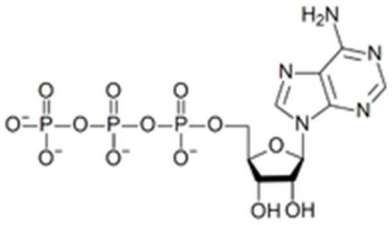
1. Что такое жизнь с точки зрения химика

Для химика жизнь – это, в первую очередь, биологическая клетка и те хим. процессы, которые в ней протекают. Химию интересуют не связи между клетками в живых организмах или функционирование организма как целого, а лишь отдельные химические процессы, кот. могут быть исследованы как обычные хим. реакции.

Основные хар-ки клетки:

1). Клетка – открытая система, обменивающаяся с окр. средой как Е, так и в-вом (гомеостаз)
2). Высокая организация
3). Способность к репродуцированию
4). Способность к эволюции
5). Высокий уровень регуляции
6). Размеры – от 0,3мкм (микоплазма) до 10000 мкм (желток)
7). Объем – 10^(-15) л

По особенностям строения выделяют 2 основных типа клеток: прокариоты и эукариоты. В прокариотах нет ядер, а ДНК находится в виде замкнутой кольцевой формы в нуклеоиде, - характерно для бактерий. В эукариотах весь генетический материал находится в ядре, а также имеются митохондрии, вырабатывающие АТФ:



(OH перенести)

Свойства живого:

1. Самовозобновление, которое связано с постоянным обменом вещества и энергии, и в основе которого лежит способность хранить и использовать биологическую информацию в виде уникальных информационных молекул: белков и нуклеиновых кислот.
2. Самовоспроизведение, которое обеспечивает преемственность между поколениями биологических систем
3. Саморегуляция, которая основана на потоке вещества, энергии и информации
4. Большинство химических процессов в организме находятся не в динамичном состоянии
5. Живые организмы способны к росту

Признаки живого:

1. Обмен веществом и энергией
2. Обмен веществ – особый способ взаимодействия живых организмов со средой
3. Обмен веществ требует постоянного притока некоторых веществ и энергии из вне и выделения некоторых продуктов диссимиляции во внешнюю среду. Организм является открытой системой
4. Раздражимость – заключается в передаче информации от внешней среды к организму; на основе раздражимости осуществляется Саморегуляция и гомеостаз
5. Репродукция – воспроизведение себе подобных
6. Наследственность – поток информации между поколениями в результате чего обеспечивается преемственность
7. Изменчивость – появление новых признаков в процессе репродукции; основа эволюции
8. Онтогенез – индивидуальное развитие, реализация индивидуальной программы
9. Филогенез – историческое развитие, эволюционное развитие осуществляется в результате наследственной изменчивости, естественного отбора и борьбы за существование
10. Организмы включены в процесс эволюции

2. Основные типы биополимеров и их функции

Биополиме́ры — класс полимеров, встречающихся в природе в естественном виде, входящие в состав живых организмов: белки, нуклеиновые кислоты, полисахариды. Биополимеры состоят из одинаковых (или разных) звеньев — мономеров. Мономеры белков — аминокислоты, нуклеиновых кислот — нуклеотиды, в полисахаридах — моносахариды.

Белки – высокомолекулярные соединения, построенные из полипептидных цепей, где мономеры – альфаL-аминокислоты.

Функции:

1. Транспортная – аквапорин (трансмембранный белок)
2. Каталитическая – входит в состав ферментов (глобин – входит в гемоглобин)
3. Защитная
   А). Иммунная (антиген – ассоциациат белков, в который входит 4 белка)
   Б). Механическая (часто в бактериях)
4. Структурная (коллаген – соединительная ткань)
5. Двигательная (мышцы)
6. Сигнальная (рецепторы на гормоны – система развития рака)

Нуклеиновые кислоты – высокомолекулярные линейные полярные биополимеры, полинуклеотиды, которые построены из нуклеотидов. (Мономер - дезоксирибонуклеозид 5’-трифосфат).

Функции:

1. Активное хранение генетической информации
2. Организация передачи генетической информации
3. Синтез белка
4. Катализ (рибозимы – ферменты, содержащие РНК)

3. Структура белка. 4 уровня организации структуры белка

1). *Первичная* – последовательность аминокислотных остатков

C-N (пептидная) – связь в белках - вращение затруднено. Преимущественно транс-конфигурация.

2). *Вторичная* – альфа-спираль, бета-складки (параллельные и антипараллельные – когда одна от N конца к С концу, а другая наоборот. А синтез идет от N к С).

Альфа-спираль (параметры) – период – 3,6 остатков, расстояние – 5 А.

(Полярные растворители разрушают водородную связь, потому что они образуют новые водородные связи – т.е. все остатки направлены наружу, чтобы защитить от воды. А в ДНК – наоборот.)

За счет водородной связи.

Стабилизация вторичной структуры белков: водородная связь, электростатические взаимодействия, гидрофобные взаимодействия (если молекула гидрофобна ей выгодно связаться с еще одной такой же молекулой, чтобы уменьшить общую поверхность, и, соответственно, уменьшить Е взаимод. с водой), стекинг-взаимодействия, сульфидные мостики.

3*). Третичная структура*

А). Для энзимщиков – доменная структура. Домен белка – элемент третичной структуры белка, представляющий собой достаточно стабильную независимую структуру, которая способна выполнять свои функции независимо от других частей.

Б). Для хпс – трехмерная структура (структура бочки)

Внутри – гидрофобное ядро.

4). *Четвертичная структура* – Ассоциаты

Белки по форме третичной структуры:

А). Глобулярные (глобин). Могут быть образованы только альфа-спиралями (гемоглобин), только бета-скалдками (иммуноглобулин), или и теми, и другими.

Б) Фибриллярные (коллаген) – тоненькие ниточки

Мерность – относится к 4структуре:

А). Мономеры (пероксидаза хрена)

Б). Димеры (алкогольдегидрогеназа – в печени)

В). Тетрамеры (красный флуоресцентный белок)

4. Конформации белка. Конформационные переходы

Конформации белка – структура, образующаяся без разрыва ковалентных связей в первичной структуре белка. (Вторичная, третичная меняются, первичная – нет). Могут различаться как кол-вом альфа-спиралей и бета-складок, так и их взаимным расположением

Конформационные переходы: наблюдаются во многих белках и зачастую обусловливают их функциональные свойства. Например, в процессе присоединения кислорода к гемоглобину в молекуле последнего происходят конформационные переходы, облегчающие присоединение последующих молекул. Подобные процессы характерны для транспортных белков, входящих в состав биологических мембран.

5. Поверхность белковых молекул. Образование супрамолекулярных комплексов

Аналогично четвертичной структуре.
Привести пример гемоглобина.
Поверхность белковых молекул – неоднородна. Есть, где она гидрофобна, есть, где гидрофильна. Есть, где разный заряд.

