

Введение в количественную биохимию

А. А. Чиркин, профессор кафедры химии и естественнонаучного образования
факультета химико-биологических и географических наук
Витебского государственного университета имени П. М. Машерова,
доктор биологических наук, профессор

Аннотация. В статье изложены современные представления о количественной оценке структурных и молекулярных элементов живых организмов — клеток прокариот (*E. coli*), одноклеточных эукариот (*S. cerevisiae*), культивируемых клеток многоклеточных эукариот (*HeLa*).

Ключевые слова: дольные и кратные единицы, шкала размеров биологических объектов, бактерии, дрожжи, клетки *HeLa*.

Astract. The article presents modern concepts of quantitative assessments of the structural and molecular elements of living organisms — prokaryotic cells (*E. coli*), unicellular eukaryotes (*S. cerevisiae*), cultured cells, multicellular eukaryotes (*HeLa*).

Keywords: fractional and multiple units, scale of sizes of biological objects, bacteria, yeast, HeLa cells.

Размеры биологических структур изменяются от нанометрового масштаба отдельных макромолекул жизни до гигантских цветущих цианобактерий в океане, скопления которых можно увидеть со спутников. Таким образом, биологи могут интересоваться явлениями, охватывающими более 15 порядков по длине (рис. 1). При переходе от макроскопического, наблюдаемого невооружённым глазом, мира к микроскопической области познавательная связь часто обеспечивается числом Авогадро. Эта важная константа определяется как количество атомов водорода, содержащихся в одном грамме таких атомов (около $6 \cdot 10^{23}$).

Цель данной статьи заключается в изложении начал вычислительной биохимии и молекулярной биологии для учителей и преподавателей средних и высших учебных заведений. Преподавательский опыт автора показывает,

что вопросы биологических наук намного более адекватно решаются, если наряду с изложением химико-биологической сущности рассматриваемых вопросов учитываются их количественные характеристики.

Начнём с макропоказателей. У стандартного человека в возрасте 20–30 лет длина тела составляет 170 см, масса — 70 кг и площадь тела — $1,8 \text{ м}^2$. В организме человека выделяют 11 тканевых систем: костная, мышечная, нервная, сердечно-сосудистая, дыхательная, пищеварительная, выделительная, репродуктивная, эндокринная, иммунная и покровная. На скелет приходится 10 % от массы тела, мышцы — 43 %, кожу и подкожную клетчатку — 8,7 %, кровь — 7,7 %, пищеварительный тракт — 2,9 %, печень — 2,4 %, красный костный мозг — 2,1 %, головной мозг — 1,8 %, оба лёгких — 1,4 %, сердце —

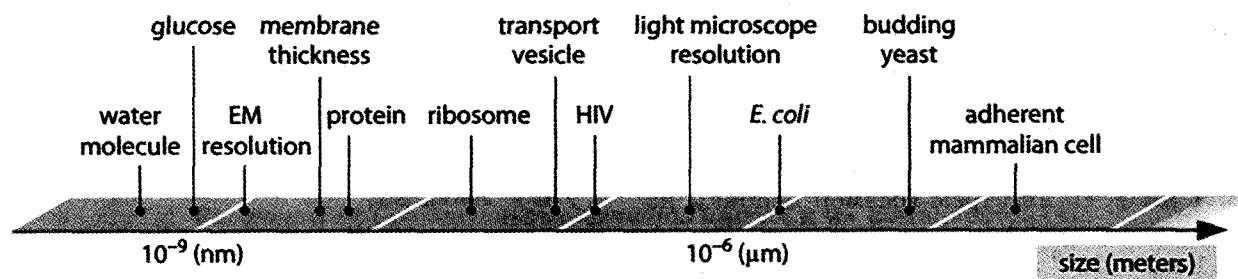


Рисунок 1 — Диапазон характерных размеров основных биологических объектов и процессов, относящихся к клеткам. По логарифмической шкале изображается диапазон от отдельных молекул, «служащих гайками и болтами биохимии», до молекулярных машин, их ансамблей, служащих для построения клеток, тканей и организмов [1]

