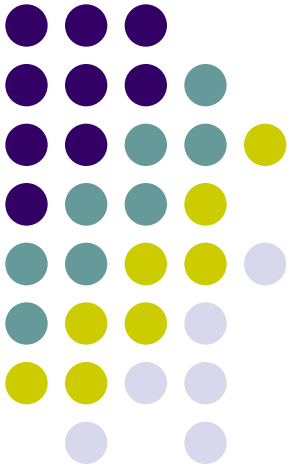
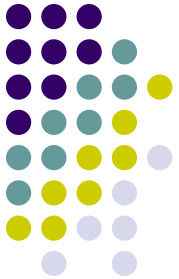
Биохимия как наука

Предмет изучения биохимии – живой организм

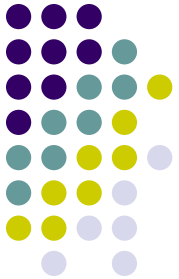


Биологическая химия…



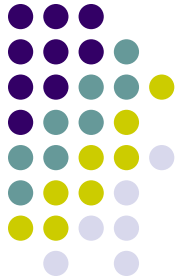
- наука, изучающая химическую природу веществ, входящих в состав живых организмов, их превращения, а также связь этих превращений с деятельностью органов и тканей

Предмет биохимии…



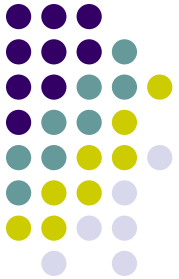
- живой организм, который подчиняется и управляется физико-химическими и биологическими законами
- Жизнь является высшей формой существования материи

Отличия живой материи от неживой



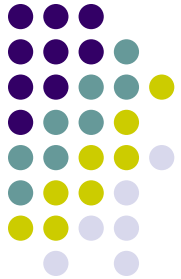
1. ***Высокий уровень организации*** живых систем
   - Обеспечивается в первую очередь участием особых биополимеров – **белков** и **нуклеиновых кислот**, обладающих не только уникальной последовательностью чередования мономерных звеньев, но и уникальной пространственной структурой или небольшим набором таких структур
   - Белки и нуклеиновые кислоты способны высокоспецифично образовывать комплексы с определенными лигандами

Отличия живой материи от неживой



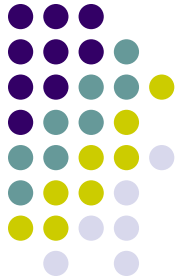
2. ***Обмен веществ*** – непрерывный, самосовершающийся и саморегулируемый круговорот веществ, протекающий в процессе существования живой материи и сопровождающийся ее постоянным ***самообновлением***
   - Обмен веществ неразделим с сопутствующим ему процессом обмена энергии
3. ***Саморегуляция*** химических превращений в организме
4. ***Передача наследственных признаков***
   - осуществляется при посредстве нуклеиновых кислот

Три основных части биохимии



- ***Статическая биохимия***, занимающаяся изучением химического состава (качественного и количественного) живого организма

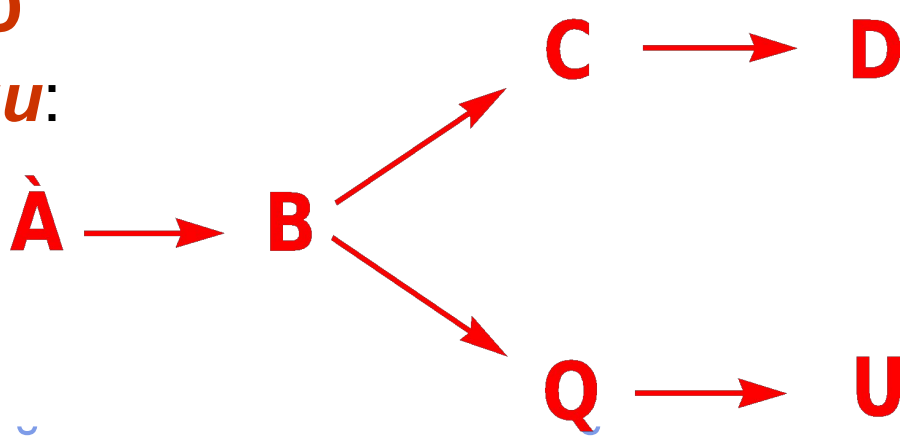
Три основных части биохимии



- ***Динамическая биохимия***, изучающая превращения химических соединений и взаимосвязанные с ними превращения энергии в процессе жизнедеятельности организма

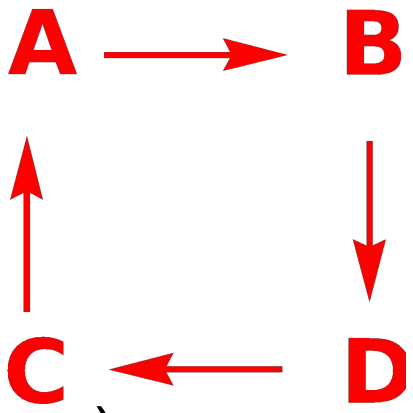
- В организме непрерывно протекают сотни биохимических реакций. Они могут быть:
- ***последовательными*** (цепи):

  A → B → C → D
- ***параллельными***:

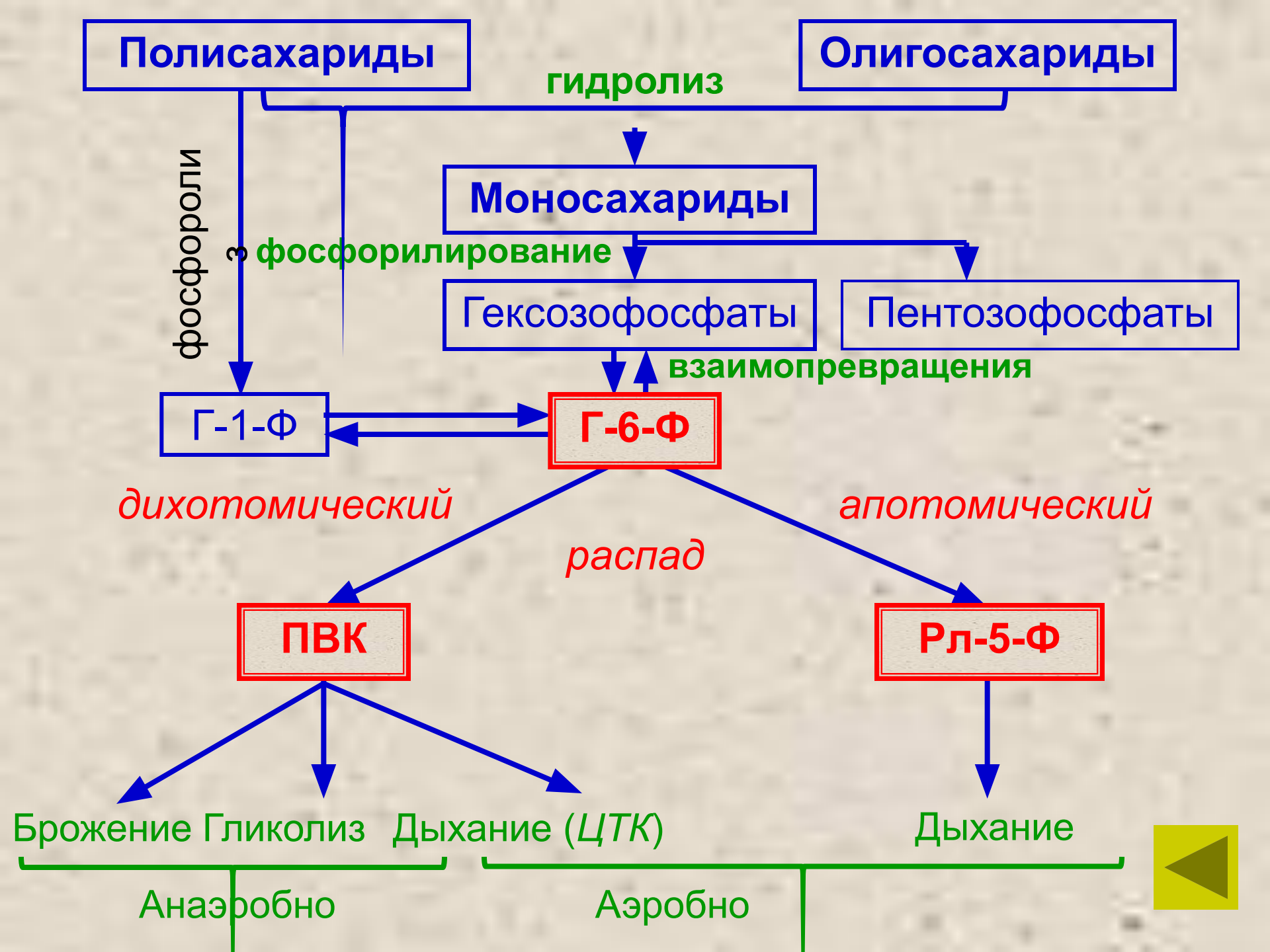


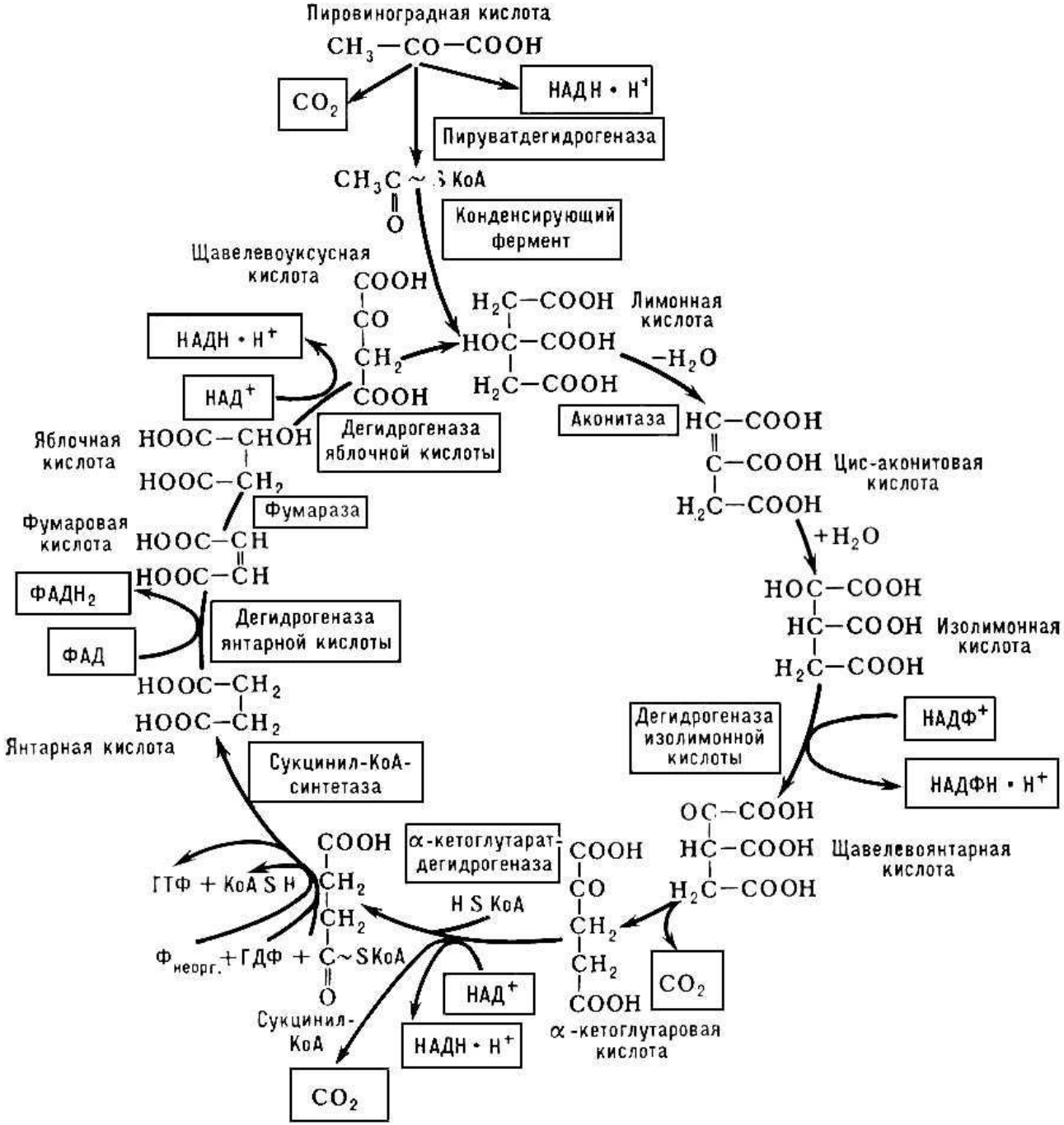
(дихотомический и апотомический пути окисления глюкозы)