6. Структура гемоглобина. Механизм связывания кислорода гемоглобином

Гемоглобин состоит из 4 субъединиц (2 альфа и 2 бета). Во всех четырех субъединицах белковые фрагменты связаны с гемом – порфириновым комплексом железа. Гем выступает в качестве лиганда, а глобин – в к-ве центрального атома. Одну из аксиальных позиций в таком комплексе занимает гистидин. Вторая – вакантна. Ее может занять молекула кислорода. В области высоких давлений кислорода гемоглобин присоединяет к себе 4 молекулы к-да, в области низких – отдает их. Так может осуществляться транспорт кислорода в живых организмах. Присоединение кислорода к гемоглобину – кооперативный процесс, поскольку присоединение к первой субъединице значительно ускоряет присоединение к остальным (это связано с изменением зарядового распределения в молекуле – на свободных гемах возрастает положительный заряд, эффективнее притягивающий к себе неподеленные пары кислорода). Гемоглобин входит в состав эритроцитов крови. Аналогичным образом работает мышечный белок миоглобин, состоящий из всего одной субъединицы, в которой одна молекула гема связана с пятью альфа-спиральными фрагментами белка.

7. Структура и функция биологических мембран.

Биологические мембраны – липидный бислой с белками.

Липидные бислои сформированы фосфолипидами – сложными эфирами глицерина или сфингозина (только для животных клеток). В обоих случаях R1 и R2 – длинные углеводородные фрагменты (C12-C14), часто имеющие двойные связи в цис-конфигурации.

Классификация липидов:

1). Триглицериды
2). Фосфолипиды
3). Стеарины
4). Простагландины

(это все, что было на лекциях)

Липид – не существует четкого определения

Холиновый остаток – $(CH_2)_2N(CH_3)_3^+$

Фосфолипид имеет гидрофильный и гидрофобный конец – подобное строение приводит к образованию бислоев, в кот. гидрофильные холиновые концы ориентированы наружу, а гидрофобные углеродные – внутрь. Толщина – 50А. Могут образовать длинную клеточную мембрану, замкнуться вокруг одной молекулы, образуя липосому, или же, попав в водную среду, образовать мицеллу – частицу коллоидного раствора. Структура клеточной мембраны является достаточно гибкой, поэтому в нее могут встраиваться особые мембранные белки; кроме этого внутренняя, гидрофобная часть бислоя способна растворять неполярные молекулы – обычно холестерин.

Функции мембран:

1). Образование раздела фаз
2). Селективный транспорт
3). Генерация энергии (Na-K – насос)
4). Передача электрического сигнала (как с гормонами)
5). Сенсорная (как с гормонами – цвет, запах, вкус)

8. Транспорт молекул через биологические мембраны

Транспорт через мембраны:

1) Активный – против градиента концентрации. Требует затрат энергии. Создает разность конценраций, обсловливающую разность потенциалов на мембране.
   А). Первичный. Задействуется энергия гидролиза АТФ до АДФ. Типичен для H+, K+, Na+.
   Б). Вторичный. Источник энергии – одновременный перенос какого-либо в-ва по градиенту концентрации. Типичен для аминокислот, углеводов. Засчет Na-K насоса.
2) Пассивный (диффузия – для гидрофобных молекул с помощью трансмембранных белков, ионные каналы – образованы специальным белком, встроенным в мембрану – высокая специфичность. Ионные каналы – узкие заполненные водой полости, размеры которых таковы, что пропускаются только молекулы, или гидратированные молекулы, определенного размера.) – по градиенту концентрации. Протекает самопроизвольно. Результат – выравнивание концентраций в-ва по разные стороны мембраны.

9. Калиевые каналы

В клеточных мембранах существуют особые каналы, осуществляющие селективный транспорт ионов калия через мембрану. В этих каналах существует одна большая полость, способная вместить в себя до 80 молекул воды – сюда попадают различные гидратированные ионы. Далее канал сужается, причем размеры полостей таковы, что в них стабилизируются ионы калия, гидратированные восемью молекулами воды. Всего таких «узких» полостей семь. После прохождения через них ион калия выходит из мембраны и расширяет свою гидратную оболочку. Направление переноса соответствует градиенту концентрации К+ (изнутри клетки наружу).

10. Механизм работы Na-K насоса

(потому что в первом акте переносится натрий, а во втором – калий)

Активный транспорт ионов натрия и калия осуществляется специальным ферментом Na-K-АТФ-азой (значит, что насос – АТФ-зависимый)

Фермент состот из 2 субъединиц, каждая из которых встроена в клеточную мембрану. Между субъединицами находятся несколько полостей, положение которых зависит от конформации белка.

1). 3 Na+ переносится изнутри во вне (АТФ гидролизуется до АДФ, образуется энергия). На внешней стороне мембраны ионы натрия освобождаются, а на их место попадают 2 иона калия.

2). 2 K+ внутрь

Такой насос создает по разные стороны мембраны не только разность концентраций, но и разность зарядов, т.е. электрический потенциал. Этот потенциал называется мембранным и может быть измерен – (-50)мВ

11. Бактериородопсин как протонная помпа

Бактериородопсин – трансмембранный белок, состоящий из 7 альфа-спиралей. Обнаружен в бактериях соленых озер. Для переноса протона необходим свет, поэтому в процессе переноса должен участвовать поглотитель света. Им является ретиналь (фиксированный в молекуле белка), одна из двойных связей которого переходит в цис-конфигурацию; ретиналь присоединяется к азоту лизина с образованием основания Шиффа. Затем трехкоординированный азот протонируется за счет Аспарагиновой кислоты (находится на одной стороне мембраны) и депротонируется с переходом протона на Аспарагиновой кислоте (находится на другой стороне мембраны). В результате этого процесса протон переходит через мембрану в направлении градиента концентрации H+ - за счет световой энергии создается разность хим. потенциалов H+ по разные стороны мембраны.

12. Строение и механизм работы АТФ-синтетазы

АТФ-синтетаза – фермент, обеспечивающий синтез АТФ из АДФ и фосфатного остатка.

Три альфа, три бета и одна гамма – субъединицы.

Эта система имеет три активных центра, один из которых свободен, другой занимают АДФ и фосфатный остаток, третий – АТФ. Система постоянно вращается вокруг гамма-субъединицы, в результате чего образуется АТФ. Е, необходимая для этого процесса, поставляется бактериородопсином, обеспечивающим разность потенциалов по разные стороны мембраны. Фермент также может выступать в к-ве АТФ-азы, транспортируя протоны против градиента концентрации за счет энергии АТФ.

Из-за протонной помпы – разность потенциалов – значит, с одной стороны много протонов. Они хотят вернутся. И они возвращаются через АТФ-синтетазу. Начинают вращать гамма-субъединицу.