0,43 %, обе почки — 0,43 %, щитовидную железу — 0,03 %, селезёнку — 0,26 %. В теле взрослого человека насчитывают от 230 до 400 различных типов клеток. В 2016 году стартовал международный проект «Атлас клеток человека», а в 2020 году китайские учёные опубликовали атлас 100 типов и 700 подтипов клеток человека. Тело человека состоит в среднем на 60 % из воды, на 34 % из органических веществ, на 6 % — из неорганических компонентов. В состав неорганических веществ тела человека входят 22 обязательных химических элемента — кальций, фосфор, кислород, натрий, магний, сера, бор, хлор,

калий, ванадий, марганец, железо, кобальт, никель, медь, цинк, молибден, хром, кремний, йод, фтор, селен. Основными химическими элементами-органогенами, формирующими органические вещества, являются углерод ($\approx 18\%$), кислород ($\approx 65\%$), водород ($\approx 10\%$), азот ($\approx 3\%$), фосфор ($\approx 1\%$) и сера ($\approx 0,25\%$). Химические элементы делят на макроэлементы (массовая доля элемента в организме превышает $10^{-2}\%$), микроэлементы (10^{-3} – $10^{-5}\%$) и ультрамикроэлементы (ниже $10^{-5}\%$) [2; 3].

При изучении молекулярной биологии и биохимии широко пользуются кратными и дольными величинами и их сокращениями (табл. 1).

Таблица 1 — Кратные и дольные единицы (сокращения)

Кратность и дольность	Приставка		
	Название	Обозначение, русское	Обозначение, международное
1 000 000 000 000 = 10^{12}	Тера	Т	T
1 000 000 000 = 10^9	Гига	Г	G
1 000 000 = 10^6	Мега	М	M
1 000 = 10^3	кило	к	k
100 = 10^2	гекто	г	h
10 = 10^1	дека	да	da
0,1 = 10^{-1}	деци	д	d
0,01 = 10^{-2}	санتي	с	c
0,001 = 10^{-3}	милли	м	m
0,000 001 = 10^{-6}	микро	мк	μ
0,000 000 001 = 10^{-9}	нано	н	n
0,000 000 000 001 = 10^{-12}	пико	п	p
0,000 000 000 000 001 = 10^{-15}	фемто	ф	f
0,000 000 000 000 000 001 = 10^{-18}	атто	а	a

Умение пользоваться кратными и дольными единицами лежит в основе понимания многих биологических процессов в широком диапазоне форм жизни, наблюдаемых в электронном микроскопе, световом микроскопе и невооружённым глазом (рис. 3).

Из анализа этого рисунка следует выделить:

1. 1 Ангстрем = 0,1 нм = диаметр атома водорода. Эта единица устарела.

2. 1 нм = 10 ангстрем (размер цепочки из 10 атомов водорода).

3. 1 нм = 10^{-9} м (устаревшая единица миллимикрон, мкм). Обозначают длины волн света (красный — 750 нм).

4. 1 мкм = 10^{-6} м (диаметр бактерии 1 мкм, эритроцита 7 мкм, эпителиальной клетки 100 мкм).

5. 1 мм = 10^{-3} м (размер парameции 1,5 мм, икринка лягушки 2,5 мм).

Для иллюстрации высказанных мыслей решим две простые задачи с использованием кратных и дольных единиц.