- ***образовывать циклы***:

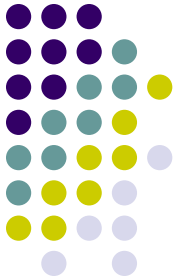


(цикл Кребса, цикл мочевины)


Полисахариды
Олигосахариды
гидролиз
Моносахариды
фосфорилирование
фосфороли
Гексозофосфаты
Пентозофосфаты
взаимопревращения
Г-1-Ф
Г-6-Ф
дихотомический
апотомический
распад
ПВК
Рл-5-Ф
Брожение Гликолиз
Дыхание (ЦТК)
Дыхание
Анаэробно
Аэробно


Пировиноградная кислота
CH3—CO—COOH
CO2
НАДН • H+
Пируватдегидрогеназа
CH3C ~ SKoA
O
Конденсирующий фермент
Щавелевоуксусная кислота
COOH
CO
CH2
COOH
НАДН • H+
НАД+
Дегидрогеназа яблочной кислоты
Яблочная кислота
HOOC—CHOH
HOOC—CH2
Фумараза
Фумаровая кислота
HOOC—CH
HOOC—CH
ФАДН2
ФАД
Дегидрогеназа янтарной кислоты
HOOC—CH2
HOOC—CH2
Янтарная кислота
Сукцинил-КоА-синтетаза
H2C—COOH
HOC—COOH
H2C—COOH
Лимонная кислота
−H2O
Аконитаза
HC—COOH
C—COOH
H2C—COOH
Цис-аконитовая кислота
+H2O
HOC—COOH
HC—COOH
H2C—COOH
Изолимонная кислота
Дегидрогеназа изолимонной кислоты
НАДФ+
НАДФН • H+
OC—COOH
HC—COOH
H2C—COOH
Щавелевоянтарная кислота
α-кетоглутарат-дегидрогеназа
COOH
CH2
CH2
ГТФ + KoA S H
Фнеорг. + ГДФ + C~SKoA
O
Сукцинил-КоА
H S KoA
НАД+
НАДН • H+
CO2
COOH
CO
CH2
CH2
COOH
α-кетоглутаровая кислота
CO2

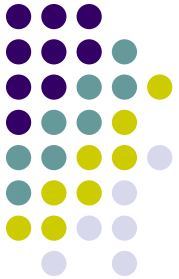
Три основных части биохимии



- Все биохимические процессы организованы в пространстве и времени. Образуется единая система управления этими процессами, подчиняющаяся физическим и биологическим законам
- Изучение законов управления биохимическими процессами – задача фукциональной биохимии
- ***Функциональная биохимия*** выясняет связи:

1) между строением химических соединений и процессами их видоизменения
2) между функцией субклеточных частиц специализированных клеток, тканей и органов, включающих в свой состав упомянутые вещества

Разделы биохимии по объектам исследования



- биохимия человека и животных
- биохимия растений
- биохимия микроорганизмов

- Несмотря на биохимическое единство всего живого, в животных и растительных организмах существуют и коренные **различия**, прежде всего в характере обмена веществ
- ***Растения…(?)***
  - строят сложные вещества своего тела (углеводы, жиры, белки) из H_2O, CO_2 и минеральных веществ
  - энергия, необходимая для этого, потребляется за счет поглощения света (***фотосинтез***)

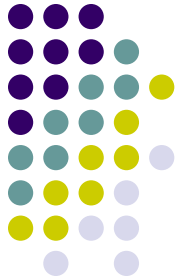
- ***Животные организмы…(?)***
  - нуждаются в пище, состоящей не только из воды и минеральных компонентов, но и из сложных веществ органической природы – белков, жиров, углеводов
  - проявления жизнедеятельности и синтез веществ, входящих в состав тела, обеспечиваются ***за счет химической энергии, освобождающейся при распаде или окислении сложных органических веществ***

- **Растения – …**
  - ***автотрофные организмы***
- **Животные – …**
  - ***гетеротрофные организмы***
- **Микроорганизмы – …**
  - ***есть автотрофные и гетеротрофные типы обмена веществ***
  - микроорганизмы характеризуются широким кругом содержащихся в них веществ и реакций, не встречающихся у животных и растений

Разделы биохимии по направлениям исследований

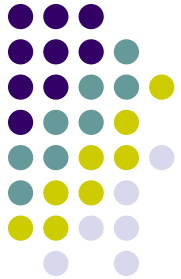
1. ***Общая биохимия*** рассматривает закономерности строения, содержания и преобразования в процессе жизнедеятельности организмов химических соединений, **общих для живой материи в целом**
2. ***Биоорганическая химия*** выясняет физико-химические основы функционирования важнейших систем живой клетки, используя идеи, методы и приемы химии
   - структурный и стереохимический анализ
   - синтез природных соединений и их аналогов
   - разработка методов получения природных веществ, их химической модификации и т. д.