13. Структура ДНК

1). Первичная структура – последовательность нуклеотидов, которые, в свою очередь, сформированы одним остатком фосфорной к-ты, 2’-дезоксирибозой и одним из 4 азотистых оснований. Фосфатные группы присоединены к 3’ и 5’-атомам углерода дезоксирибозы, азотистые основания – к 1’-атому. Для T, C и G кето-енольная таутомерия – одна из причин мутаций. Вероятность – 10^(-4), что енол.
Средний размер гена – 1000 нуклеотидов
2). Вторичная структура – две цепочки сворачиваются в двойную спираль за счет образования водородных связей между комплементарными парами азотистых оснований (A-T, G-C – правило Чартгаффа). Один шаг спирали содержит 10 пар нуклеотидов. Все пары азотистых оснований лежат в параллельных плоскостях, поскольку для такой конфигурации возможны особые стэкинг-взаимодействия между плоскими циклами, за счет которых соседние пары сближаются на расстояния до 3А, обеспечивая плотную укладку; внутри двойной спирали воды нет. Цепи ориентированы антипараллельно. При нагревании вязкость ДНК понижается – происходит денатурация (распад вторичной структуры). При охлаждении – ренатурация (повторное образование двойной спирали).
3). Третичная структура – кольцевая, линейная – неустойчивы. Поэтому сверхспираль (под действием топоизомераз – АТФ-азы), стабилизированная дополнительными контактами между разными участками спирали. Все эти конформационные превращения определяются значением топологического инварианта L = W + Tw
W – скрюченность (параметр Райзинга)
Tw – число оборотов одной цепи относительно другой.

14. Структура и функции РНК

1). *Первичная структура*

Последовательность нуклеотидов, содержащих фосфатный остаток, остаток рибозы и азотистогот основания. Фосфаты присоединяются к 3’ и 5’ атомам углерода рибозы. Тимин заменяется на урацил.

2*). Вторичная структура*

Зависит от функций.

М-РНК (матричная) – альфа-спираль, как у белков. Стабилизируется за счет стекинг-взаимодействий.

Т-РНК (транспортная) – «клеверный лист» - три «шпильки» и стебли комплементарных оснований. Одна из шпилек обязательно содержит антикодон, а стебель без «шпильки» - конец, способный удерживать аминокислоту.

Р-РНК – сложные структуры

3). *Третичная структура*

Образование сверхспиралей м-РНК и т-РНК; механизм схож с механизмом образования сверхспиралей ДНК.

Функции:

1). Информационная (передача генетической информации)

2). Синтез белка

3). Каталитическая (рибозимы – ферменты, являющиеся комплексами РНК и белка; РНК также может катализировать сама себя, выступая в роли РНК-зависимой РНК-полимеразы)

15. Репликация ДНК

Репликация - удвоение молекул днк, образование из одной двух, полностью идентичных исходной.

2). Топоизомеразы устраняют сверхспирализацию, которая наблюдается в ходе раскручивания одной части цепи в ДНК, второй конец которых закреплен (например, в кольцевых ДНК). Раскручивание обычно начинается с особого участка ori, после чего кольцевые ДНК раскручиваются сразу в двух направлениях, тогда как в линейных молекулах ДНК раскручивание происходит только в одну сторону с образованием вилки репликации. На ней – выстраивание новых цепей

1). Раскручивание вторичной структуры под действием геликаз (АТФ-азы). Есть два типа геликаз, различающиеся направлением движения вдоль цепей РНК. Еще ничего не синтезируется

Чтобы начался синтезы – нужны праймеры (затравки – маленький кусочек, с которого начинается синтез, их делает праймаза, обеспечивающая синтез коротких рибонуклеотидных участков в некоторых местах материнской цепи – разбросаны непериодично с интервалом в несколько десятков нуклеотидов).

3). НО: синтез идет от 3’ к 5’ концу (ДНК-полимераза так движется).

Что надо для выстраивания новой цепи:

А). ДНК-полимераза (не потребляет энергию АТФ, для образования новых связей используется энергия пирофосфатных связей)

Б). Субстрат – дезоксирибонуклеозид 5’-трифосфат

В). Матрица (исходная ДНК)

Г). Праймеры

На запаздывающей цепи (в обр. сторону) зачатки новой цепи появляются на каждом следующем праймере (участке, с кот. начинается синтез). Образуются фрагменты Оказаки, отщепляются у след. праймера под действием ДНК-полимеразы или РНКазы, затем идет сшивание фрагментов Оказаки, освобожденных от праймеров, осуществляется при помощи ДНК-лигазы.

16. Транскрипция

Транскрипция – процесс биосинтеза РНК на матрице ДНК. Образующиеся цепи РНК в дальнейшем могут превращаться во все три вида РНК.

1). Раскручивание небольшого участка ДНК под действием геликаз.

2). Инициация на промоторе (участок ДНК, селективно взаимодействующий с РНК-полимеразой – основным ферментом транскрипции). Структуры промоторов различны, однако все они близки к некой идеальной, наиболее эффективной (в смысле взаимодействия с ферментом) последовательности консенсуса. При инициации РНК-полимераза «закрепляется» на раскрученном участке одной из цепей ДНК и катализирует реакцию инициации, заключающуюся в сшивании первых двух рибонуклеозидтрифосфатов новой цепи, соответствующих нужному участку матричной цепи.

Затем РНК-полимераза начинает двигаться вдоль раскручивающейся цепи ДНК, достраивая в новую цепь следующие нуклеотиды. При этом «отработанные» участки ДНК сворачиваются обратно в спираль, не затрагивая образующуюся молекулу РНК.

3). Терминация – для остановки. До конца не изучена. Предполагается, что причина – образование шпилек – т.е. конец цепи отрывается от РНК-полимеразы, прерывая транскрипцию. Возможно также существование особых участков-терминаторов ДНК.

17. Генетический код

Генетический код – соответствие между 64 кодонами (тройками нуклеотидов) и 20 аминокислотами.

Свойства:

1). Триплетный

2). Вырожденный (большинству аминокислот соответствует несколько кодонов)

3). Неперекрывающийся

4). Существование открытых рамок считывания – областей, для которых на больших участках не встречаются кодоны-терминаторы

5). Универсальный (одинаков для подавляющего большинства организмов).

61 кодон кодирует аминокислоты. Еще 3 –UAA, UAG, UGA – кодоны-терминаторы, останавливающие трансляцию. Обычно все последовательности кодонов начинаютс с AUG (метионин).

Для расшифровки генетического кода используют специально синтезированные м-РНК, состоящие из одного и того же повторяющегося кодона; при введении такой м-РНК в рибосому синтезируется белок, состоящий из всего одной аминокислоты – той, что кодирует этот кодон.

18.Биосинтез белка

Трансляция – перевод генетического кода с языка последовательности нуклеотидов РНК- копии гена в аминокислотную последовательность белка.

Трансляция происходит на рибосоме – органелле клетки, состоящей из двух субъединиц (большой и малой). Молекула м-РНК находится между большой и малой субъединицами, причем рибосома может передвигаться вдоль м-РНК от 5’ к 3’ – концу. Аминокислоты, необходимые для синтеза, поставляются аминоацил-т-РНК, образующимися при взаимодействии аминокислоты и т-РНК в присутствии фермента аминоацил-т-РНК-синтетазы. При этом специфичность взаимодействия определенных т-РНК с определенными аминокислотами определяется исключительно специфичностью фермента, а не антикодоном т-РНК.

Аминоацил-т-РНК закрепляются на м-РНК за счет взаимодействия между кодоном и антикодоном; обычно соединяются комплементарные пары оснований, хотя в некоторых случаях возможно также связывание антикодона, содержащего одно некомплеметарное к кодону основание. На стадии инициации инициаторная метиониновая т-РНК, а также «следующая» по коду т-РНК связываются с соседними кодонами м-РНК, после чего происходит перенос фрагмента метионина на соседнюю т-РНК с образованием пептидной связи.