Задача 1. Преобразование граммы — дальтоны.



$$m_H = 1 \text{ Da}$$

$$1 \text{ г водорода} = N_A \times m_H \Rightarrow m_H = \frac{1 \text{ г}}{6 \times 10^{23}} \approx 1,6 \times 10^{-24} \text{ г}$$

число Авогадро масса атома водорода

Рисунок 2 — Преобразование граммы-дальтоны [1]

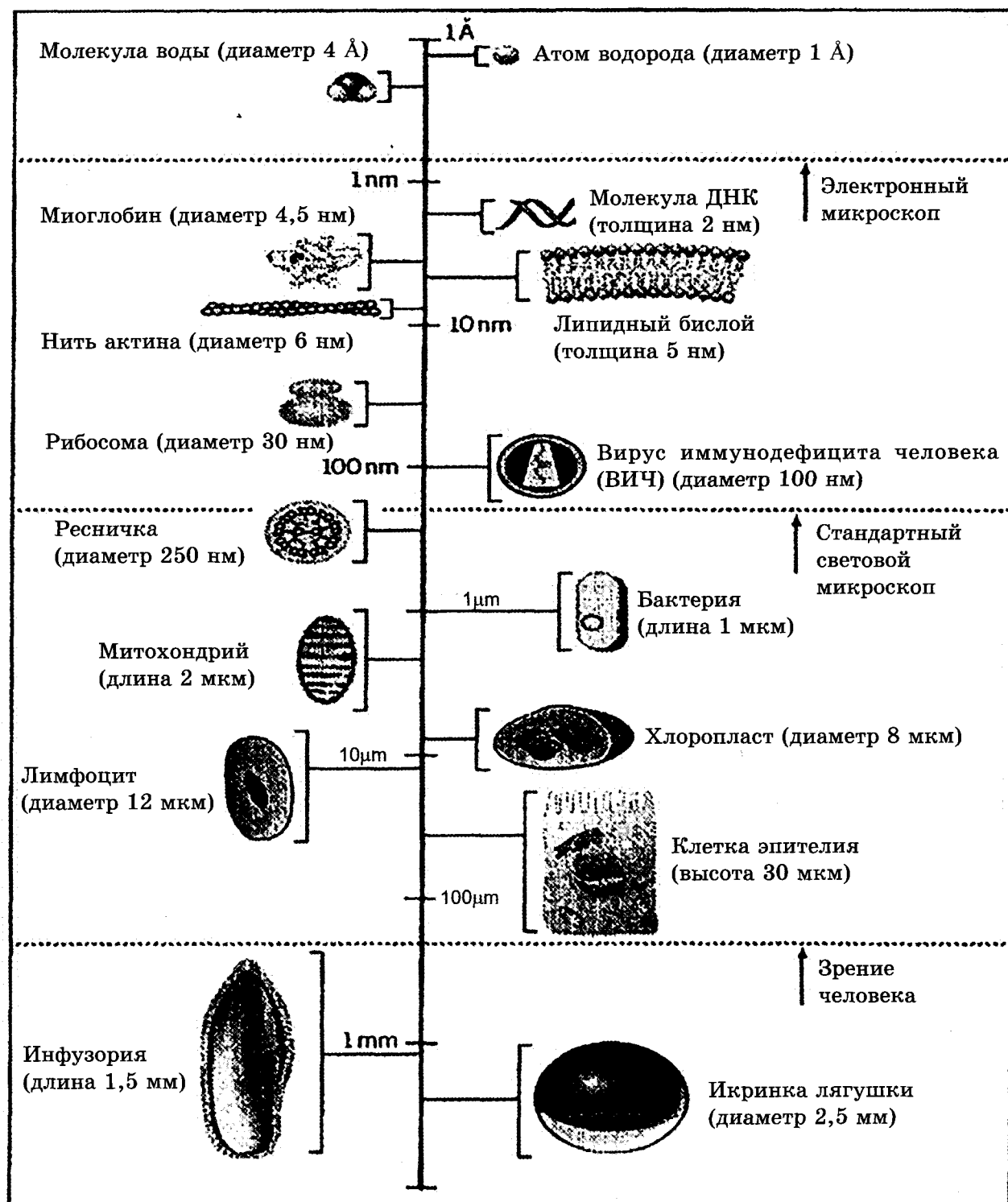


Рисунок 3 — Сравнительные размеры клеток и их компонентов [4]

Рассмотрим на простейшем атоме водорода, включающем протон и электрон. Относительная атомная масса атома водорода = 1 Да. Молярная масса атомов водо-

рода $m_H = 1$ г/моль; 1 г водорода = число Авогадро $\cdot m_H \rightarrow m_H = 1 \text{ г} / (6 \cdot 10^{23}) \approx 1,6 \cdot 10^{-24}$ г.

