Е. Усі позиції відповідей є вірними
14. Рецептори, які активуються протеазами, відносяться до сімейства рецепторів, з'єднаних з:
- А. G-білками

B. Na^+, K^+ -АТФазою

C. $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФазою

D. GLUT2

E. Пермеазами

15. 19S-комплекс розподіляється на дві мультиструктури, одна з них відповідає за розгортання білкових молекул та проведення ланцюгів білку у протеолітичні сайти 20S-протеасоми. Це:

A. Основа

B. Кришка

C. Частина основи

D. Частина кришки

E. Основа сумісно з кришкою

16. Під впливом одного з лізосомальних ферментів відбувається інактивація глюкокінази, альдолази і піруваткінази, це:

A. Катепсин B1

B. Катепсин A

C. Катепсин B

D. Катепсин D

E. Карбоксикатепсин

17. Активний сайт 26S-протеасоми не забезпечує протеоліз послідовностей, які складаються тільки з:

A. Глутаміну

B. Аспарагіну

C. Проліну

D. Аланіну

E. Аспартату

18. Деякі 26S-протеасоми мають трипсиноподібну активність, це означає, що вони проводять деструкцію поліпептидного ланцюгу по внутрішнім пептидним зв'язкам між залишками:

A. Аспартату та глутамату

В. Ароматичних амінокислот

С. Аргініну та лізину

Д. Лейцину та валіну

Е. Проліну та гліцину

19. Стресові стимули ведуть до посилення Ca^{2+} - залежного протеолізу в міокарді, його забезпечують ферменти:

А. Каспази

В. Кальпаїни

С. Катепсини

Д. Кальмодуліни

Е. Кальціфероли

20. Екзопептидази розподіляються на амінопептидази та карбоксипептидази, останні за механізмом дії можуть бути:

А. Сериновими

В. Аспартатними

С. Подібними еластазам

Д. Подібними трипсину

Е. Подібними пепсину

Вірні відповіді до тестових завдань з теми «Катаболізм білків»

| | | | | | | | | | | |
|-----------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| № тесту | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| Відповідь | С | Д | С | Е | Е | А | С | А | В | В |
| № тесту | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 |
| Відповідь | А | С | Е | А | А | А | А | С | В | А |

2. Біосинтез білків

1. Укажіть активну форму амінокислоти, що ініціює процес трансляції у прокариотів:
 - A. Метилгістидін
 - B. Формілметіонін
 - C. Метіоніл-тРНК
 - D. Формілметіоніл-тРНК
 - E. Метіонін
2. Укажіть структурний компонент аміноацил-тРНК, який забезпечує "упізнавання" кодуючого триплета мРНК в процесі біосинтезу білка:
 - A. Промотор
 - B. Акцепторне стебло
 - C. Дигідроуридилова петля
 - D. Кодон
 - E. Антикодон
3. Укажіть фермент, що приймає участь в активації амінокислот у процесі біосинтезу білку:
 - A. РНК-полімераза
 - B. Аміноацил-тРНК-синтетаза
 - C. ДНК-полімераза
 - D. Трансформілаза
 - E. Пептидилтрансфераза
4. Виберіть каталізатор, що бере участь у реакції переносу пептидного фрагменту й утворенні пептидного зв'язку під час трансляції:
 - A. Амінотрансфераза
 - B. Пептидилтрансфераза
 - C. Аміноацил-тРНК-синтетаза
 - D. Транслоказа
 - E. РНК-полімераза
5. Виберіть кодони, що є сигналами термінації трансляції:

- A. ACC, GCA, AAG
- B. CAA, ACA, GAA
- C. UAC, CCA, GAC
- D. GAU, CCA, CGA
- E. UAG, UAA, UGA

6. Укажіть триплет, що знаходиться на 3'-кінці акцепторного стебла т-РНК:

- A. 5'-CCA
- B. 5'-CAC
- C. 5'-UAC
- D. 3'-CUA
- E. 3'-CCA

7. Функція білкового фактора ініціації трансляції IF3 є:

- A. Дисоціація рибосоми
- B. Асоціація рибосоми
- C. Утримання рибосоми у дисоційованому стані
- D. Приєднання ініціюючої аміноацил-тРНК
- E. Транслокація рибосоми

8. 7. Функція білкового фактора ініціації трансляції IF2 є:

- A. Дисоціація рибосоми
- B. Асоціація рибосоми
- C. Утримання рибосоми у дисоційованому стані
- D. Приєднання ініціюючої аміноацил-тРНК
- E. Транслокація рибосоми

9. Укажіть антибіотик, який гальмує біосинтез білка на рівні транскрипції, інтеркалюючись у ДНК, і використовується у якості протипухлинного засобу:

- A. Циклогексимід
- B. Пеніцилін
- C. Левоміцетин
- D. Доксорубіцин

Е. Актиноміцин D

10. Виберіть антибіотик, який є інгібітором транслокази – ферменту елонгації трансляції:

А. Циклогексимід

В. Пуроміцин

С. Актиноміцин D

Д. Рифаміцин

Е. Еритроміцин

Вірні відповіді до тестових завдань з теми «Біосинтез білків»

| | | | | | | | | | | |
|-----------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|
| № тесту | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| Відповідь | D | E | B | B | E | A | C | D | D | E |

