

ФЕРМЕНТЫ.....	2
СТРОЕНИЕ ФЕРМЕНТОВ.....	8
СПЕЦИФИЧНОСТЬ ДЕЙСТВИЯ ФЕРМЕНТОВ.....	20
КИНЕТИКА ФЕРМЕНТАТИВНЫХ РЕАКЦИЙ	24
МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ФЕРМЕНТОВ.....	30
АКТИВАТОРЫ И ИНГИБИТОРЫ.....	37
ПРИМЕНЕНИЕ ФЕРМЕНТОВ	51
КЛАССИФИКАЦИЯ И НОМЕНКЛАТУРА ФЕРМЕНТОВ.....	70
ОКСИДОРЕДУКТАЗЫ.....	77
ТРАНСФЕРАЗЫ	90
ГИДРОЛАЗЫ	94
ЛИАЗЫ	106
ИЗОМЕРАЗЫ	107
ЛИГАЗЫ.....	109
ПРОФЕРМЕНТЫ И ИЗОФЕРМЕНТЫ	111
ЗАДАЧИ ПО ТЕМЕ ФЕРМЕНТЫ	115
ВОПРОСЫ ПО ТЕМЕ ФЕРМЕНТЫ.....	118
ВИТАМИНЫ.....	135
ИСТОРИЯ ОТКРЫТИЯ ВИТАМИНОВ	142
КЛАССИФИКАЦИЯ ВИТАМИНОВ.....	146
ВОДОРАСТВОРИМЫЕ ВИТАМИНЫ.....	151
ЖИРОРАСТВОРИМЫЕ ВИТАМИНЫ	186
ВИТАМИНОПОДОБНЫЕ ВЕЩЕСТВА	216
ЗАДАЧИ ПО ТЕМЕ ВИТАМИНЫ	227
ВОПРОСЫ ПО ТЕМЕ ВИТАМИНЫ.....	230

ФЕРМЕНТЫ

Ферменты, или энзимы, представляют собой высокоспециализированный класс веществ белковой природы, используемый живыми организмами для осуществления с высокой скоростью многих тысяч взаимосвязанных химических реакций, включая синтез, распад и взаимопревращение огромного множества разнообразных химических соединений.

МЕТОДЫ ПОЛУЧЕНИЯ ФЕРМЕНТОВ

Ферменты получают из предварительно измельченного биологического материала с последующей их экстракцией. Для этого массу измельчают в гомогенизаторе с добавлением воды, буферного раствора, стекла или песка. Измельчение можно проводить также ультразвуком в дезинтеграторе. Полученный гомогенат центрифугируют при различных скоростях. При вращении 15000 об/мин в осадок выпадают хлоропласты, при 15000 об/мин – митохондрии, при 30000 об/мин – более мелкие частицы. Фермент может находиться внутри этих структур в связанном состоянии. Для извлечения ферментов разрушают комплексы путем использования различных детергентов. Так, для освобождения ферментов связанных с биомембранами митохондрий или других субклеточных структур, применяют тритон X-100, додецил сульфат натрия и дезоксихолат натрия.

ХИМИЧЕСКАЯ ПРИРОДА ФЕРМЕНТОВ

В настоящее время получены неопровержимые экспериментальные доказательства белковой природы ферментов.

О белковой природе ферментов свидетельствует факт инактивирования (потеря активности) ферментов брожения при кипячении, установленный еще Л. Пастером.

При кипячении наступает необратимая денатурация белка-фермента. Фермент при этом теряет присущее ему свойство катализировать химическую реакцию. Под влиянием различных физических и химических факторов (воздействие УФ- и рентгеновского излучения, ультразвука, осаждение минеральными кислотами, щелочами, алкалоидными реактивами, солями тяжелых металлов и др.) происходит денатурация ферментов, так же как и белков.

Ферменты при гидролизе, как и белки, распадаются на аминокислоты, что, бесспорно, служит веским доказательством белковой природы ферментов.

Интересные данные, указывающие на белковую природу ферментов, были получены в лаборатории И. П. Павлова.

При определении переваривающей способности желудочного сока была обнаружена прямая зависимость между этой способностью и количеством белка в соке. В связи с этим было сделано заключение, что пепсин желудочного сока является белком.

Вескими доказательствами белковой природы фермента являются его получение в чистом виде и выделение в форме кристаллов белка. К

настоящему времени получено более 1000 кристаллических ферментов. Структура многих из них изучена детально при помощи современных методов химии белков и молекулярной физики методами рентгеноструктурного анализа, ядерного магнитного резонанса (ЯМР), электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) и др.

