

6. АНАБОЛИЗМ. СИНТЕЗ УГЛЕВОДОВ, ЛИПИДОВ И БЕЛКОВ

6.1. Биосинтез углеводов

Процесс биосинтеза углеводов называют глюконеогенезом – это образование углеводов из неуглеводных продуктов. Такими продуктами являются пировиноградная и молочная кислоты, глицерин, аминокислоты и ряд других соединений. Иными словами, предшественниками глюкозы в глюконеогенезе может быть пируват или любое соединение, превращающееся в процессе катаболизма в пируват или один из промежуточных продуктов цикла трикарбоновых кислот. Большинство стадий глюконеогенеза представляет собой реакции, обратные реакциям гликолиза. Только 3 реакции гликолиза (гексокиназная, фосфофруктокиназная и пируваткиназная) необратимы, поэтому в процессе глюконеогенеза на 3 этапах используются другие ферменты. Глюконеогенез включает следующие стадии:

1. Образование фосфоенолпирувата из пирувата. Синтез фосфоенолпирувата осуществляется в несколько этапов. Первоначально пируват под влиянием пируваткарбоксилазы и при участии CO_2 и АТФ карбоксилируется с образованием оксалоацетата. Затем оксалоацетат в результате декарбоксилирования и фосфорилирования под влиянием фермента фосфоенолпируваткарбоксилазы превращается в фосфоенолпируват. Донором фосфатного остатка в реакции служит гуанозинтрифосфат (ГТФ) (рис. 70).

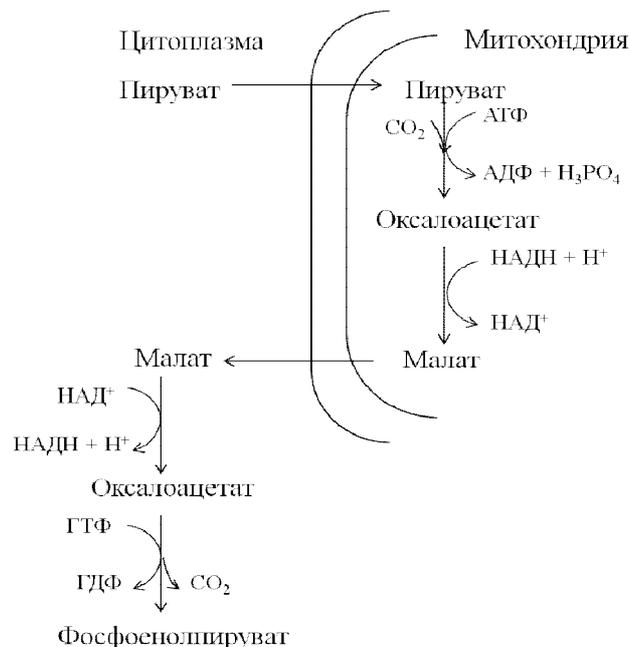


Рис. 70. Образование фосфоенолпирувата

2. Превращение фруктозо-1,6-бисфосфата во фруктозо-6-фосфат. Фосфоенолпируват, образовавшийся из пирувата, в результате ряда реакций гликолиза превращается во фруктозо-1,6-бисфосфат. Далее следует фосфофруктокиназная реакция, которая необратима. Глюконеогенез идет в обход этой эндергонической реакции. Превращение фруктозо-1,6-бисфосфата во фруктозо-6-фосфат катализируется специфической фосфатазой.

3. Образование глюкозы из глюкозо-6-фосфата. В последующей обратимой стадии биосинтеза глюкозы фруктозо-6-фосфат превращается в глюкозо-6-фосфат. Последний может дефосфорилироваться (т.е. реакция идет в обход гексокиназной реакции) под влиянием фермента глюкозо-6-фосфатазы (рис. 71).