Затем происходит аналогичный процесс, катализируемый ферментом пептидил-трансферазой, содержащимся в рибосомах (образование пептидной связи не требует АТФ – энергия запасается раньше, на стадии образования аминоацил-т-РНК). В результате пептидная цепь постепенно наращивается от N-конца к С-концу. Участок рибосомы, содержащий аминоацил-т-РНК, называют А-участком, а участок, содержащий т-РНК, несущую пептид, - Р-участком. После переноса пептидного фрагмента на очередную аминокислоту рибосома сдвигается на три кодона вдоль м-РНК так, чтобы т-РНК, несущая пептид, вновь оказалась на Р-участке. Для ускорения процесса трансляции используют полисомы – комплексы, состоящие из большого числа рибосом.

Кодонам-терминаторам не соответствует ни одна аминокислота, поэтому при достижении одного из таких кодонов пептидная цепь обрывается, а образовавшийся белок отрывается от т-РНК.

19. Плазмиды и вирусы. ВИЧ.

Плазимида – небольшая кольцевая молекула ДНК, состоящая из нескольких тысяч нуклеотидов. Плазмиды обычно содержатся в прокариотических клетках и являются наиболее распространенным вектором в генной инженерии.

Вирус – супрамолекулярный химический комплекс, не являющийся живой субстанцией, но способный при попадании в клетку существенно влиять на ее жизнедеятельность. Все вирусы несут определенный генетический материал, находящийся в одно- или двухнитевых ДНК или РНК. Общей задачей всех вирусов является внедрение своего генетического материала в клетку, приводящее к синтезу специфических белков вируса. В дальнейшем эти белки способствуют образованию новых вирусных частиц, которые затем выходят из клетки, разрушая ее мембрану. Специфические вирусы, атакующие бактерии, называют бактериофагами; они, как и плазмиды, нашли применение в генной инженерии.
Механизм внедрения генетического материала вируса в геном клетки зависит от строения вируса. Если вирус содержит двухнитевую ДНК, то, попадая в клетку, она участвует в процессе транскрипции точно также как ДНК клетки. В результате этого начинается синтез специфических белков вируса, которые зачастую могут выступать в роли праймеров, упрощая процесс транскрипции.
Если вирус содержит однонитевую ДНК, то она в первую очередь, участвует в процессе образования репликативной формы ДНК (достраивании второй цепи). При этом исходная цепь – «+»-цепь, образующаяся – «-»-цепь. Затем на минус-цпи начинается выстраивание новых плюс-цепей, которые ибо превращаются в новые репликативные формы ДНК, либо входят в состав новых вирусных частиц.
РНК-содержащие вирусы могут иметь как плюс-, так и минус-цепи РНК. Отличие плюс-цепей состоит в том, что они могут выступать в качестве м-РНК для производства белков на рибосомах клетки. В обоих случаях новые цепи РНК выстраиваются на старых при помощи особого фермента – РНК-зависимой РНК-полимеразы (РНК-репликазы), которая либо синтезируется рибосомами на плюс-цепях, либо входит в состав вируса. Минус-цепи, выстраиваемые таким образом на плюс-цепях, участвуют в образовании новых плюс-цепей, при помощи которых синтезируются белки вируса или образуются новые вирусные частицы.
Наконец, отдельный класс вирусов составляют ретровирусы, содержащие фермент РНК-зависимую ДНК-полимеразу, обеспечивающую обратную транскрипцию – синтез нити ДНК на матрице вирусной РНК. Затем тот же фермент постепенно разрушает исходную цепь РНК, а однонитевая ДНК достраивается до двунитевой ДНК. Последняя встраивается в ДНК клетки-хозяина и принимает участие в процессах транскрипции.

ВИЧ – вирус иммунодефицита человека. Вызывает СПИД. ВИЧ состоит из двух молекул однонитевой РНК, каждая из которых содержит около 9200 нуклеотидов. ВИЧ является ретровирусом и инфицирует главным образом Т-хелперы (один из типов клеток Т-лимфоцитов, отвечающих за клеточный иммунитет), что приводит к постепенному разрушению иммунной системы. Основная особенность ВИЧ – длительный латентный период (10 лет).

20. Регуляция транскрипции генов.

Гены в ДНК можно разделить на конститутивные (работающие в постоянном режиме – всегда подвергаемые транскрипции) и регулируемые. Регуляция транскрипции регулируемых генов осуществляется при помощи специальных регуляторных белков. Белки, подавляющие транскрипцию, - репрессоры, а активирующие – активаторы (индукторы). Механизм действия регуляторных беков связан с образованием комплекса с определенным участком ДНК – оператором. Оператор располагается рядом с промотором и затрудняет взаимодействие промотора с РНК-полимеразой, подавляя транскрипцию.

Участок ДНК, подвергаемый регуляции, называется опероном и включает в себя: оператор, промотор, кодирующая часть и терминаторы транскрипции.

В эукариотах связи между операторами и регулируемыми генами более сложны – одним белком может контролироваться активность сразу нескольких генов, однако зачастую активность одного гена определяется сразу несколькими регуляторными белками.

Промотор перекрывается с оператором. Оператор связывается с белком (активатор – пример: белок для гидролиза лактозы и лактоза (в к-ве активатора) – «самоубийство», репрессор – пример: триптофан и белок, кот. его синтезирует). Если репрессор – РНК-полимераза не может связаться с промотором, а активатор – облегачает связывание.

Гены-домохозяйки (конститутивные) – пептидаза (расщеплять белки), амилаза (сахара), липаза (жиры). Нет белков-активаторов, потому что они постоянно синтезируются.

Оперон – промотор + оператор + белок + кодирующая часть.

Не говорить: РНК заканчивается на кучу урацилов, причем чем больше урацилов, тем меньше стойкость.

21. Генетическая инженерия. Рекомбинантные ДНК.

Основные задачи: искусственный синтез белков на рибосомах живой клетки; селективное изменение типичных белков клетки за счет изменения ее генетического кода. Для этого в ДНК клетки нужно ввести соответствующие необходимому белку гены. По этой причине главная задача: отбор необходимых генов, их размножение и внедрение в клетку для выработки белка.

Отбор генетического материала производится несколькими способами: можно синтезировать искомую последовательность нуклеотидов хим. методами, можно выделить из клеток, содержащих этот ген, все м-РНК (и перевести их в ДНК с помощью обратной транскрипции – ретровирусы), или вырезать (с помощью ферментов) нужный участок ДНК. В последних двух случаях получить нужный ген в чистом виде почти невозможно.

Для размножения генетического материала необходимо ввести его в клетку, используя т.н. *вектора* – молекулы ДНК. Свойства векторов: способность к автономной репликации, наличие уникальных участков расщепления под действием эндонуклеаз рестрикции, наличие маркерных белков (соответствие генетического кода вектора белкам, обладающим специфическими свойствами). Обычно в качестве векторов используются плазмиды и вирусы (особенно бактериофаги).