Ферменты, как и все белки, обладают рядом свойств, характерных для высокомолекулярных соединений: амфотерностью (могут существовать в растворе в виде анионов, катионов и амфионов); электрофоретической подвижностью благодаря наличию в них положительных и отрицательных зарядов, а в изоэлектрической точке не обнаруживают подвижности в электрическом поле. Ферменты неспособны к диализу через полупроницаемые мембраны. При помощи диализа их растворы можно освободить от низкомолекулярных примесей. Как и белки, они легко осаждаются из йодных растворов при низких температурах методами высаливания или осторожным добавлением ацетона, этанола и других веществ и при этом не теряют своих каталитических свойств.

Поэтому при получении ферментов в чистом виде и при их хранении следует учитывать одно важное двойство белков, а именно стабильность, которая определяется рядом факторов. Одним из общих правил при работе с ферментами является оптимальная температура, обычно соответствующая температуре тела, а для препаративных целей - около 0°C.

Большинство ферментов сохраняет стабильность при pH 6,0-8,0, хотя имеются исключения. Для препаративных целей часто прибегают к обезвоживанию фермента (удаление воды) в вакууме из замороженного раствора (лиофилизация). Осаждение из раствора ферментов спиртом или ацетоном также проводят при низкой температуре, поскольку при комнатной температуре эти процедуры приводят к почти полной потере ферментативной активности. Для стабилизации фермента часто пользуются хелатообразующими агентами: например, к ферменту добавляют этилендиаминтетраацетат (ЭДТА):

ЭДТА может связывать нежелательные примеси (следы ионов тяжелых металлов: меди, свинца, ртути и др. - в реактивах), тормозящие активность фермента. Одно из неперенных условий сохранения стабильности ферментов - хранение их в высушенном или замороженном состоянии. Многие ферменты стабильны в виде суспензии в концентрированных растворах сульфата аммония.

СРАВНЕНИЕ ФЕРМЕНТОВ И НЕБИОЛОГИЧЕСКИХ КАТАЛИЗАТОРОВ

Общие свойства ферментов и химических катализаторов небелковой природы:

- 1) Ферменты не входят в состав конечных продуктов реакции и не тратятся в процессе катализа, выходя из реакции в неизменном виде.
- 2) Ферменты только ускоряют реакции протекающие и без них, не могут возбудить реакций, противоречащих законам термодинамики.
- 3) Ферменты не смещают положение равновесия, а лишь ускоряют его

достижение.

Отличительные признаки ферментативного и химического катализа:

1) Скорость ферментативного катализа намного выше, чем небиологического.

Энергия активации (E_a) и относительная скорость реакции разложения H_2O_2 при отсутствии и в присутствии различных катализаторов

Катализатор	E_a кДж/моль	Относительная скорость реакция при 300 К
Без катализатора	70	1
Pt (гетерогенный)	45	$2 \cdot 10^3$
Ионы железа (гомогенный)	42	$8 \cdot 10^3$
Каталаза	7	$9 \cdot 10^3$

Одна-единственная молекула фермента может катализировать при обычной температуре превращение от тысячи до миллиона молекул вещества в минуту. Эта скорость катализа недостижима для небиологических катализаторов.

Так 1 грамм фермента пепсина способен расщепить 50 килограммов яичного белка, 1 грамм кристаллического ренина заставляет свернуться 72 тонны молока.

2) Ферменты обладают высокой специфичностью, направляя превращение вещества в строгое русло. Каждый фермент катализирует в основном только определенную химическую реакцию.

3) Ферментативные процессы не дают побочных реакций, для них характерен 100% выход целевого продукта.

4) Ферменты катализируют реакции в мягких условиях, то есть при обычном давлении, небольшой температуре и значениях pH, близких к нейтральным, однако весьма чувствительны к сдвигам pH среды и изменению температуры.

5) Ферменты регулируемы. То есть они могут изменять свою активность под воздействием ряда факторов, изменяя количественные выходы продуктов. Этим обеспечивается скоординированность всех метаболических процессов во времени.

6) Скорость ферментативной реакции прямо пропорциональна количеству фермента, поэтому недостаток фермента в организме означает низкую скорость превращения какого-либо соединения, и наоборот, одним из путей приспособления организма является увеличение количества требуемого фермента.

7) Все ферменты являются белками. Молекулярная масса ферментов колеблется в широких пределах от $12 \cdot 10^3$ до $10 \cdot 10^6$ Да.

8) Ферменты образуют в клетке мультиферментные системы, как правило, связанные с клеточными структурами.

9) Для каждого фермента характерны специфическая последовательность расположения аминокислотных остатков и пространственная конформация. Существенной особенностью ферментов