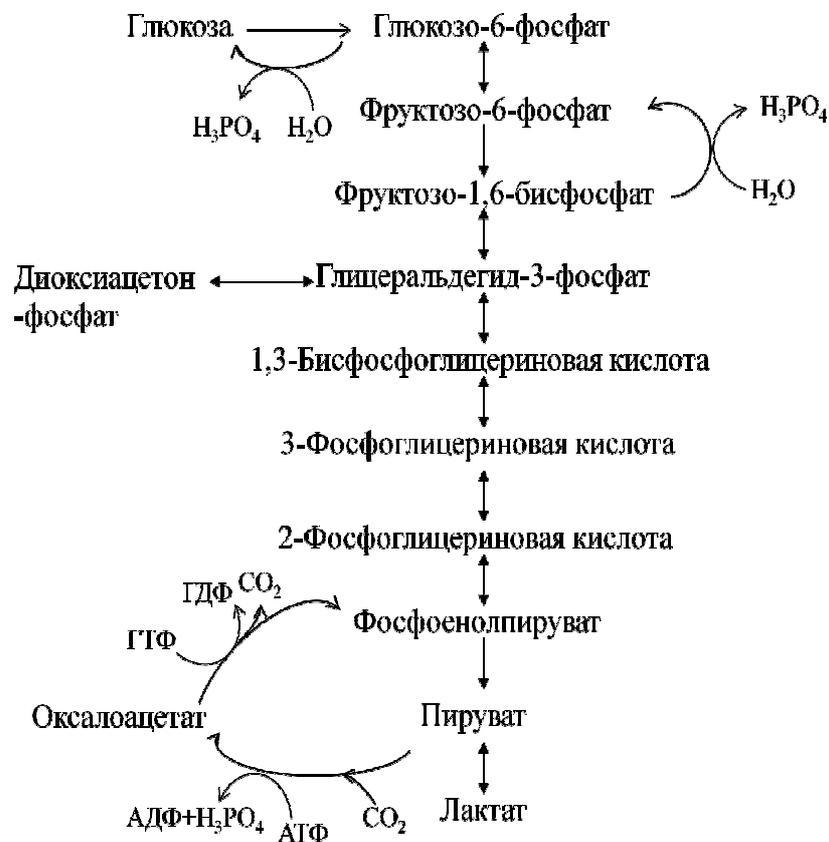


Рис. 71. Стадии глюконеогенеза

6.2. Биосинтез жирных кислот и липидов

По современным представлениям, ресинтез триглицеридов происходит в эпителиальных клетках (энтероцитах слизистой оболочки ворсинок тонкой кишки) двумя путями. Первый путь – β -моноглицеридный, суть которого состоит в том, что β -моноглицериды и

жирные кислоты, проникающие в процессе всасывания в эпителиальные клетки кишечной стенки, задерживаются в гладком ЭПР клеток. Здесь из жирных кислот образуется их активная форма – ацил-КоА, а затем происходит ацилирование β -моноглицеридов с образованием сначала диглицеридов, а затем триглицеридов. Все реакции катализируются ферментным комплексом – триглицеридсинтетазой, включающим в себя ацил-КоА-синтетазу, моноглицеридацилтрансферазу и диглицеридацилтрансферазу.

Второй путь ресинтеза триглицеридов протекает в шероховатом ЭПР эпителиальных клеток и включает определенные реакции.

Первой реакцией биосинтеза жирных кислот является карбоксилирование ацетил-КоА, для чего требуются бикарбонат, АТФ, ионы марганца. Катализирует эту реакцию фермент ацетил-КоА-карбоксилаза. Он содержит в качестве простетической группы биотин. Авидин – ингибитор биотина угнетает эту реакцию, как и синтез жирных кислот в целом.

Вторым этапом является синтез малонил-КоА. Реакция протекает в два этапа: I – карбоксилирование биотина с участием АТФ; II – перенос карбоксильной группы на ацетил-КоА, в результате чего образуется малонил-КоА. Малонил-КоА представляет собой первый специфический продукт биосинтеза жирных кислот. В присутствии соответствующей ферментной системы малонил-КоА быстро превращается в жирные кислоты. Мультиферментный комплекс, называемый синтетазой (синтазой) жирных кислот, состоит из 6 ферментов, связанных с так называемым ацилпереносящим белком (АПБ) (рис. 72).