Пример: встраивание гена в плазмиду, содержащую гены устойчивости к антибиотикам (ампициллину и тетрациклину). Под действием фермента, относящегося к группе эндонуклеаз рестрикции (ферменты, селективно расщепляющие нуклеотидную цепь в одном конкретном месте), такая плазмида раскрывается на участке, ответственном за устойчивость к ампициллину. При этом образуются липкие концы (однонитевые фрагменты), к которым легко может присоединиться нуклеотид, обладающий необходимым набором сопряженных оснований. Если встраиваемый генетический набор получен хим. путем, то внедрение таких наборов на концах цепи не составляет труда; если же фрагмент был выделен из клетки, то необходимые липкие концы образуются под действием фермента дезоксинуклеотидил-трансферазы. После соединения липких концов, в результате действия ДНК-полимеразы и ДНК-лигазы возникшие в ходе синтеза «дырки» зашиваются, образуется новая плазмида, содержащая необходимый ген и называемая рекомбинантной ДНК. Полученные таким путем плазмиды внедряются в клетку-хозяина, где начинают реплицироваться.

Между тем, исследуемый ген внедряется далеко не во все плазмиды; для отбора необходимых плазмид требуется процедура, называемая клонированием ДНК или скринингом. В принципе, клон – генетически идентичное потомство одной клетки, потому само понятие «клонирование ДНК» бессмысленно. Однако традиционно процесс размножения генетического материала называют именно так, поскольку в ходе размножения рекомбинантных ДНК образуются клоны – семейства генетически идентичных клеток. Для отбора необходимых клеток используют свойства устойчивости к антибиотикам: вначале клоны помещают на тетрациклин (отсеиваются плазмиды, в которых внедрение произошло в неправильном месте), затем – на ампциллин (разделяются рекомбинантные ДНК и исходные плазмиды). Существует и другой способ отбора, называемый молекулярной гибридизацией: к характерному участку встраиваемого гена присоединяют последовательность комплементарных нуклеотидов, несущую радиоактивную метку, после чего отделяют радиоактивные ДНК от нерадиоактивных. Подобная операция особенно необходима в том случае, когда используемый ген. материал не является чистым, а выделен из ДНК или м-РНК; вначале образуется т.н. библиотека комплементарных ДНК (кДНК), из которых необходимо выбрать нужную.

Таким путем осуществляется размножение генетического материала; если целью исследования является синтез белка на природной рибосоме, то в к-ве вектора выбирают плазмиду, разрывающуюся вблизи участка, содержащего активный промотор. В результате на рекомбинантной ДНК активирована транскрипция встроенного участка, что приводит к активной экспрессии внедренного гена.

22. Структура генов эукариот. Сплайсинг РНК.

Далеко не все гены эукариот кодируют необходимую для клетки информацию. Установлено, что достаточно протяженные участки м-РНК (*интроны*) вообще не кодируют аминокислоты, а являются не несущими код вставками. Наиболее ярко подобная ситуация проявляется в хромосомах эукариот, где ДНК находится в форме переплетенных друг с другом цепей, причем участки, несущие информацию (*экзоны*), занимают лишь около 10% длины этих цепей. По этой причине во всех эукариотах в ходе транскрипции вначале образуются пре-м-РНК, точные копии одной из цепей ДНК, которые затем освобождаются от интронов при помощи сплайсинга.

Хим. механизм сплайсинга – атака ОН группы аденозильного остатка интрона по фосфодиэфирной связи на 5’-конце интрона; интрон образует петлю, а присоединенный к 5’ концу экзон атакует 3’-конец интрона. В результатеинтрон отделяется в виде петли, а экзоны соединяются в общую цепь. Катализатором этого процесса считают саму молекулу РНК – один из примеров катализа рибозимов.

23. Полимеразная цепная реакция

ПЦР – способ воспроизведения генетического материала без участия векторов и клеток-хозяев. Для осуществления такой реакции необходимы два праймера и термостабильная ДНК-полимераза (выделяемая из термофильных микроорганизмов). Вначале исходную ДНК нагревают до 90*С для разделения цепей, затем смесь охлаждают – происходит присоединение праймеров, после чего на этих праймерах начинается синтез новых цепей. Многократное воспроизведение достигается повторением этой процедуры; каждый раз в промежутке между двумя праймерами образуется пара новых цепей, полностью идентичных исходным.

24. Рак как нарушение системы передачи сигнала

Рак – заболевание, вызываемое неконтролируемым делением клеток. Причиной рака является нарушение системы передачи сигнала из-за особого белка RAS. RAS является так называемым ро-белком, то есть работает не с АТФ, а с ГТФ (гуанидилтрифосфорной к-той). В обычном, неактивном состоянии RAS связан с ГДФ, однако под действием особого фактора обмена (guanine nucleotide exchange factor) GEF может происходить замена ГДФ на ГТФ, активирующая RAS.

Процесс начинается с прихода сигнала EDF (фактора роста клеток) на рецепторы тирозинкиназы; она фосфорилируется и связывается с GEF, который, в свою очередь, связывается с RAS, закрепленным в неактивном состоянии на внутренней поверхности клеточной мембраны. В результате этого закрепленная на RAS GDP обменивается на GTP, которая фосфорилирует MAP-киназу – киназу, отвечающую за ередачу сигнала деления и роста. В результате каскад MAP-киназ многократно усиливает сигнал на рост; клетка начинает неконтролируемо делиться.

25. Системы передач сигналов в клетку

Виды сигналов:

1). Гормоны (подходит снаружи к клетке, соединяется с белком, белок внутри меняет конформацию, и что-то начинает происходить – например, гидролиз АТФ. Рецепторами гормонов являются трансмембранные белки, активирующие замещение GDP на GTP .)

2). Нейротрансмитторы – системы передачи между нейронами. Особенностью нейронов является наличие отростков – дендритов (получение сигнала) и аксонов (передача сигнала). Между отростками нейронов имеются щели, называемые синаптическими (процесс передачи сигнала от одного нейрона к другому – синапс). В спокойном состоянии предсинаптическая мембрана (мембрана передающего аксона) поляризована за счет действия Na-K насоса. При поступлении сигнала мембрана деполяризуется, что приводит к открытию Ca2+ - каналов, располагающихся на окончании аксона. Ионы кальция поступают внутрь аксона, инициируя процесс экзоцитоза – выброса нейротрансмиттеров в синаптическую цепь. В качестве нейротрансмиттеров могут выступать ацетилхолин, некоторые аминокислоты. Нейротрансмитторы проходят через синаптическую щель и попадают в соответствующие рецепторы. Для ацетилхолина 2 типа рецепторов: мускариновый и никотиновый. Оба при получении сигнала открывают на короткое время ионные каналы для натрия и калия, создавая на постсинаптичекой мембране разность потенциалов, передаваемую далее. Избыток ацетилхолина расщепляется до холина и уксусной к-ты ферментом ацетилхолин-эстеразой.

