

ФЕРМЕНТЫ – БЕЛКИ С ОСОБОЙ ФУНКЦИЕЙ КАТАЛИЗА

1. Общие принципы катализа
2. Механизмы действия ферментов

Наталья Львовна Клячко

Профессор химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова
Кафедра химической энзимологии

klyachko@enzyme.chem.msu.ru
nklyachko@gmail.com

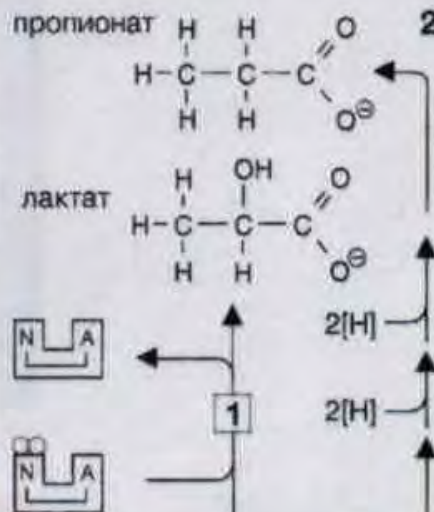
<https://sdo.chem.msu.ru/>





А. Молочнокислое и пропионовокислое брожение

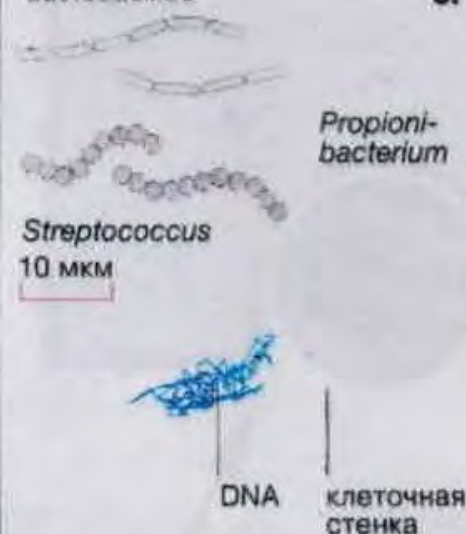
1.



2.

Lactobacillus

3.



1 лактатдегидрогеназа
1.1.1.27

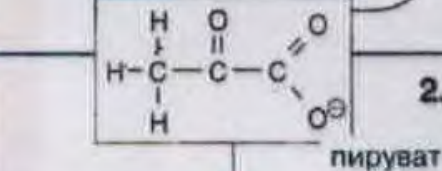
1.

2 пируватдекарбоксилаза
[TPP] 4.1.1.1

3 алкогольдегидрогеназа
[Zn²⁺] 1.1.1.1



Б. Спиртовое брожение



2.

10 мкм

3.



Стиральные порошки с энзимами

Энзимы - это биодобавки к порошку, отвечающие за удаление определенных загрязнений и пятен. Основные энзимы, борющиеся за чистоту при стирке: «**протеаза**» (пятна белкового происхождения), «**амилаза**» (против крахмалосодержащих загрязнений), «**липаза**» (жирные пятна) и «**целлюлаза**» (против серости ткани). В составе липазы, амилазы, протеазы

Мезим форте

Пищеварительное ферментное средство, восполняет дефицит ферментов поджелудочной железы, оказывает протеолитическое, амилалитическое и липолитическое действие.

Входящие в состав панкреатические ферменты (**липаза, альфа-амилаза, трипсин, химотрипсин**) способствуют расщеплению белков до аминокислот, жиров - до глицерина и жирных кислот, крахмала - до декстринов и моносахаридов.

Панкреатические ферменты высвобождаются из лекарственной формы в щелочной среде тонкого кишечника, т.к. защищены от действия желудочного сока оболочкой. Максимальная ферментативная активность препарата отмечается через 30-45 мин после перорального приема



Лауреаты нобелевской премии по химии 2018 года.

Слева направо: Фрэнсис Арнольд (Frances H. Arnold), Джордж Смит (George P. Smith) и Грег Уинтер (Sir Gregory P. Winter)

Половина премии досталась американской исследовательнице **Фрэнсис Арнольд «за направленную эволюцию ферментов»**, вторую половину поровну поделили американец **Джордж Смит** и Грег Уинтер из Великобритании — **«за фаговый дисплей пептидов и антител»**.