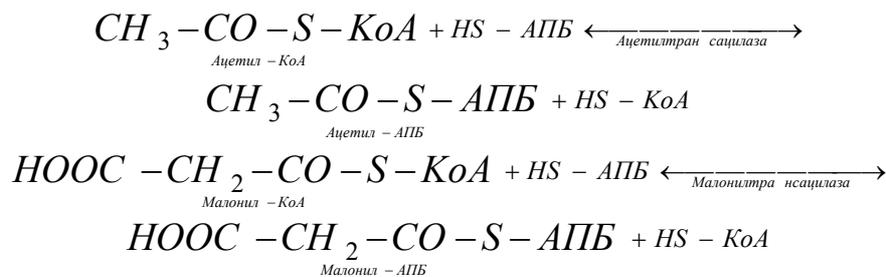


Рис. 72. Синтез и перенос малонил-КоА

На следующем этапе из ацетил-АПБ и малонил-АПБ синтезируется ацетоацетил-АПБ, который восстанавливается до β -гидроксибутирил-АПБ под действием НАДФН (рис. 73).

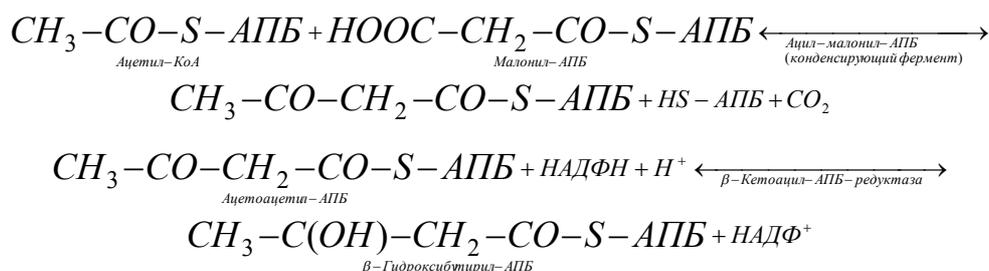


Рис. 73. Синтез и восстановление β-гидроксибутирил-АПБ

На четвертой стадии происходит образование кротонил-АПБ путем дегидратации β-гидроксибутирил-АПБ. Реакция катализируется ферментом β-гидроксибутирил-АПБ-дегидратазой. Синтезированный кротонил-АПБ восстанавливается до бутирил-АПБ под действием НАДФН (рис. 74).

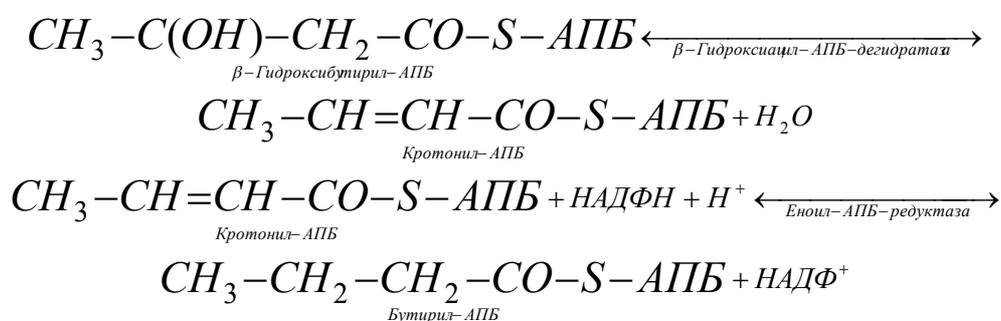


Рис. 74. Синтез и восстановление кротонил-АПБ

На пятом этапе бутирил-АПБ конденсируется с малонил-АПБ с образованием β-кетокaproнил-АПБ (рис. 75).