3). Свет (электромагнитное возбуждение, кот. Сопровождается каким-то переходом во вторичной или третичной стр-ре белка), запах (аналогично с гормонами), вкус (аналогично)

4). Антигены

5). Запуск развития и запуск деления (пример – рак – неправильный запуск деления)

6). Факторы роста

7). Механика

Виды ответов:

1). Жизнь (ничего не меняется)

2). Деление (клетка делится, причем развитие двух новых клеток происходит по-разному)

3). Смерть

А). Апоптоз (самосмерть) – часто ответ на действие вируса; при таком разрушении клетка постепенно разрушается, а фагоциты легко перерабатывают ее остатки – не возникает воспалительный процесс. Б). Некроз (разрезали бензопилой)

Система передачи сигналов:

1). Ионные каналы

2). Диффузия (прямой транспорт)

3). Киназы – трансмембранные белки (фосфорилируется серин или треонин), подвергающиеся изменениям внутри клетки при получении сигнала извне (гормоны)

Механизм действия: при поступлении сигнала на внешние рецепторы кназы внутри клетки гидролизуется одна молекула АТФ, а отщепившийся фосфатный остаток фосфорилирует киназу. При этом изменяется конформация белка, а киназа становится ферментом – фосфокназой (протеинкиназой). По окончании действия сигнала фосфокиназа дефосфорилируется под действием фермента из класса фосфатаз, происходит снятие сигнала.

В реальности в клеточную мембрану встроено множество киназ, образующих каскад; при поступлении на такой каскад сигнала происходит многократное усиление (амплфикация). Подобные каскады являются одной из основных частей нейронных систем.

Нейронные системы. Слои:

1). Входной (первичная обработка информации – выделение нужного сигнала рецепторами)

2). Скрытый (последующая обработка информации – передача сигнала через мембрану при помощи киназ). 3). Выходной (интеграция сигнала)

Свойства системы передачи сигнала:

1). Специфичность (осуществляется за счет высокой селективности рецепторов)

2). Амплификация (способность к усилению за счет киназ)

3). Адаптация (снятие сигнала – дефосфорилирование)

4). Интеграция (объединение сигналов)

26. Ген с точки зрения химика. Гены антител.

Ген – неопределимое понятие. Ген – сегмент ДНК, который кодирует информацию для образования функционального продукта. Геном совокупность всех генов.
Выделяют регуляторную и структурную (кодирующую) части гена. Кроме этого, гены могут содержать некодирующие области – интроны. Количество интронов определяет частоту деления клетки. В клетках прокариот интронов нет, поэтому они делятся крайне часто и быстро; в клетках эукариот обычно содержится большое кол-во интронов – зачастую они не делятся вообще.

Гены антител (имунноглобулина) отличаются от всех остальных генов. По сути даже нельзя говорить о едином гене иммуноглобулина (Ig), так как этот белок состоит из различных доменов[1]. Его составляющие вариабельные (V-) и константные (C-) участки лёгких цепей иммуноглобулинов (L) отделены друг от друга участком последовательности ДНК (≈ 300 тыс. оснований), а тяжёлые цепи иммуноглобулинов (H) могут находится вообще на другой хромосоме.

О генах антител в неперестроенном виде говорят, что они имеют «конфигурацию зародышевой линии». В таком виде находится ДНК в половых клетках (сперматозоидах и яйцеклетках) и во всех клетках организма, кроме зрелых лимфоцитов (в клетках печени, почек, поджелудочной железы, в других лимфоцитах, например, в фагоцитах). В каждом созревающем лимфоците мыши и человека ДНК подвергается случайной специфической соматической рекомбинации. Это может чем то напоминать мутацию, но имеет принципиально другую природу нежели хромосомные мутации.

1. **Ферменты как белковые катализаторы. Основные отличия ферментативного катализа от традиционного химического. Ферменты в химии**

Ферменты – высокоактивные белковые катализаторы.
Отличия ферментативного катализа:
1). Высокая активность (разница в скорости одной и той же реакции, катализируемой ферментом или небелковой частицей, может составлять 10-15 порядков)
2). Высокая селективность (ферменты обычно катализируют только один конкретный процесс)
3). Высокая эффективность (отсутствие побочных продуктов и дисбаланса «продукт-субстрат»

Ферменты в химии:
1). Физ.химия исследует структуры белков и активных центров методами РСА, ЯМР, ЭПР, а также кинетику и механизмы действия ферментов
2). Органика – тонкий орг. синтез, крупномасштабные синтетические процессы
3). Аналитика – иммуноферментный анализ, биолюминесцентный анализ, биосенсоры
4). Неорганика – исследует поведение ионов металлов в активных центрах
5). Хим. технология – производство лекарств, аминокислот и др. веществ
6). Электрохимия – биоэлектрокатализ, то есть ферментативный катализ электродных процессов
7). Коллды – изучает белки как коллоидные частицы, а также поведение ферментов в обращенных мицеллах (мицеллярная энзимология).

2. Источники ферментов. Нахождение ферментов в природных объектах, локализация ферментов в клетке.

Ферменты выделяют из живых клеток (уреаза), из тканей животных, растений, биологических жидкостей (кровь, лимфа). Для получения некоторых труднодоступных ферментов используют методы генной инженерии. Из исходных материалов ферменты экстрагируют солевыми растворами.

Ферменты были выявлены во всех видах живых организмов. Большинство ферментов имеют значение только с научной или медицинской точки зрения, однако, некоторые из них используются в сельскохозяйственных и промышленных целях уже многие годы. В таблице указаны некоторые ферменты, используемые в промышленном масштабе и их источники в природе.

Важно отметить, что животные, растения и микроорганизмы синтезируют большое количество ферментов, используемых в промышленности. Некоторые ферменты животного или растительного происхождения используются и в сельском хозяйстве, однако, чаще других используются ферменты, имеющие микробиологическое происхождение.

3. Биосинтез ферментов. Посттрансляционная модификация. Сборка ферментов. Кофакторы и простетические группы.

Сборка ферментов (из белка сделать фермент):

1). Сворачивание белка
2). Посттрансляционная модификация
3). Встраивание кофакторов
4). Формирование активных центров

Посттрансляционная модификация – химическая модификация после трансляции. Расширяет функциональный состав белка посредством присоединения ацетатных и фосфатных групп, а также липидов и сахаров. Может включать изменение хим. природы аминокислоты или образование дисульфидной связи в белке.

Основные типы посттрансляционной модификации:

1). Присоединение различных функциональных групп (метил-, ацетил- и фосфатных)
2). Присоединение липидов и углеводов
3). Изменение стандартных аминокислот на нестандартные (образование цитруллина)
4). Структурные изменения (дисульфидные мостики между цистеинами)
5). Удаление части белка как в начале (сигнальная последовательность), так и в отдельных случаях в середине (инсулин)
6). Добавление небольших белков, кот. влияют на деградацию белков (сумоилирование и убиктивирование – присоединение убиктивин-лигазами 1 или нескольких мономеров убиктивина с помощью ковалентной связи к боковым аминогруппам белка-мишени).

Простетические группы- небелковая часть фермента. Их содержат двухкомпонентные ферменты.

Пример: пируватдекарбоксилаза, каталитическое расщепление пировиноградной к-ты на CO2 и CH3-C(O)H. Простетическая группа образована молекулой тиамина и 2 остатками фосфорной к-ты.