Все авторы связаны с разработкой методов для получения полезных для человека белков и пептидов, основанных на имитации естественного «метода» биологической эволюции, а именно — на сочетании случайной изменчивости и неслучайного отбора.

Фрэнсис Арнольд получила свой первый «неестественный» (non-natural) фермент в 1993 году (K. Chen, F. H. Arnold, 1993. Tuning the activity of an enzyme for unusual environments: sequential random mutagenesis of subtilisin E for catalysis in dimethylformamide). Тогда был получен новый **вариант фермента субтилизина E**, который катализирует расщепление и образование пептидных связей (соединений между аминокислотами в пептидных цепочках), причем, благодаря методу направленной эволюции и внесению в исходно взятый природный белок **10 аминокислотных замен**, удалось заставить фермент **работать в органическом растворителе (60% диметилформамиде)** и повысить термостабильность на 18 градусов.



Лауреаты Нобелевской премии по химии 2020 года.

Слева — Дженнифер Дудна (Jennifer Doudna), справа — Эммануэль Шарпантье (Emmanuelle Charpentier).

Нобелевская премия по химии присуждена американке Дженнифер Дудне и француженке Эммануэль Шарпантье «**за исследование метода редактирования генома**».

Они сыграли важнейшую роль в изучении CRISPR — природной системы приобретенного иммунитета у микроорганизмов. С ее помощью микроорганизмы могут находить и избавляться от попавшей в их клетки вирусной РНК или ДНК. Исследуя эту систему, ученым мало-помалу удалось разобраться, из чего она состоит и как работает. А Дудна и Шарпантье довели это понимание до такой четкости, что смогли создать ее искусственный аналог, работающий точно и эффективно там, где необходимо самому исследователю в зависимости от поставленных задач.

За открытие «одного из лучших инструментов геной инженерии: генетических ножниц CRISPR-Cas9, используя которые, ученые могут редактировать ДНК животных, растений и микроорганизмов с очень высокой точностью»

CRISPR — короткие палиндромные повторы, регулярно расположенные кластерами (clustered regularly interspaced short palindromic repeats)

Эндонуклеаза Cas9, состоящая из трех субъединиц, две из которых разрезают протоспейсер с двух концов.



Детская игрушка «сделай сам», позволяющая создать с помощью **CRISPR светящиеся дрожжи**. Объясняется, как в ДНК дрожжей вставляется ген светящегося белка. Его нуклеотидная последовательность заключается между определенными повторами — получается CRISPR-РНК или, сокращенно, crРНК. К ней прикрепляется еще один кусочек РНК (trans-CRISPR-РНК или tracrРНК). Необходимо, чтобы комплементарно соединиться с повтором, — тогда на него сможет сесть белок Cas9 и разрезать ДНК в нужном месте. Затем на место разреза с помощью ферментов вшивается ген светящегося белка. **Главное здесь — система «crРНК + tracrРНК + Cas9».**