Вывод: 1 дальтон (Да) = 1 г/моль $\approx 1,6 \cdot 10^{-24}$ г.

Задача 2. Сколько молекул содержится в одной клетке?

Nanomolar in *E. coli* units

cell volume $\approx 1 \mu\text{m}^3 = 1 \text{ fl}$



$$c = \frac{1 \text{ molecule}}{1 \text{ fl}} \times \frac{1 \text{ mole}}{6 \times 10^{23} \text{ molecules}} \times \frac{1 \text{ fl}}{10^{-15} \text{ l}} = \frac{1}{6} \times 10^{-8} \text{ M} \approx 1.6 \text{ nM}$$

$\Rightarrow$ rule of thumb: 1 molecule per bacterial volume $\approx 1 \text{ nM}$

Рисунок 4 — Содержание молекул в одной клетке *E. coli* [1]. Объём клетки кишечной палочки $\approx 1 \text{ мкм}^3 \approx 1 \text{ фл}$. Количество молекул в этом объёме = 1 молекула / 1 фл $\cdot$ 1 моль / $(6 \cdot 10^{23})$ молекул $\cdot$ 1 фл / $10^{-15} \text{ л} = 1 / (6 \cdot 10^{-8}) \text{ М} \approx 1,6 \text{ нМ} \rightarrow$ правило: 1 молекула на бактериальный объём $\approx 1 \text{ нМ}$

Вывод: 1 нМ — это примерно 1 молекула на объём бактерии, 10^1 – 10^2 на клетку дрожжей и 10^3 – 10^4 молекулы на объём клеток млекопитающих (*HeLa*). Для перехода в 1 мкМ умножить на тысячу; для перехода в 1 мМ, умножить на миллион. 1 М — это примерно единица на 1 нм^3 . На 1 мкм^3 объёма клетки приходится 2–4 миллиона белков.

Приведём некоторые ориентировочные величины, которые могут потребоваться при решении количественных задач школьниками [1].

1. 1 мг фрагментов ДНК длиной 1 т. п. н. составляет $\approx 1 \text{ пмоль}$ или $\approx 10^{12}$ молекул.

2. В стандартных условиях частицы с концентрацией 1 М находятся на расстоянии $\approx 1 \text{ нм}$ друг от друга.

3. Масса типичной аминокислоты $\approx 100 \text{ Да}$.

4. Масса белка [Да] $\approx 100 \cdot$ Количество аминокислот.

5. Плотность воздуха $\approx 1 \text{ кг/м}^3$.

6. Плотность воды $\approx 55 \text{ М}$ ($1 \text{ кг/л} \approx 55 \text{ М}$), что примерно в 1000 раз больше плотности воздуха $\approx 1000 \text{ кг/м}^3$ (плотность воздуха $1 \text{ г/л} = 1 \text{ атм}$ давления).

7. Объём молекулы воды $\approx 0,03 \text{ нм}^3$ ($\approx 0,3 \text{ нм}^3$).

8. Пара оснований имеет объём $\approx 1 \text{ нм}^3$.

9. Пара оснований имеет массу $\approx 600 \text{ Да}$.

10. Молекулы липидов имеют массу ≈ 500 – 1000 Да .

11. Движение через мембрану связано с 10 – 20 кДж/моль на один чистый заряд мембранного потенциала.

12. При гидролизе АТФ в физиологических условиях выделяется $20 \text{ кВт} \approx 50 \text{ кДж/моль} \approx 12 \text{ ккал/моль} \approx 10^{-19} \text{ Дж}$ энергии.