Характерной особенностью двухкомпонентных ферментов является то, что в отдельности компоненты сложных ферментов не обладают выраженной кат. Активностью. Во взаимодействии компонентнов белок резко повышает кат. активность добавочной группы, присущую ей в свободном состоянии в очень малой степени. Добавочная же группа стабилизирует белковую часть и делает ее устойчивой к денатурирующим воздействиям. Т.о., хотя простетическая группа является каталитическим центром, непосредственным исполнителем кат. функции, действие простетической группы возможно только при участии полипептидных цепей белковой части фермента.

Кофактор – малая молекула небелковой природы, специфически соединяющаяся с соответствующим белком и играющая роль активного центра:

1). Прочно (простетическая группа). Константа – 10^(-12)
2). Непрочно (кофермент). 10^(-4).

Отличия:

1). Если к белку добавить кофактор, то он начнет работать только в случае коферментов. Для простетической группы надо сильно связать – большой комплекс мер
2). В коферментах – кофактор выступает как субстрат.

4. Энергия и силы в биосистемах. Взаимодействия в белковой молекуле: ковалентные, водородные связи, гидрофобные и электростатические взаимодействия.

Ковалентные связи – пептидная и дисульфидные мостики. Характерные значения энергии ковалентных связей (дельта G гидролиза): (-5) – (-30) кДж/моль.

Водородные связи – слабые связи, возникающие за счет притяжения несущего малый положительный заряд атома водорода к атомам, заряженным отрицательно. Характерные значения – 0,1-2 ккал/моль.

Образуются:

1). Между группами, входящими в состав боковых цепей и способными к формированию водородных связей

2). Между атомами N и O, принадлежащими пептидным группам остова

3). Между полярными остатками, расположенными на п-ти молекулы белка, и молекулами воды

Примеры:

Гидрофобные взаимодействия: возникают за счет перестройки системы водородных связей воды вблизи неполярной гидрофобной группы. Вода вытесняет гидрофобную молекулу или группу (А) в гидрофобную область белка. Величина гидрофобного

взаимодействия характеризуется величинами $\Delta G = -RT\ln[A]_{белок}/[A]_{вода}$ или

$\pi = \lg[A]_{белок}/[A]_{вода}$ – константа гидрофобности Ганча. В пересчете на одну CH2 – группу энергетический эффект гидрофобного взаимодействия составляет -0,57 ккал/моль. (чем меньше радиус, тем больше гидрофильность)

Электростатические взаимодействия: достаточно слабые и проявляются лишь в сильно полярных растворах, где протонированная и поэтому заряженная положительно аминогруппа притягивается к депротонированной и заряженной отрицательно карбоксильной группе – образуется солевой мостик. Характерные значения энергий – (-3)-(-4) ккал/моль.

5. Методы выделения биополимеров. Методы фракционирования белков. Хроматография, электрофорез, изоэлектрическая фокусировка. Критерии чистоты ферментных препаратов

Основные трудности:
1). Большое разнообразие и незначительные различия в структуре.
2). Малые количества исследуемого в-ва (миллиграммы, микрограммы)
3). Неустойчивость, лабильность структур
Методы фракционирования:
1). Использование орг. растворителей – понижение растворимости многих белков
2). Использование минеральных солей – при повышении концентраций солей в р-ре происходит сжатие ионных атмосфер, образуемых противоионами белка, что способствует сближению их до критического расстояния, на которых межмолекулярные силы ван-дер-ваальсового притяжения превышают кулоновские силы отталкивания противоионов. Это приводит к слипанию белковых частиц и выпадению в осадок.
3). Дробное осаждение
4). Центрифугирование
5). Гельфильтрация с использованием молекулярных сит (ионы, превышающие пористость гелевой структуры не проходят, а более мелкие ионы проникают)
6). Диализ – отделение от низкомолекулярных компонентов при пропускании через полупроницаемые мембраны
7). Хроматография (гель-проникающая, ионообменная, афинная)
8). Ультрафильтрация
Виды хроматографии: *газожидкостная* (распределение в-ва между газом и жидкостью), *афинная* (распределение в-ва между фазами за счет хим. взаимодействия с носителем; например, белки хорошо удерживаются целлюлозой, активированной бромцианом), *ионообменная* (распределение анионов и катионов на ионообменной смоле. Позволяет разделить ионы и полярные молекулы на основании зарядов разделяемых молекул. Принцип: неподвижная фаза имеет заряженные функциональные группы, которые взаимодействуют с анализируемыми молекулами противоположного заряда.), *тонкослойная* (распределение в-ва между подвижной и неподижной фазами по полярности; если сорбент полярен, а растворитель неполярен, то реализуется обычная ТСХ, в обратном случае – обращенно-фазовая ТСХ.)
Основные сорбенты и носители: целлюлоза и ее модификации, сефадексы, сефарозы, полистиролы, полиакриламиды, силикагели.
Электрофорез – разделение заряженных частиц в электрическом поле. Условие электрофореза: $fv=neV$ (f –коэффициент вязкого трения, v – скорость перемещения частицы, V – потенциал внешнего электрического поля). На коэффициент вязкого трения влияют: величина и форма молекул, заряд; для наибольшей компенсации этих эффектов до электрофореза проводят денатурацию, хим. методами разделяя белок на отдельные аминокислотные последовательности
Изоэлектрическая фокусировка – разделение белков в среде с градиентом pH, создаваемым внешним электрическим полем. В такой среде белок движется в соответствии со знаком своего заряда до достижения изоэлектрической точки. Для поддержания градиента pH вводят так называемые амфолины – короткие полимерные молекулы, содержащие карбоксильные и аминогруппы. В электрическом поле эти молекулы расходятся по своим изоэлектрическим точкам и создают градиент pH, одновременно работая в качестве буфера.
Методы определения чистоты белковых препаратов:
1). Аналитическое ультрацентрифугирование
2). Электрофорез в нативных денатурирующих условиях
3). Иммунохимические методы
4). Определение N и C – концевых аминокислотных остатков:
А) .Метод Эдмана (обработка пептида – отщепление одной аминокислоты)
Б). гидразинолиз

6. Химическая модификация белков (ферментов). Виды ферментных препаратов.

Зачем нужно:

1). Иммобилизация ферментов (обычно пришивают к инертной поверхности с помощью адсорбции или тиолов).
2). Изменение структуры
3). Изменение гидрофобности
4). pI (изменение)
5). Защита функциональных групп
6). Введение новых функциональных групп
7). Введение метки

8.**Классификация ферментов**

1). Оксидоредуктазы (ОВР)

2). Трансферазы (перенос радикала от донора к акцептору)

3). Гидролазы (гидролиз). По структуре активного центра разделяют на сериновые, цистеиновые, аспартатные, металлсодержащие.

4). Лиазы (негидролитическое расщепление субстрата с образованием двойной связи)

5). Изомеразы (изомеризация)

6). Лигазы (реакции конденсации, сопряженные с гидролизом АТФ или ГТФ)

12. Активные центры ферментов. Каталитические и сорбционные подцентры. Основные структурные элементы. Специфичность и эффективность ферментативного катализа.