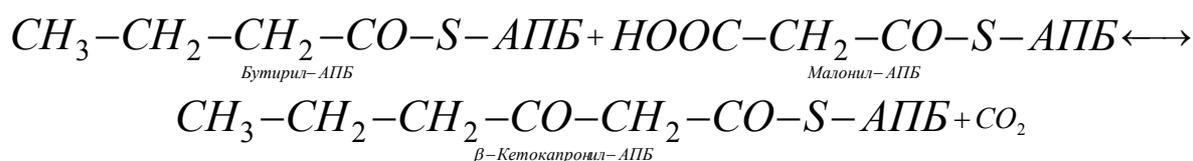


Рис. 75. Синтез β-кетокaproнил-АПБ

Далее реакции восстановления-дегидратации-гидрирования повторяются до тех пор, пока число углеродных атомов в ацильном остатке не достигнет необходимого количества. Конечный ацил-АПБ гидролизуется под действием фермента деацилазы с образованием жирной кислоты (рис. 76).



Рис. 76. Гидролиз ацил-АПБ

Синтез триглицеридов происходит из глицерина и жирных кислот (главным образом стеариновой, пальмитиновой и олеиновой). Путь биосинтеза триглицеридов в тканях протекает через образование α -глицерофосфата (глицерол-3-фосфата) как промежуточного соединения (рис. 77).

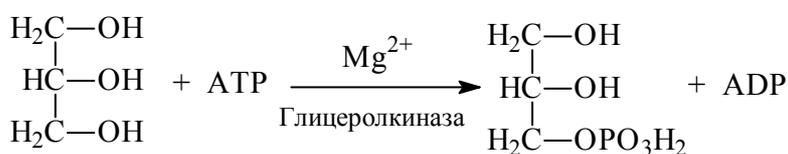


Рис. 77. Образование глицерол-3-фосфата

Образовавшийся глицерол-3-фосфат последовательно ацилируется двумя молекулами КоА-производного жирной кислоты (т.е. «активными» формами жирной кислоты – ацил-КоА). В результате образуется фосфатидная кислота (фосфатидат) (рис. 78).

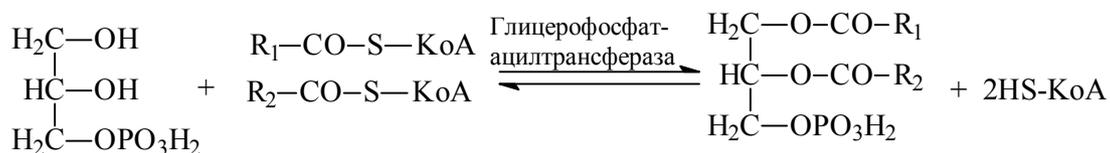


Рис. 78. Образование фосфатидной кислоты

Далее фосфатидная кислота гидролизуется фосфатидат-фосфогидролазой до 1,2-диглицерида (1,2-диацилглицерола) (рис. 79).

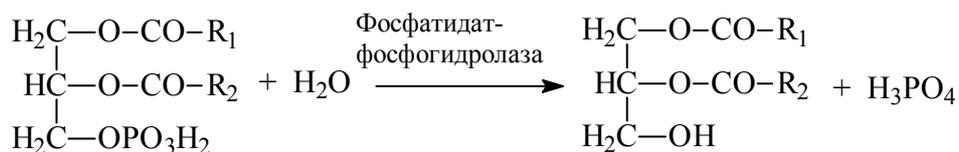


Рис. 79. Образование диглицерида

Затем 1,2-диглицерид ацилируется третьей молекулой ацил-КоА и превращается в триглицерид (триацилглицерол). Эта реакция катализируется диацилглицерол-ацилтрансферазой (рис. 80).