Основные функции живого

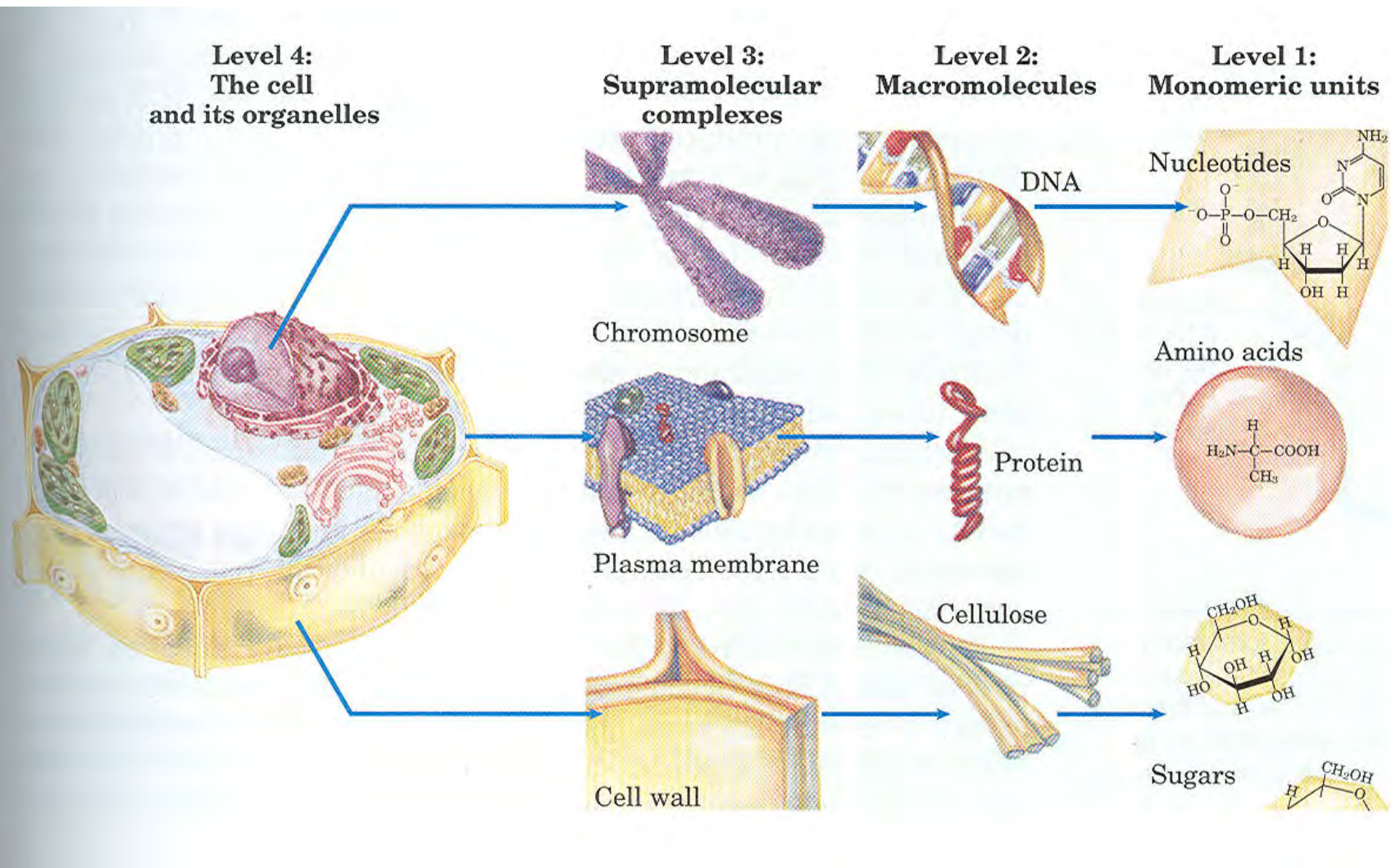
1. Гомеостаз -

способность **открытой системы** сохранять постоянство своего внутреннего состояния посредством скоординированных реакций, направленных на поддержание динамического равновесия

2. Размножение

Уровни структурной организации

Клетка Супрамолекулярный комплекс Полимер Мономер



Белки : разнообразие в природе

Тип белка	Функции
Ферменты	Катализ
Альбумины	Транспорт
Антитела, глобулины	Иммунитет, узнавание
Интерфероны	Защита
Актин, миозин	Мышечное сокращение
Рецепторы, гормоны	Узнавание, передача сигнала, регуляция
Структурные	Построение органов и тканей
Гистоны	<u>Компактизация ДНК</u>
Ингибиторы	Регуляция

Уровни структуры белков: 1 — первичная, 2 — вторичная, 3 — третичная, 4 — четвертичная