Активный центр – группа атомов, осуществляющих сорбцию, химическую активацию и трансформацию реагирующего вещества. Обычно эти процессы происходят в разных частях активного центра, что позволяет выделить в нем сорбционный и каталитический подцентры. Механизм химической активации в активном центре фермента связан, вероятно, с тем, что в силу особенностей строения белка отдельные участки фермента по-разному взаимодействуют с разными атомами реагирующей молекулы, растягивая ее связи и создавая напряжения – хим. активность повышается.

Взаимодействие фермента с реагирующей молекулой обычно является гидрофобным, электростатическим или образовано водородными связями и очень сильно зависит от строения фермента, что обусловливает высокую специфичность. Для переходного состояния предлагается двухцентровая модель.

Наиболее важная аминокислота при формировании активных центров – глицин.

Аспарагиновая, гистидин и аргинин – часто встречаются – нуклеофильно-электрофильные агенты.

Цистеин и пролин – структурообразующие аминокислоты.

Каталический цикл – последовательность большого числа отдельных элементарных стадий, которые являются быстрым, нелимитирующими (за счет реализующихся гидрофобных, электростатических взаимодействий, водородных связей), а потом приближены к переходному состоянию с минимальной энергией.

Предложено несколько объяснений высокой специфичности ферментов:

1). Концепция «ключ-замок» - характерное строение активного центра фермента, допускающее только соответствующий ему по строению субстрат.

2). Концепция «дыбы» - фермент активирует субстрат, растягивая и дестабилизируя связи.

3). Концепция индуцированного соответствия – только «отдельные» субстраты способны вызвать необходимые конформационные изменения в белке.

Кроме обычной специфичности по субстрату ферменты зачастую обладают стереоспецифичностью – действуют только на один из энантиомеров; причина такого эффекта состоит в ориентации гидрофобного фрагмента, который отвечает за связывание субстрата путем гидрофобного взаимодействия.

13. Активные центры ферментов и механизмы катализируемых реакций.
Активный центр – группа атомов, осуществляющих сорбцию, химическую активацию и трансформацию реагирующего вещества. Обычно эти процессы происходят в разных частях активного центра, что позволяет выделить в нем сорбционный и каталитический подцентры. Механизм химической активации в активном центре фермента связан, вероятно, с тем, что в силу особенностей строения белка отдельные участки фермента по-разному взаимодействуют с разными атомами реагирующей молекулы, растягивая ее связи и создавая напряжения – хим. активность повышается.
Взаимодействие фермента с реагирующей молекулой обычно является гидрофобным, электростатическим или образовано водородными связями и очень сильно зависит от строения фермента, что обусловливает высокую специфичность. Для переходного состояния предлагается двухцентровая модель.
Наиболее важная аминокислота при формировании активных центров – глицин.
Аспарагиновая, гистидин и аргинин – часто встречаются – нуклеофильно-электрофильные агенты.
Цистеин и пролин – структурообразующие аминокислоты.

14. Лекарственные препараты. Ферменты в медицине.

Основные мишени:

1). Бактерии (антибактериальные химиотерапевтические средства – антибиотики) – пенициллины

2). Ферменты (лекарства являются ингибиторами определенных ферментов)

3). Рецептор, ионные каналы – ингибиторы ацетилхолинэстеразы.

Причины заболеваний:

1). Нарушение синтеза клеточной стенки (пенициллины, цефалоспорины, циклосерин)

2). Нарушение проницаемости цитоплазматической мембраны (полимиксины)

3). Нарушение синтеза РНК (рифампицин)

4). Нарушение синтеза белка на уровне рибосом (тетрациклины, левомицетин, макролиды, аминогликозиды)

Лекарственные препараты на основе ферментов:

1). Сульфаниламидные препараты:

Конкурентное ингибирование дегидромеруатсинтетазы. Следствие: нарушение синтеза дегидрофолиевой к-ты – разрушение клеточной стенки

2). Левомицетин

Блокирует рибосомальный синтез белка, ингибирует фермент пептидилтрансферазу.

3). *Ингибиторы простагландин-Н-синтетазы* (PGH – катализирует синтез эйкозаноидов, стимулирующих сокращение гладомышечной ткани, биосинтез стероидных гормонов, секрецию желудочного сока, агрегацию тромбоцитов, болевые реакции и воспалительные процессы).

Аспирин Анальгин

Нестероидные противовоспалительные препараты:

1). Антибиотики:

Пенициллины – блокируют синтез пептидогликана (разрушение клеточной стенки)

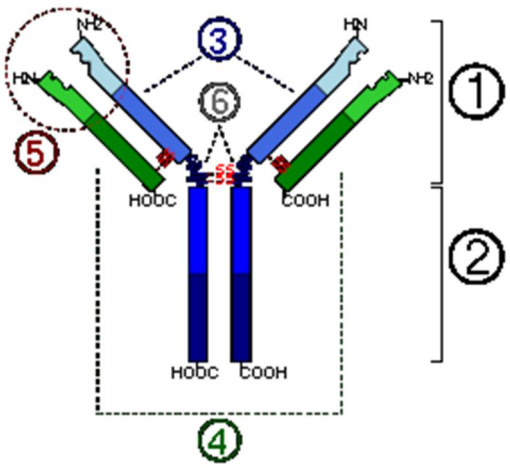
2). Левомицетин

15. Специфический и неспецифический иммунитет. Антитела.

Иммунный ответ организма может быть как неспецифичным (одни и те же частицы одинаковым образом атакуют все чужеродные объекты), так и специфичным (производится атака только на один конкретный вирус). Частицами, отвечающими за разрушение чужеродных объектов, являются фагоциты, а сам процесс уничтожения называется фагоцитозом.

Неспецифический иммунитет – обеспечивается самими фагоцитами – микрофагами (первичное разрушение вируса в клетке) и нейтрофилами. Фагоцитоз состоит из восьми стадий – хематаксис, адгезия, активация мембраны, начало фагоцитоза, образование фагосомы, слияние, уничтожение и переваривание, выброс продуктов деградации.

Известны как кислородзавимые, так и кислороднезависимые механизмы фагоцитоза (связанные с действием катионных белков, лизоцимов, лактоферринов, протеолитических других гидролитических фрментов, а также повреждением мембран микроорганизмов, расщеплением мукопептидам клеточной стенк бактерий, лишением пролиферирующих бактерий железа и простым перевариванием убитых микроорганизмов).

Специфический иммунитет связан с действием антител (иммуноглобулинов) – сложных образований, имеющих форму буквы У. Они содержат как константные, так и вариабельные области, причем именно вариабельные области ответственны за узнавание антигена, то есть специфической нуклеотидной последовательности вируса. Большие цепи антитела являются тяжелыми, а малые внешние цепи – легкими. Расщепление антитела по точке изгиба антитела происходит под действием папаина, по середине тяжелых цепей – пепсина; наконец, восстановление S-S связей приводит к полному разрушению антитела.

На первом этапе специфического иммунного ответа особые клетки В-лимфоциты узнают антиген и активируют плазматические клетки, начинающие синтез антител, специфичных по отношению к этому антигену. Антитела легко связываются как с антигеном, так и поверхностью фагоцита, притягивая вирус к фагоциту и инициируя фагоцитоз.