13. Один литр кислорода во время дыхания обеспечивает выделение $\approx 20 \text{ кДж}$ энергии.

14. Небольшой метаболит перемещается на 1 нм за $\sim 1 \text{ нс}$.

15. 1 OD 600 (оптическая плотность роста клеток, измеренная при 600 нм) $\approx 0,5 \text{ г}$ сухой массы клеток на литр.

16. В объёме клетки 1 мкм^3 имеется $\approx 10^{10}$ атомов углерода.

Оценим количественные характеристики основных компонентов в трёх модельных клетках: бактериальная клетка (*Escherichia coli*), одноклеточный эукариот (почкующиеся клетки дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*) и линия клеток млекопитающих (например, перевиваемые клетки *HeLa*) (табл. 2). Бактериальная клетка относится к прокариотам, она не обладает внутриклеточными мембранными структурами и поэтому основные метаболические процессы происходят в одном объёме. Строение модельной клетки эукариот (клетки дрожжей) намного сложнее из-за множества внутриклеточных мембраносвязанных структур. Эти клетки содержат различные компартменты, ограниченные внутриклеточными мембранами: ядро, эндоплазматический ретикулум, аппарат Гольджи, митохондрии, лизосомы. Их ДНК (геном) упакована плотно внутри ядра клетки в виде нуклеопротеидных комплексов — нуклеосом, что является общим мотивом для всех эукариот. «Стандартная» клетка млекопитающего (*HeLa*) имеет богатую и неоднородную структуру. В ядре находятся миллиарды пар нуклеотидов генома, происходят внутриядерные процессы репликации и транскрипции и внеядерные процессы трансляции. Только через поры ядерной мембраны должны направленно транспортироваться молекулы мРНК, рРНК, тРНК, белки, частица рибосом, низкомолекулярные вещества. В цитозоле существует хорошо функционирующая система внутриклеточной логистики, т. е. транспорта по дорогам (микротрубочки) грузов с помощью биохимических моторов динеинов и кинезинов.

В таблице 2 приведены типичные значения параметров для бактериальной клетки *E. coli*, одноклеточного эукариота *S. cerevisiae* (почкующиеся дрожжи) и клеточная линия *HeLa* млекопитающих.

Таблица 2 — Общая количественная характеристика трёх типов клеток [1]

Показатель	<i>E. coli</i> Бактериальная клетка	<i>S. cerevisiae</i> Почкующиеся дрожжи	<i>HeLa</i> Клеточная линия млекопитающих
Общие параметры			
Объём клетки	0,3–3 мкм ³	30–100 мкм ³	1000–10000 мкм ³
Длина	1 мкм	5 мкм	20 мкм
Количество молекул H ₂ O	2 · 10 ¹⁰	6 · 10 ¹¹	6 · 10 ¹³
Количество неорганических ионов	10 ⁸	3 · 10 ⁹	2 · 10 ¹¹
ДНК, число пар нуклеотидов (п. н.)	5 · 10 ⁶	12 · 10 ⁷	3 · 10 ⁹
Количество молекул мРНК	2 · 10 ³	3 · 10 ⁴	2 · 10 ⁵
Число рибосом	2 · 10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶
Минимальное время удвоения	20 мин	1 час	20 часов
Белки, содержание и характеристики			
Белки в 1 мкм ³ клеточного объёма	У всех 2,4 · 10 ⁶		
Средний диаметр белка	У всех 4–5 нм		
Количество белков в клетке	≈ 10 ⁶	≈ 10 ⁸	≈ 10 ¹⁰
Концентрация одного белка на клетку	≈ 1 наномоль	≈ 10 пикомоль	≈ 0,1–1 пикомоль
Время диффузии белка по клетке (D ≈ 10 мкм ² /с)	≈ 0,01 с	≈ 0,2 с	≈ 1–10 с
Время диффузии малых молекул по клетке (D ≈ 100 мкм ² /с)	≈ 0,001 с	≈ 0,03 с	0,1–1 с
Типичное время жизни белка	1 ч	0,3–3 ч	10–100 ч
Время перехода состояния белка активный ↔ неактивный	У всех 1–100 мкс		
Шкала времени для равновесного связывания малых молекул с белком (ограниченная диффузия)	У всех 1–1000 мс (средство 1 мкмоль – 1 наномоль)		
Нуклеиновые кислоты			
Гены, кодирующие белки	4300	6600	21000
Размер генома (п. н. — пар нуклеотидов)	4,6 Милли-п.н. (Мп.н.)	12 Милли-п.н. (Мп.н.)	3,2 Гига-п.н. (Гп.н.)
Размер сайта связывания регулятора	10–20 п. н.	5–10 п. н.	5–10 п. н.
Размер промотора	≈ 100 п. н.	≈ 1000 п. н.	≈ 10 ⁴ –10 ⁶ п. н. (с интронами)
Время транскрипции гена	< 1 мин (80 нуклеотидов/с)	≈ 1 мин	≈ 30 мин, включая процессинг мРНК
Время трансляции белка	< 1 мин (20 аминокислот/с)	≈ 1 мин	≈ 30 мин, включая экспорт мРНК
Типичное время жизни мРНК	3 мин	30 мин	10 ч
Типичное время жизни белка	1 ч	0,3–3 ч	10–100 ч
Время связывания фактора транскрипции с участком ДНК	У всех ≈ 1 с		
Скорость мутации	У всех 10 ⁻⁸ –10 ⁻¹⁰ п. н.		