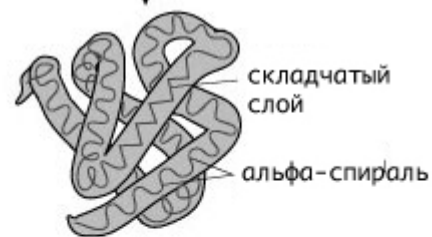
1



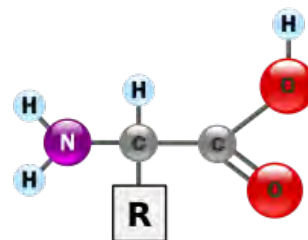
2



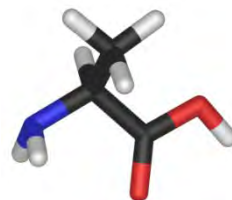
3



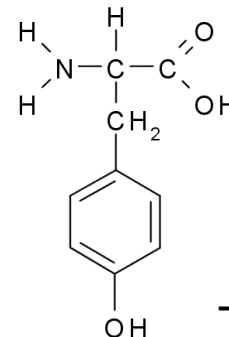
4



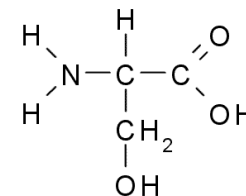
Аминокислота
20 канонических



Аланин

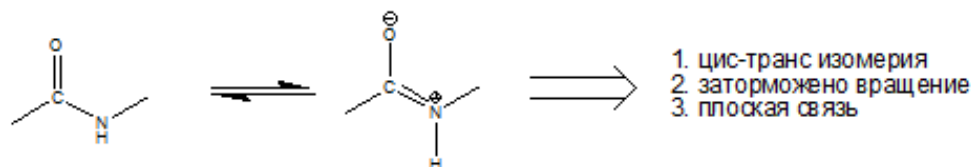


Тирозин



Серин

Белки : первичная структура



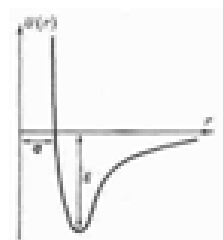
Белки : структуры высших уровней

ЭТИ СТРУКТУРЫ СУЩЕСТВУЮТ РЕАЛЬНО В ПРОСТРАНСТЕ !

Силы, поддерживающие структуры высших уровней –
НЕВАЛЕНТНЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ

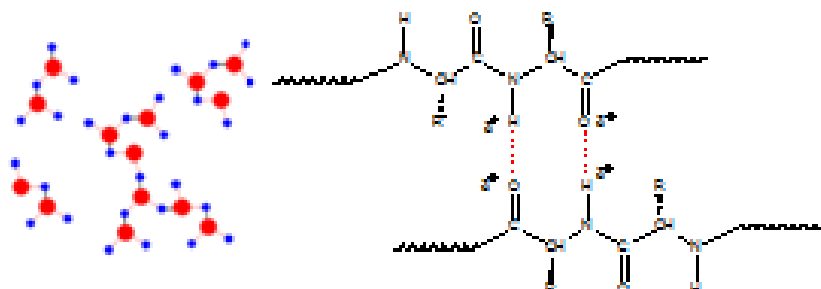
1. Дисперсионные силы притяжения
и отталкивание
электронных оболочек

$$U(r) = 4\varepsilon [(\sigma/r)^{12} - (\sigma/r)^6]$$



2. Электростатические взаимодействия
подчиняются закону Кулона
зависят от диэлектрической постоянной среды

3. Водородные связи
электростатическая природа
наиболее выгодны при линейном расположении



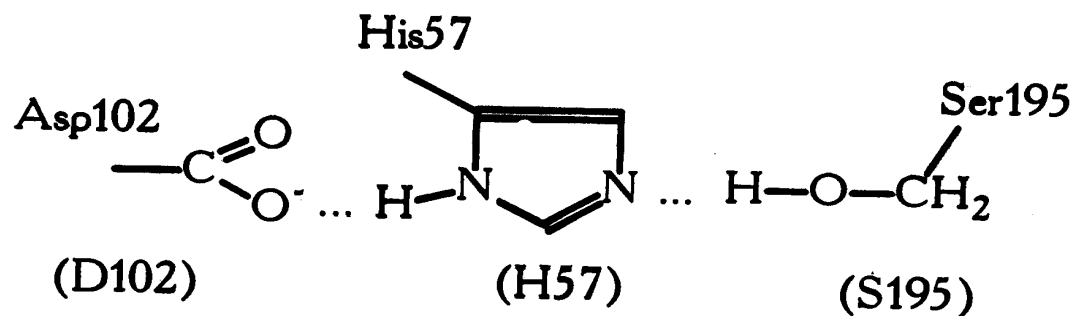
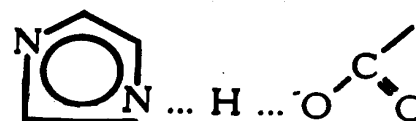
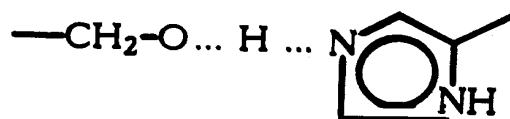
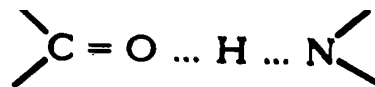
4. Гидрофобные взаимодействия