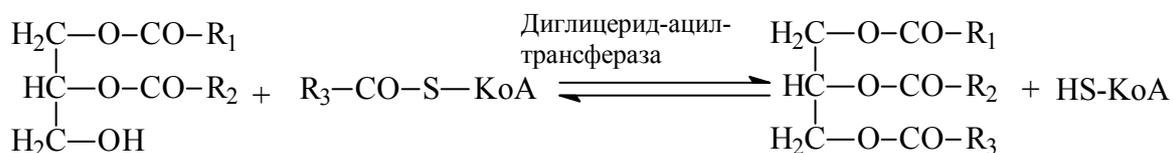


Рис. 80. Синтез триглицерида

В энтероцитах наряду с ресинтезом триглицеридов происходит также и ресинтез фосфолипидов. В образовании фосфатидилхолинов и фосфатидилэтаноламинов участвует ресинтезированный диглицерид, а в образовании фосфатидилинозитолов – ресинтезированная фосфатидная кислота. Ресинтезированные в эпителиальных клетках кишечника триглицериды и фосфолипиды, а также поступивший в эти клетки из полости кишечника холестерин (здесь он может частично эстерифицироваться) соединяются с небольшим количеством белка и образуют относительно стабильные комплексные частицы – хиломикроны (ХМ). Последние содержат около 2 % белка, 7 % фосфолипидов, 8 % холестерина и его эфиров и более 80 % триглицеридов. Печень и жировая ткань играют наиболее существенную роль в дальнейшей судьбе ХМ. Хиломикроны свободно диффундируют из плазмы крови в межклеточные пространства печени (синусоиды).

6.3. Биосинтез белка

Для синтеза белка необходимо наличие следующих компонентов – рибосом, 20 белковых аминокислот и соответствующих им 20 тРНК, набора всех ферментов, источников энергии, ионов магния, специальных белковых факторов, мРНК. Синтез белка идет на рибосомах, которые одновременно удерживают мРНК, растущую пептидную цепь и аминоацил-тРНК.

Информация о структуре белка закодирована в молекуле ДНК и передается на рибосому информационной или матричной РНК (мРНК). Согласно информации аминокислоты располагаются вдоль мРНК. Генетический код является триплетным, три нуклеотида кодируют одну аминокислоту. Эти тройки нуклеотидов назвали кодонами. Из четырех нуклеотидов можно образовать 64 кодона. Шифрует аминокислоты 61 кодон, а 3 кодона (из 64) – УАА, УГА и УАГ – не кодируют ни одну из канонических аминокислот и являются сигналами остановки (терминации) трансляции, поэтому их называют стоп-кодонами, или терминирующими

кодонами. Функцию кодона начала синтеза выполняют при особых условиях кодоны метионина и валина – АУГ и ГУГ. При синтезе белка триплеты нуклеотидов мРНК (кодона) транслируются в соответствующие им аминокислоты.

Для начала синтеза белка необходимо наличие большой и малой субчастиц, мРНК, белковых факторов инициации, инициаторной аминоацил-тРНК, ГТФ. Белковая молекула синтезируется с N-конца, цепь растет по направлению к С-концу. Но прежде чем присоединится первая, N-концевая аминокислота, с рибосомой связывается иницирующая аминокислота, которая отщепляется после окончания синтеза всей молекулы. Для бактерий такой аминокислотой является формилметионин, для эукариотических организмов – метионин.

В общем виде схема биосинтеза белка выглядит следующим образом (рис. 81):

1. При участии специального фермента, который носит название аминоацил-тРНК-синтетаза, происходит активирование аминокислоты АТФ и присоединение ее к тРНК (рис. 82). В ходе реакции освобождается пирофосфат. Каждая аминокислота соединяется со своей тРНК. Присоединение аминокислотного остатка происходит к акцепторному концу. У всех тРНК он заканчивается одинаковой тройкой нуклеотидов – ЦЦА.