Обсуждая эту таблицу, авторы цитируемой монографии указывают, что в типичной бактериальной клетке содержится несколько миллионов белков, являющихся продуктом нескольких тысяч генов. Авторы предполагают, что «средний» белок может быть

представлен около 10³ копиями. Распределение на самом деле неправильное. Учитывая эмпирическое правило, приведённое выше, что одна молекула в клетке *E. coli* соответствует концентрации примерно 1 нМ, мы можем предсказать «средний» белок,

концентрация которого должна составлять примерно 1 мМ.

Авторы принимают упрощённую «нулевую модель», согласно которой абсолютные количества компонентов в одной клетке масштабируются пропорционально размеру клетки, но концентрации их не зависят от размера клеток. Давайте проиллюстрируем такой взгляд на клетку млекопитающего, которая по объёму в 1000 раз больше, чем бактериальная клетка. Отсюда «ожидание первого порядка» будет заключаться в том, что абсолютное количество копий молекул будет примерно в 1000 раз выше, но концентрация останется примерно одинаковой. Однако такой взгляд

не следует воспринимать как непреложный закон. Следует учитывать тот факт, что клетка млекопитающего делится в 60 раз медленнее, чем бактериальная клетка, и в 20 раз медленнее, чем клетка дрожжей. Для этих случаев необходима другая нулевая модель.

Заключение. Используя усреднённые и упрощённые количественные структурные и молекулярные характеристики, можно целенаправленно развивать творческое отношение обучаемых к биологии и химии путём их погружения в этот фантастически интересный мир молекулярно-структурной биологии через постепенное усложнение создаваемых нулевых гипотез.

Список использованных источников

1. *Milo, R. Cell biology by the numbers* / R. Milo, R. Philips, O. Nigel. — Garland Science. Taylor and Francis Group, 2016. — 278 p.
2. *Чиркин, А. А. Биологическая химия : учебник* / А. А. Чиркин, Е. О. Данченко. — Минск : Выш. школа, 2017. — 431 с.
3. *Скальный, А. В. Биоэлементы в медицине* / А. В. Скальный, И. А. Рудаков. — Оникс 21 век, Мир, 2004. — 272 с.
4. *Karp, G. Cell and molecular biology. Concepts and experiments* / G. Karp. — 7 Ed. — John Wiley and Sons, 2013. — 780 p.