Разделы биохимии по направлениям исследований



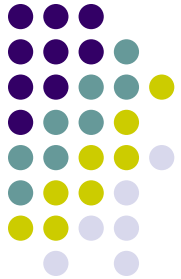
3. ***Бионеорганическая химия*** исследует структуру и функциональную активность комплексов неорганических ионов с органическими молекулами, их участие в процессах жизнедеятельности, возможность использования координационных соединений в качестве моделей биологических систем
4. ***Медицинская биохимия*** исследует состав и превращения веществ и энергии в организме человека в норме и патологии
5. ***Ветеринарная биохимия*** – то же у животных

Разделы биохимии по направлениям исследований



6. ***Техническая биохимия*** выясняет состав важнейших пищевых продуктов, изучает превращения, происходящие при их производстве и хранении, разрабатывает способы применения биохимических процессов в промышленности
7. ***Сравнительная биохимия*** сопоставляет состав и пути видоизменения веществ у организмов различных систематических групп
8. ***Эволюционная биохимия*** изучает состав и пути превращения веществ у организмов в эволюционном аспекте

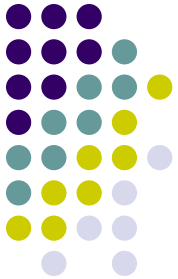
Разделы биохимии по направлениям исследований



9. ***Радиационная биохимия*** изучает изменение состава и обмена веществ в организме при действии на него ионизирующих излучений и разрабатывает методы биохимической защиты от радиации
10. ***Квантовая биохимия*** сопоставляет свойства, функции и пути превращения в организме соединений, имеющих биологическое значение, с их электронными характеристиками (квантово-химические расчеты)
11. ***Космическая биохимия*** занимается исследованием биохимических проблем, связанных с освоением человечеством космического пространства

- Биохимия – фундамент для решения многих вопросов в биологии, медицине, сельском хозяйстве, промышленности

Молекулярная биология…



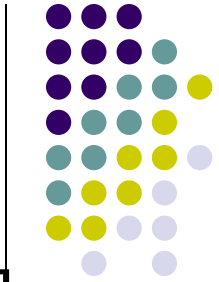
- наука об особенностях строения и свойств молекул, обеспечивающих существование биологической формы движения материи
  - Зародилась в недрах биохимии, на стыке биологии, химии, физики, математики и кибернетики
  - заложены основы для понимания ***механизма биокатализа и управления процессами жизнедеятельности***
  - выявлены ***закономерности биосинтеза макромолекул***
  - разрабатываются методы конструирования генов и внедрения их в клетку с целью изменения их генетических свойств – ***генная инженерия***
  - найдены ***новые подходы к пониманию явлений изменчивости и наследственности***

Новые области биологических наук

- биохимическая систематика
- молекулярная эволюция
- биохимическая генетика
- химическая филогения
- экологическая биохимия
- химическая зоология
- фитохимическая экология

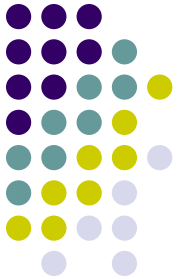
- Таким образом, описательный характер биологических наук все более изменяется в направлении познания сущности биологических явлений, настала эра химической биологии

Биохимия – теоретическая основа медицины



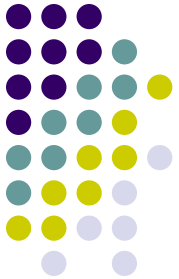
- определение стратегии создания и применения лекарственных веществ
- выяснение причин заболеваний, определение нарушений и путей лечения (наследственные, вирусные заболевания и т. д.)
- диагностика заболеваний:
  - биохимический анализ:
    - ↑ глюкозы в крови – **сахарный диабет**
    - ↓ уровня γ-глобулинов в крови – **снижение сопротивляемости организма**
    - ↑ цис в моче – **поражение почек**
  - определение активности ферментов:
    - ↑ активности креатинкиназы, аспартатаминотрансферазы и лактатдегидрогеназы – **инфаркт миокарда**
    - ↑ активности амилазы – **заболевания поджелудочной железы**
    - ↑ активности щелочной фосфатазы – **рахит** и т. п.

Роль биохимии в сельском хозяйстве



- применение многочисленных и разнообразных **химических препаратов** в животноводстве и растениеводстве (***минеральные удобрения***, ***микроэлементы***, ***витамины***, ***белковые добавки***, ***аминокислоты***, ***кормовые антибиотики***, ***средства защиты растений***)
- разработка методов **раннего прогнозирования продуктивности сельскохозяйственных животных** по биохимическим тестам
- **биохимическая паспортизация генетического фонда** с целью отбора пар для скрещивания при выведении новых пород животных и сортов растений
- **регуляция роста и развития** растений и животных **путем целенаправленного изменения их генотипов** и др.