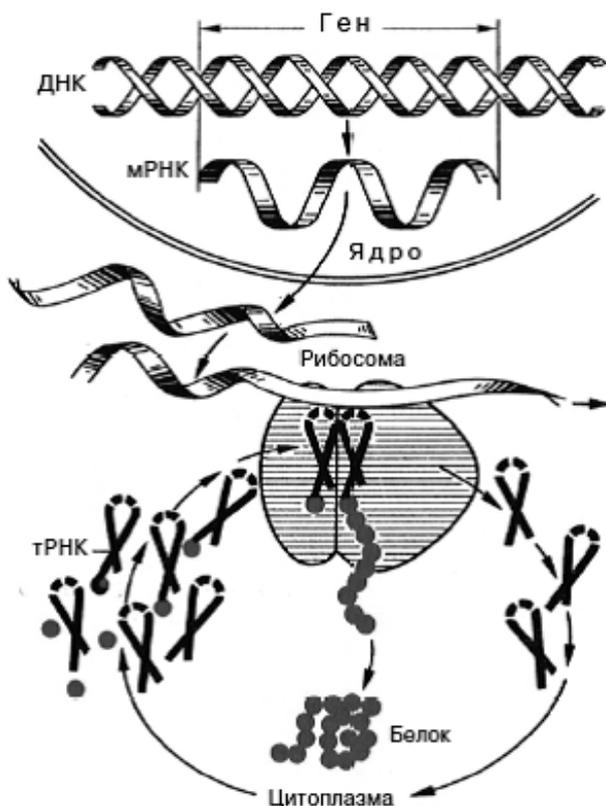


Рис. 81. Схема биосинтеза белка

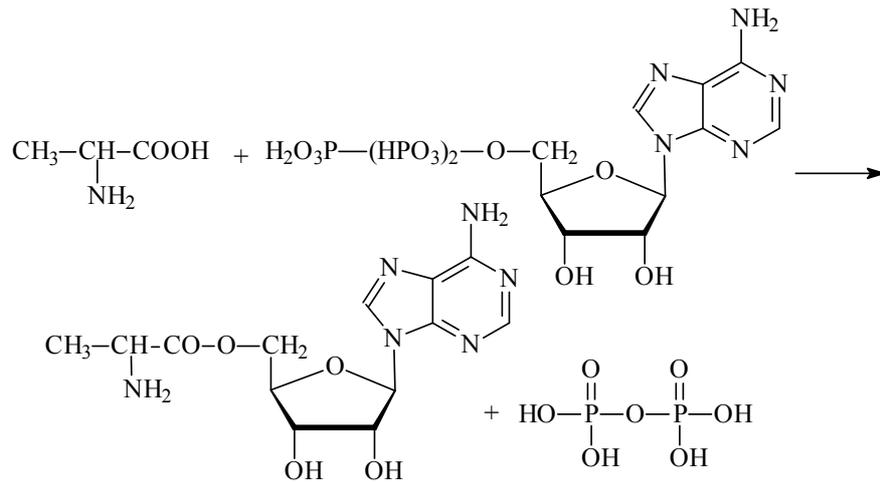


Рис. 82. Активация аминокислоты

2. Транспортная РНК переносит аминокислоту на рибосому, подготовленную к началу синтеза. Принесенная аминокислота соединяется пептидной связью с предыдущей. Перед иницирующим кодоном на мРНК располагается последовательность Шайна – Дальгарно, комплементарная 3'-концу р16S РНК малой субчастицы рибосомы. Благодаря этому взаимодействию, а также участию белков малой субчастицы (S₃, S₅, S₁₀, S₁₄) и белкового комплекса большой субчастицы (L₇/L₁₂) рибосома определяет место инициации, связывает и удерживает мРНК и в целом обеспечивает точность и эффективность начальных этапов процесса трансляции.

Белковых факторов инициации три – IF-1, IF-2, IF-3. Первым со свободной 30S субчастицей связывается фактор IF-3. Он извлекает 30S субчастицу из пула свободных 30S и 50S частиц и вызывает в ней конформационные изменения (рис. 83).