3. Метаболізм амінокислот

1. Цей біохімічний показник плазми крові є головним в діагностиці стану азотемії будь-якого типу. Назвіть його:
 - A. Білірубін прямий
 - B. Білірубін непрямий
 - C. Сечова кислота
 - D. Креатин
 - E. Сечовина
2. У хворого визначено концентрацію сечовини в плазмі крові (результат значно перевищує норму) і в сечі (результат нижче норми). Вкажіть можливу причину цих змін у пацієнта:
 - A. Гостра ниркова недостатність
 - B. Уражена паренхіма печінки
 - C. Обтурація жовчних проток
 - D. Посилений гемоліз еритроцитів
 - E. Пацієнт хворий на подагру
3. Досліджуваний фермент відноситься до класу гідролаз, є органоспецифічним ферментом і бере участь в утворенні сечовини. Знайдіть назву даного фермента:
 - A. D-оксидаза аланіну
 - B. Аланінтрансaminaза
 - C. Глутаматдегідрогеназа
 - D. Аспартаттрансaminaза
 - E. Аргіназа
4. В нейронах головного мозку амоніак не можливо утилізувати шляхом утворення сечовини. Укажіть продукт утилізації амоніаку в головному мозку:
 - A. Бурштинова кислота
 - B. Аспарагінова кислота
 - C. Карбамоїлфосфат
 - D. Глутамін

Е. Аланін

5. При спадковому порушенні синтезу цього ферменту у дитини визначається в сечі великий вміст фенілпірувату. Назвіть даний фермент:

А. Фенілаланінгідроксилаза

В. Тирозингідроксилаза

С. 5-Триптофангідроксилаза

Д. Гліцинамідаза

Е. Пролінгідроксилаза

6. У сечі дитини виявлена велика концентрація гомогентизинової кислоти, окислення якої киснем повітря змінює колір сечі до чорно-бурого. Виберіть діагноз хворого:

А. Хвороба Хартнупа

В. Фенілкетонурія

С. Тирозиноз

Д. Базедова хвороба

Е. Алкаптонурія

7. Хвороба «кленового сиропу» виникає при дефекті гену, який містить інформацію про фермент:

А. Піруватдегідрогеназа

В. Дегідрогеназа альфа-кетокислот з розгалуженим бічним радикалом

С. Ізоцитратдегідрогеназа

Д. НАДФ-залежна глутаматдегідрогеназа

Е. 5-Амінолевулінатсинтаза

8. Гіпероксалурія будь-якого типу пов'язана з генетичними порушеннями обміну цієї заміної амінокислоти. Назвіть її:

А. Аланін

В. Серин

С. Гліцин

Д. Глутамін

Е. Аспарагін

9. Специфічний шлях перетворень цієї заміної амінокислоти пов'язаний з утворенням в нервовій тканині чотирьох нейромедіаторів, два з них мають назву катехоламіни. Назвіть цю амінокислоту:

- A. Метіонін
- B. Цистеїн
- C. Гліцин
- D. Тирозин
- E. Фенілаланін

10. Специфічний катаболічний шлях цієї незамінної амінокислоти частково покриває потреби організму людини в вітамінах РР і В3. Назвіть цю амінокислоту:

- A. Метіонін
- B. Фенілаланін
- C. Триптофан
- D. Гістидин
- E. Лейцин

Вірні відповіді до тестових завдань з теми «Метаболізм амінокислот»

| | | | | | | | | | | |
|-----------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|
| № тесту | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| Відповідь | E | A | E | D | A | E | B | C | D | C |

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

Основна

1. Біохімія [Текст] : підруч. для студ. фармац. спец. / А. Л. Загайко [та ін.] ; за ред.: А. Л. Загайка, К. В. Александрової ; МОЗ України. - Харків : Форт, 2014. - 728 с.
2. Біологічна і біоорганічна хімія : у 2 кн. нац. підруч. для студ. вищ. мед. навч. закл. IV рівня акредитації. Кн. 2. Біологічна хімія / Ю. І. Губський [та ін.] ; за ред.: Ю. І. Губського, І. В. Ніженковської ; рец.: Л. І. Остапченко, О. Г. Резніков, В. О. Калібабчук. - 2-ге вид., випр. - Київ : Медицина, 2017. - 544 с.
3. Склярів, О. Я. Біологічна хімія [Текст] : підруч. для студ. стомат. ф-тів вищ. мед. навч. закл. освіти III-IV рівнів акредитації / О. Я. Склярів, Н. В. Фартушок, Т. І. Бондарчук. - Тернопіль : Укрмедкнига, 2015. - 706 с.

Додаткова

1. Біологічна хімія з біохімічними методами дослідження [Текст] : підручник / О. Я. Склярів, Н. В. Фартушок, Л. Д. Сойка, І. С. Смачило. - Київ : Медицина, 2009. - 351 с.
2. Губський, Ю. І. Біологічна хімія : підруч. для студ. вищ. мед. навч. закл. IV рівня акредитації / Ю. І. Губський. - 2-ге вид. - Київ ; Вінниця : Нова книга, 2011. - 656 с.
3. Gubsky, Yu. I. Biological chemistry : textbook for students of medical and pharmaceutical faculties / Yu. I. Gubsky ; ed. by.: Yu. I. Gubsky. - 2nd ed. - Vinnytsya : Nova Knyha, 2018. - 488 p.
4. Matta Cherif F. Quantum Biochemistry. Electronic Structure and Biological Activity / Cherif F. Matta. - Wiley, 2010. - 920 p.
5. Voet D. Fundamentals of Biochemistry: Life at the Molecular Level / D. Voet, J. G. Voet, C. W. Pratt. - 4th Edition. - Wiley, 2013. - 1204 p.
6. USMLE. Step 1. 2018. Biochemistry and Medical Genetics : lecture notes / ed.: S. Turco ; contributor: R. Lane, R. M. Harden. - New York : Kaplan Medical USMLE, 2018. - 423 p.