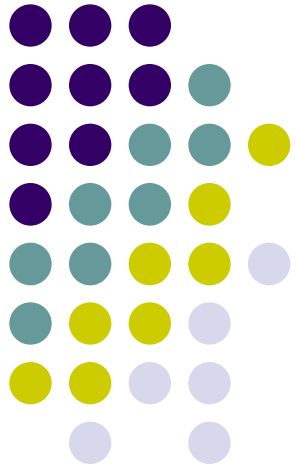
Роль биохимии в промышленности



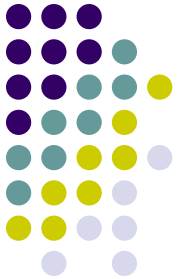
- создание **промышленности микробиологического синтеза** (кормовой белок, аминокислоты, антибиотики, витамины, гормоны, ферменты)
- **использование достижений биохимии в промышленности**:
  - ***пищевая*** (хлебопечение, виноделие, сыроварение, консервирование продуктов, производство чая, жиров, переработка молока, мяса)
  - ***кожевенная***, ***текстильная***, ***крахмалопаточная***, ***мясная*** (применение ферментных препаратов)
- **использование биокатализа, матричного принципа биосинтеза** и др., в химической промышленности

- Таким образом, происходит формирование научно-технической отрасли – ***биотехнологии***, разрабатывающей научные основы производственных процессов, в которых используются принципы биохимических превращений

Методы биохимических исследований

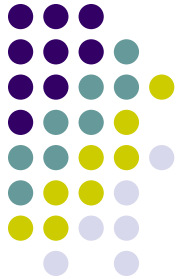


1. Методы исследования на уровне целостного организма



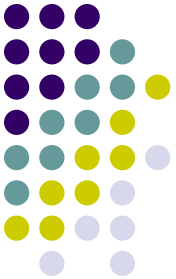
- ***Исследование баланса веществ***
  - соотношение между количеством поступившего в организм вещества и выделившихся продуктов его распада
  - Таким путем определяется баланс N, C
- ***Изучение энергетического баланса***
  - Определяют соотношение между энергетической ценностью питательных веществ, входящих в состав суточного рациона, и энергетическими тратами организма за этот же период

1. Методы исследования на уровне целостного организма



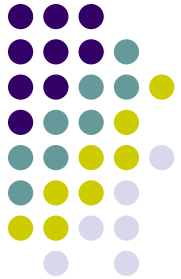
- ***Изотопный метод***
  - Введение изотопных меток (**«меченых» атомов**) позволяет проследить путь «меченого» атома в обмене веществ – примеры (?)
  - Использование радиоактивных изотопов лежит в основе чувствительных аналитических методов, к числу которых относится ***радиоиммуноанализ*** гормонов, присутствующих в микроколичествах
  - Различие в массе изотопов, особенно при переходе от ^{1}H к ^{2}H и ^{3}H, часто сильно влияет на скорости реакций; проводимое на этой основе изучение ***кинетических изотопных эффектов*** позволило лучше понять механизм многих ферментативных реакций и все детали их стереохимии

2. Методы исследования на уровне отдельного органа



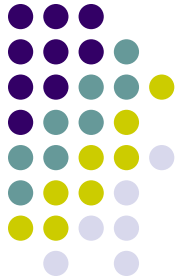
- ***Метод ангиостомии*** *(*Е. С. Лондон, 1919)
  - Сосуды исследуемого органа выводятся наружу, и в оттекающей от него крови определяют введенные в кровоток вещества и продукты их превращений
- ***Метод переживающих тканей***
  - Выделение тканей из организма и содержание их в среде, обеспечивающей нормальное функционирование
  - Затем определяют продукты обмена, образующиеся в процессе жизнедеятельности тканей
  - Разновидность – ***метод тканевых срезов***, в котором используют тонкий срез ткани исследуемого органа

3. Методы исследования на клеточном уровне



- ***Методы экстрагирования и гомогенизации клеток***
  - **Исходный материал** – свежая ткань или осадок спрессованных клеток микроорганизма, получаемый с помощью центрифугирования
  - Ткань измельчают в ***мясорубке*** (или пестиком в ступке с кварцевым песком) или в ***гомогенизаторе***
  - Клетки микробов чаще всего разрушают с помощью ***ультразвука*** или ***продавливанием через пресс*** под высоким давлением
  - ***Метод азотной бомбы***, ***попеременное замораживание и оттаивание***

3. Методы исследования на клеточном уровне



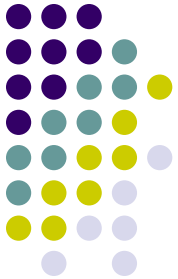
- ***Методы экстрагирования и гомогенизации клеток***
  - Сырой ***гомогенат*** процеживают и обычно центрифугируют
  - Более крупные частицы клеток осаждаются при низких скоростях вращения (неразрушившиеся клетки, ядра), затем более мелкие (митохондрии, лизосомы, затем рибосомы, осколки ЭПС)

4. Определение в тканях и биологических жидкостях содержания отдельных соединений и продуктов их превращений

- ***Цветные реакции***. Определяемое соединение с соответствующим реактивом дает окрашенный продукт

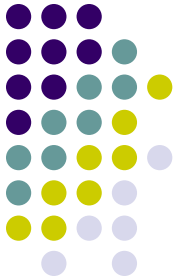
- ***Спектральные и флюорометрические методы и приемы оптического сканирования***
  - Спектральные методы связаны с воздействием на вещество электромагнитного излучения – УФ-, ИК-спектроскопия и спектроскопия ЯМР…
  - **Приборы**: электрофотоколориметры, спектрофотометры, спектрофлюорометры, пламенные фотометры и др.
  - Прижизненные методы: ***оптическое зондирование*** объекта позволяет во многих плоскостях («строках»), не останавливая происходящие процессы, проследить за динамикой составляющих их реакций

5. Методы разделения смесей веществ



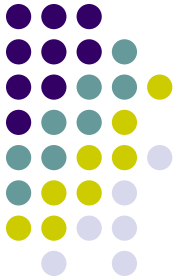
- ***Гидролиз биополимеров***
  - Почти все биополимеры нестабильны и в реакции с водой распадаются на мономеры (гидролизуются)
  - Гидролиз катализируют ионы H^+, OH^- и ферменты
  - Гидролиз может быть полным или частичным, неспецифическим или направленным на определенные связи в молекуле полимера
  - После гидролиза определяют структуры полученных фрагментов и выясняют структуру полимера в целом различными методами