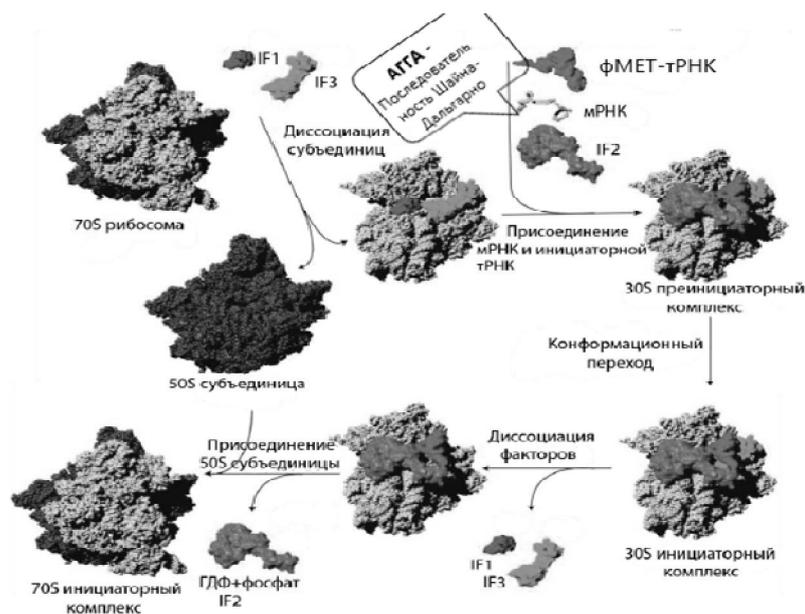


Рис. 83. Формирование инициаторного комплекса рибосомы

Затем (при участии остальных факторов) присоединяется формилметионин, связанный с тРНК и мРНК. Образовавшийся комплекс присоединяет 50S субчастицу. При объединении субчастиц формируется два центра связывания тРНК: Р-центр (пептидный) и А-центр (аминоацильный). Далее с участием фактора IF-2 происходит гидролиз ГТФ, высвободившаяся при этом энергия расходуется на стабилизацию (закрепление) формилметионил-тРНК в пептидном центре. Белковые факторы отщепляются. Таким образом, заканчивается процесс сборки функционально-активной рибосомы, готовой к синтезу пептидной цепи (рис. 84).

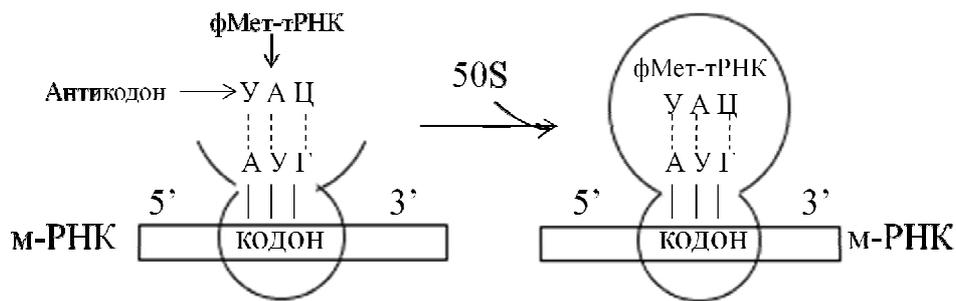


Рис. 84. Присоединение иницирующей аминокислоты

3. Постепенно происходит удлинение (элонгация) пептидной цепи. Процесс элонгации состоит в поочередном присоединении аминокислот, начиная с первой N-концевой аминокислоты, т.е. в росте пептидной цепи. Для присоединения одной аминокислоты нужны три последовательно протекающие операции (рис. 85). В ходе синтеза молекулы белка они повторяются столько раз, сколько аминокислот входит в синтезируемый белок.