5. Методы разделения смесей веществ



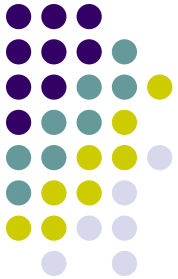
- ***Электрофорез***
  - В основе – различие в суммарном заряде, который несут молекулы при данном pH
  - Этот заряд легко оценить по числу кислых и основных групп в молекуле
  - При некотором pH он становится равным 0 – ***изоэлектрическая точка pI***
  - Электрофорез основан на различной скорости перемещения молекул в электрическом поле. Способы:
    - ***на бумаге***
    - ***гель-электрофорез***: полиакриламидный гель позволяет разделить молекулы и по размеру, и по электрическому заряду

5. Методы разделения смесей веществ



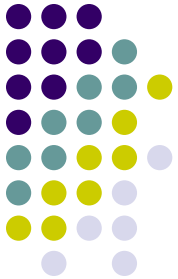
- ***Хроматография***
  - Основа – различное распределение веществ между подвижной (поток жидкости или газа) и неподвижной (твердой или жидкой) фазами
  - По характеру фаз, с помощью которых производится разделение, – ***газовая***, ***газожидкостная*** и ***жидкостная*** хроматографию
  - По типу взаимодействия разделяемых веществ с фазами – ***адсорбционная***, ***распределительная***, ***ионообменная***

5. Методы разделения смесей веществ



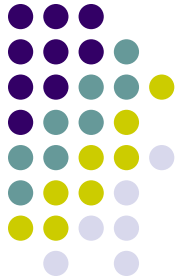
- ***Диализ и ультрафильтрация***
  - Основаны на разнице в размерах молекул
  - В качестве полупроницаемого барьера применяют тонкую ***полупроницаемую мембрану***, которая пропускает малые молекулы, а крупные задерживает

5. Методы разделения смесей веществ



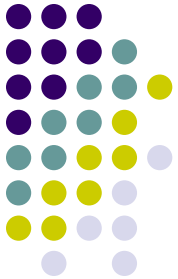
- ***Гель-фильтрация (гель-хроматография, метод молекулярных сит или ситовая хроматография)***
  - То же, что диализ, но в качестве барьера используется различные ***гели с трехмерной сетчатой структурой***: *декстраны* (сефадекс), *полиакриламиды*, пористые *силикагели*, *цеолиты* и др.
  - При разделении смеси небольшие молекулы диффундируют через поры набухшего в растворителе геля, а крупные молекулы проходят через пространство между частицами геля
  - При промывании геля растворителем в первую очередь перемещаются крупные молекулы, а затем мелкие

5. Методы разделения смесей веществ

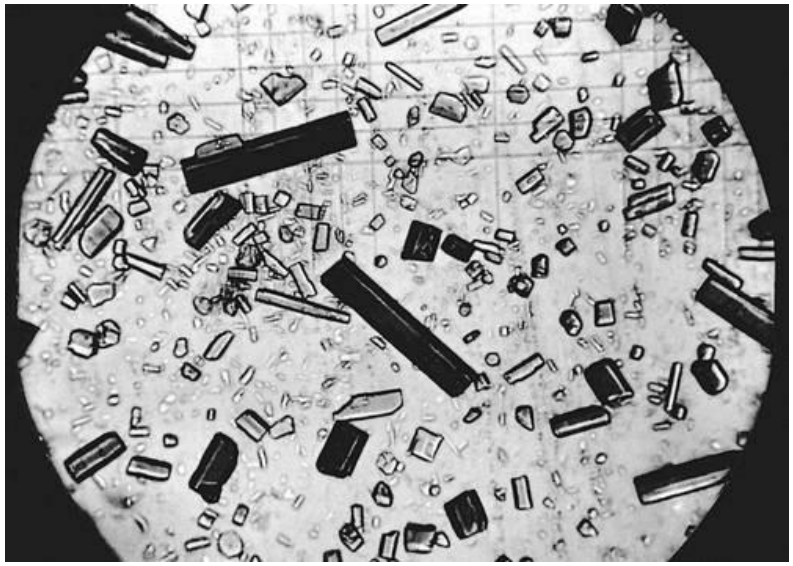


- ***Спектральные методы***
  - Основаны на разделении веществ (например, гемоглобинов), дающих ***различные спектры поглощения лучей света***

6. Методы изучения структуры веществ

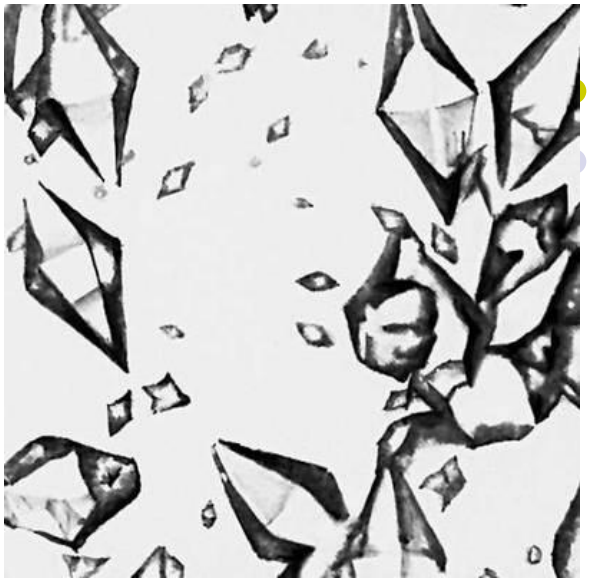


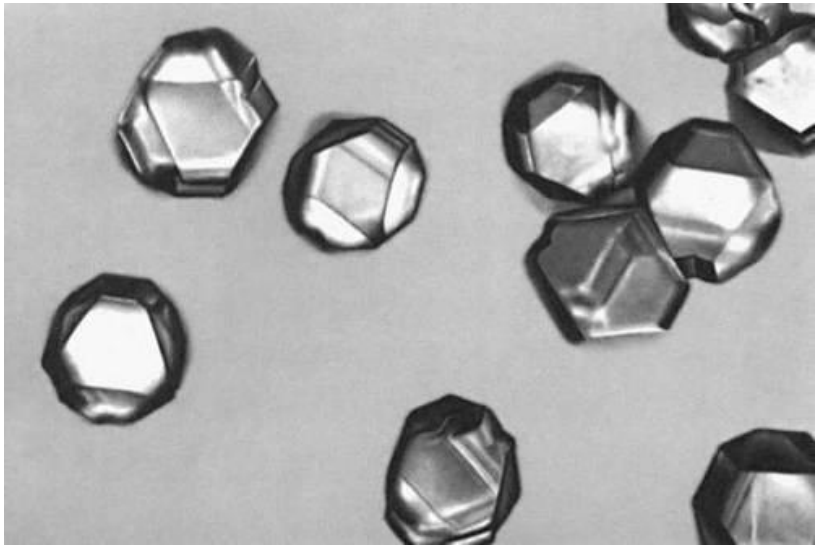
- ***Рентгеноструктурный анализ***
  - По дифракционным картинам, получаемым при прохождении через кристалл рентгеновского пучка, определяют межатомные расстояния и устанавливают структуру кристалла
  - Широко применяется **для определения структуры молекул белков и нуклеиновых кислот**
  - Длины и углы связей, точно установленные для малых молекул, используются как стандартные значения в предположении, что они сохраняются такими же и в более сложных полимерных структурах
  - Одним из этапов определения структуры белков и нуклеиновых кислот является построение молекулярных моделей полимеров, согласующихся с рентгеновскими данными и сохраняющих стандартные значения длин связей и валентных углов