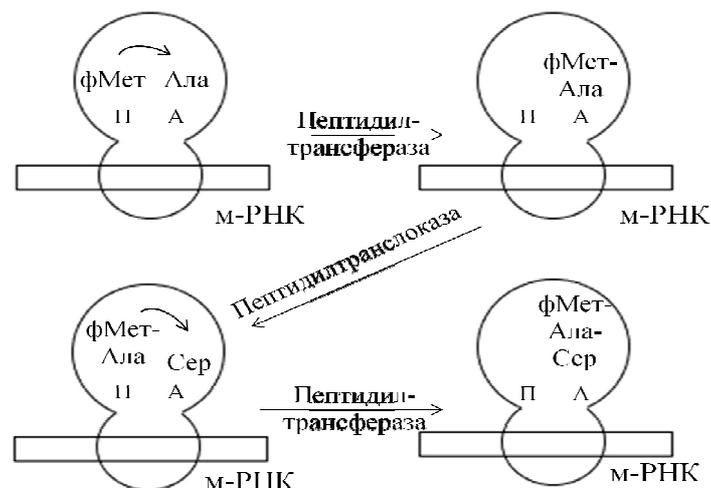


Рис. 85. Процесс элонгации

4. После завершения синтеза пептидная цепь отделяется от рибосомы, формируется молекула белка. Терминация включает завершение синтеза пептидной цепи, снятие ее с рибосомы и формирование окончательной пространственной структуры молекулы белка (рис. 86). Процесс осуществляется при участии трех специальных белков, называемых факторами терминации (или факторами освобождения) – RF-1, RF-2, RF-3. Факторы распознают стоп-кодона в мРНК. Когда рибосома продвинется по мРНК до терминирующего кодона и он окажется в зоне аминокатионного центра, один из факторов терминации связывается с ним и дальнейшее присоединение аминокатион-тРНК становится невозможным. Рост цепи прекращается. Считается, что фактор терминации не только останавливает рост пептидной цепи, но и стимулирует пептидилэстеразную активность белков рибосомы. Полипептидная цепь отделяется от тРНК и сходит с рибосомы. Одновременно происходит отделение тРНК и мРНК, а сама рибосома диссоциирует на 30S и 50S субчастицы, которые переходят в пул свободных субчастиц цитоплазмы. В терминации трансляции принимает участие молекула ГТФ, которая, вероятно, служит регулятором активности белковых факторов терминации.

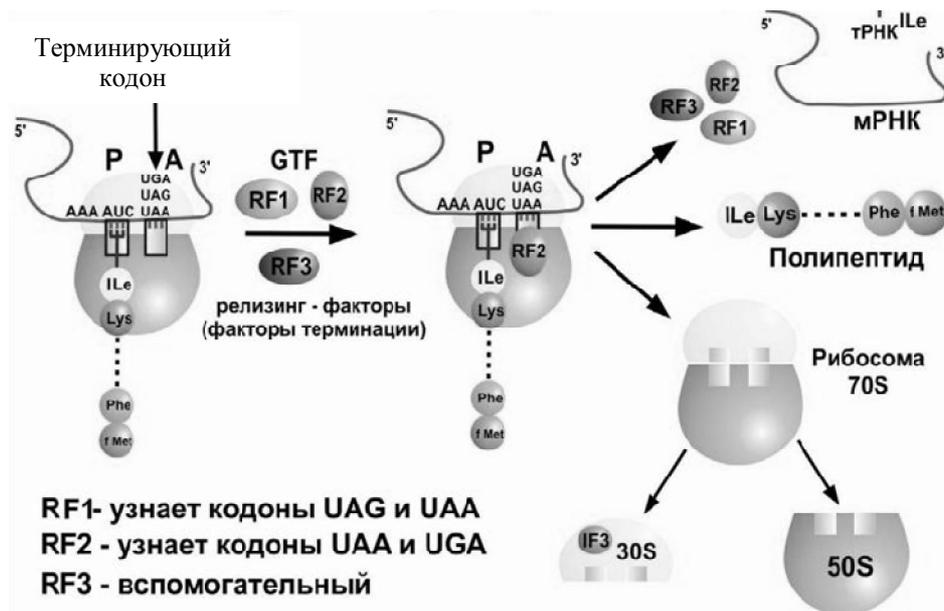


Рис. 86. Стадия терминации

Образовавшаяся полипептидная цепь содержит на N-терминальном конце формилметионин. Ферментом пептидил-деформилазой формилметионин отщепляется. Вновь синтезированная молекула претерпевает посттрансляционные изменения; в результате фолдинга она определенным образом укладывается в пространстве. Важнейшую роль в формировании нативной структуры белковых молекул играют специальные белки – молекулярные шапероны.