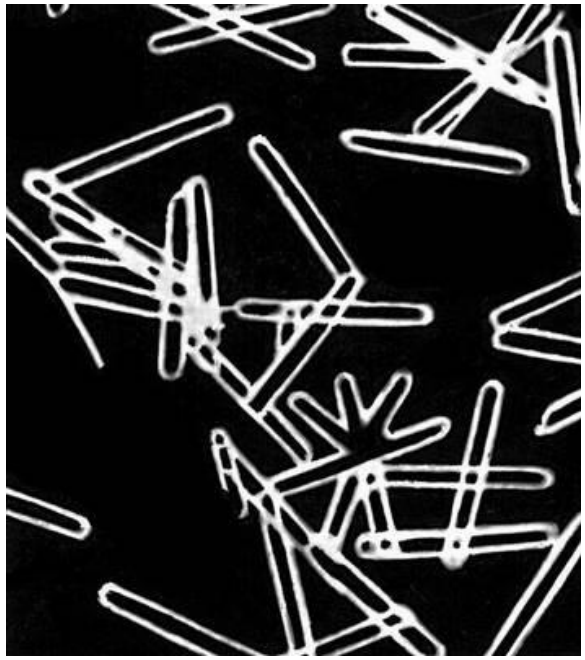
Кристаллы каталазы

Кристаллы пепсина

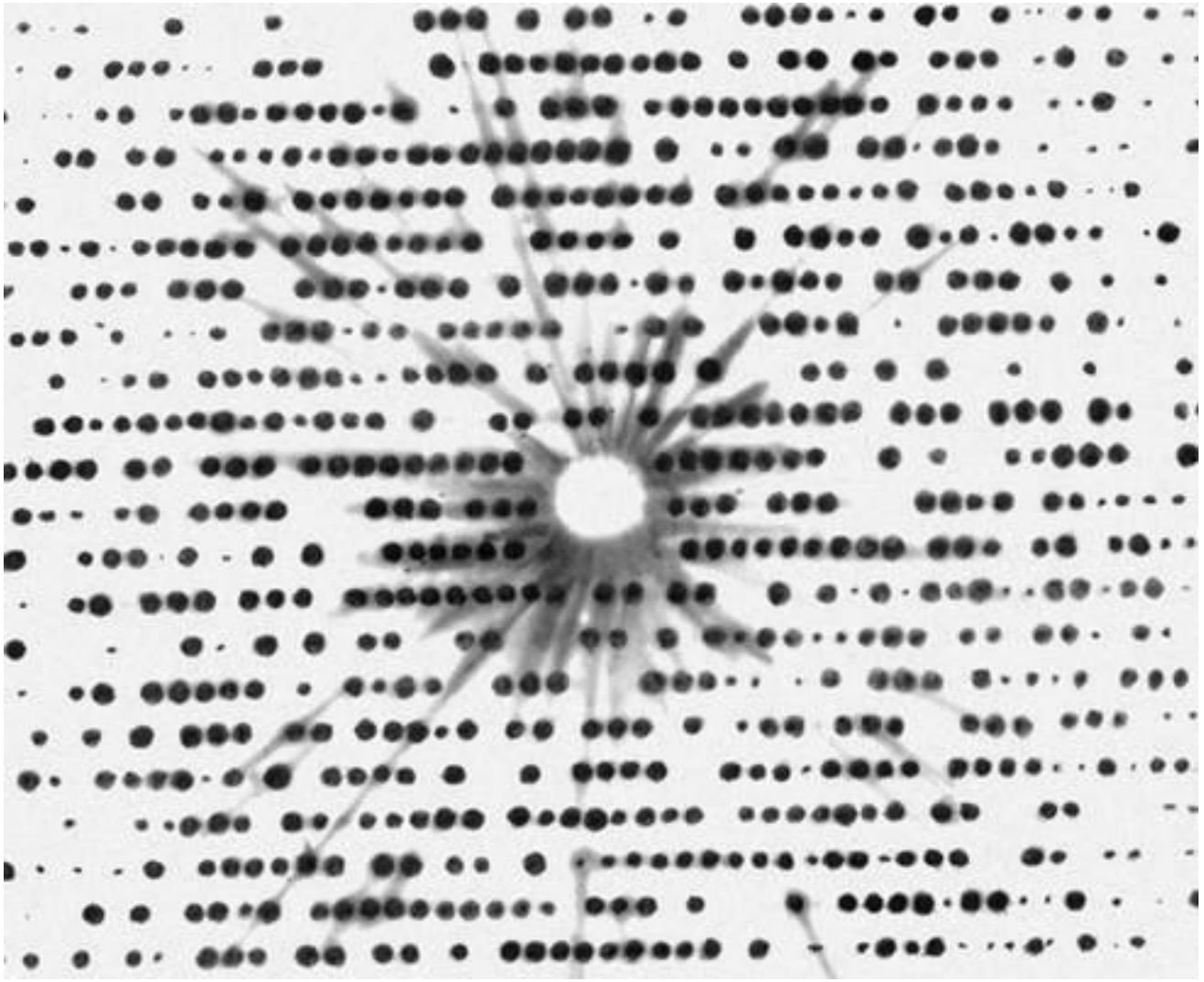




Кристаллы тромбина

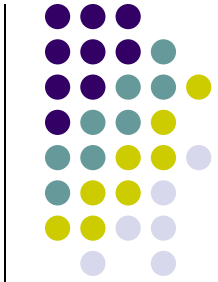


Кристаллы трипсина



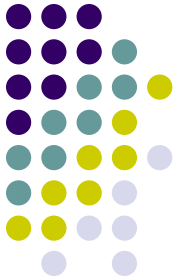
Рентгенограмма кристалла миоглобина

6. Методы изучения структуры веществ



- ***Ядерный магнитный резонанс***
  - В основе – ***поглощение электромагнитных волн в радиочастотном диапазоне ядрами атомов***, обладающими магнитным моментом
  - Поглощение кванта энергии происходит, когда ядра находятся в сильном магнитном поле ЯМР-спектрометра
  - Различные по химическому окружению ядра ***поглощают энергию в несколько отличающемся по напряжению магнитном поле*** (или, при постоянном напряжении, **несколько отличающиеся по частоте радиочастотные колебания**)
  - В результате получается ***спектр ЯМР*** вещества, в котором магнитно несимметричные ядра характеризуются определенными сигналами – «химическими сдвигами» по отношению к какому-либо стандарту
  - Спектры ЯМР дают возможность определить число атомов данного элемента в соединении и число и характер других атомов, окружающих данный

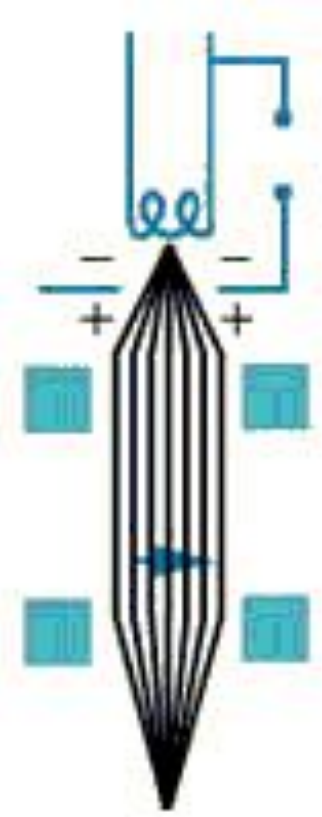
6. Методы изучения структуры веществ



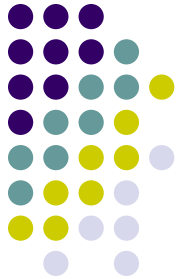
- ***Электронный парамагнитный резонанс (ЭПР)***
  - Используется резонансное поглощение излучения электронами

6. Методы изучения структуры веществ

- ***Электронная микроскопия***
  - Используют электронный микроскоп, увеличивающий объекты в миллионы раз
  - Первые электронные микроскопы появились в 1939 г.
  - Обладая разрешением ~0,4 нм, электронный микроскоп позволяет «увидеть» молекулы белков и нуклеиновых кислот, а также детали строения клеточных органелл
  - В 1950 г. были сконструированы ***микротомы*** и ***ножи***, позволяющие делать ультратонкие (20–200 нм) срезы тканей, предварительно залитых в пластмассу



7. Использование ЭВМ в биохимии



1. Использование ЭВМ в тех случаях, когда расшифровать глубинные структуры и их изменения не удается с помощью вышеназванных методов
   - ***Томографы*** – компьютерная аппаратура, позволяющая послойно проанализировать любой орган или клеточный органоид, не нанося ему повреждений
2. Суммарная обработка лавинообразной информации, поступающей в результате использования всех вышеназванных методов
   - Быстрый синтез и анализ научной информации

Литература

- Ахметов Н. С. Общая и неорганическая химия. – М.: Высшая школа, 1988
- Березов Т. Ю., Коровкин Б. Ф. Биологическая химия. – М.: Медицина, 1988
- Грин Н., Стаут У, Тейлор Д. Биология: В 3-х т. Т. 1. – М.: Мир, 1990
- Ермолаев М. В., Ильичева Л. П. Биологическая химия. – М.: Медицина, 1989
- Кнорре Д. Г., Мызина С. Д. Биологическая химия. – М.: Высшая школа, 1998
- Кузнецов В. И., Идлис Г. М., Гутина В. Н. Естествознание. – М.: Агар, 1996

Литература

- Ленский А. С. Введение в бионеорганическую и биофизическую химию. – М.: Высшая школа, 1989
- Мецлер Д. Биохимия: В 3-х т. Т. 1. – М.: Мир, 1980
- Петров А. А., Бальян Х. В., Трощенко А. Т. Органическая химия. – М.: Высшая школа, 1981
- Скулачев В. П. Рассказы о биоэнергетике. – М.: Молодая гвардия, 1985
- Филиппович Ю. Б. Основы биохимии. – М.: Высшая школа, 1999