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

Клатратная («замороженная») вода вокруг неполярных радикалов
Уход от контакта с водой, выигрыш в энтропии растворителя

Взаимодействия в белковой молекуле

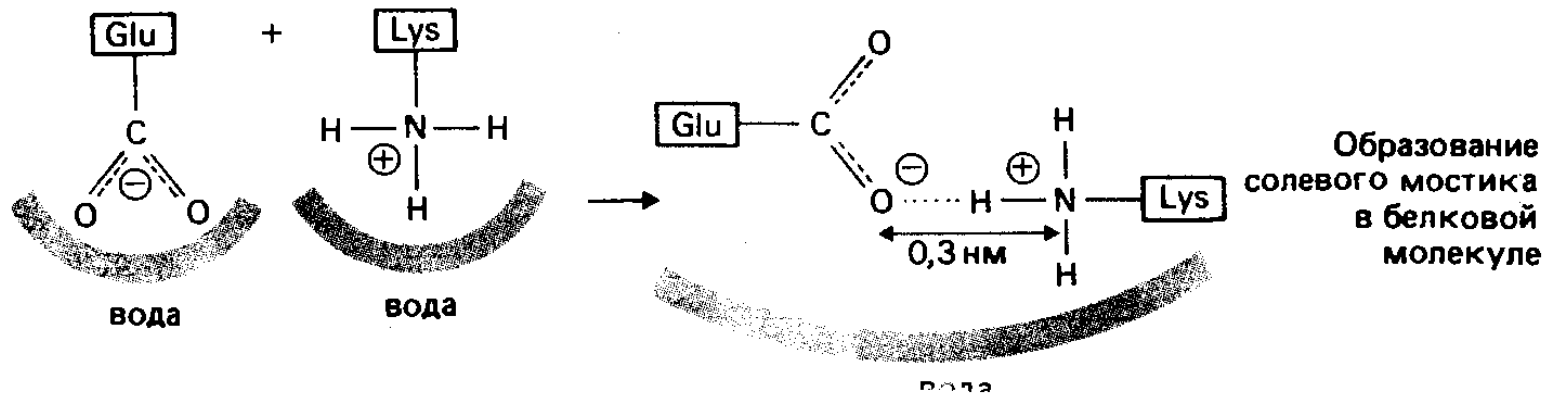
Водородные связи



$$\Delta G_0 = 0.5 - 1.8 \text{ ккал/моль}$$

Взаимодействия в белковой молекуле

Электростатические взаимодействия



$$\Delta G_0 = -3 - 4 \text{ ккал/моль}$$

Электростатические взаимодействия слабо проявляются в концентрированных растворах электролитов

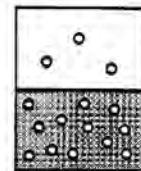
Взаимодействия в белковой молекуле

Гидрофобные взаимодействия

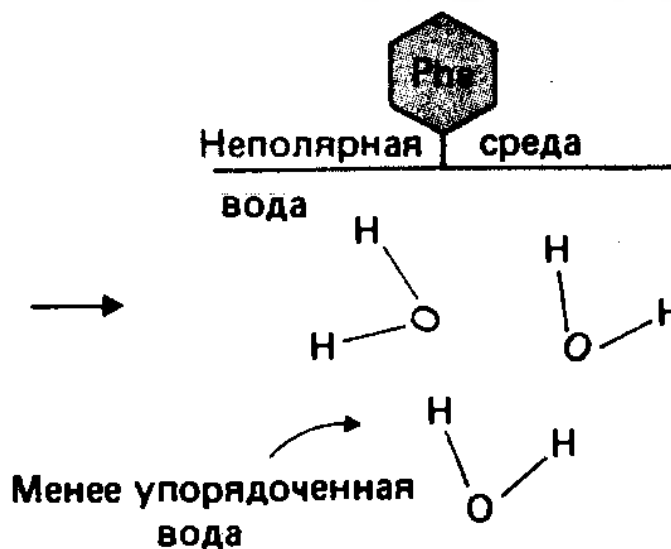
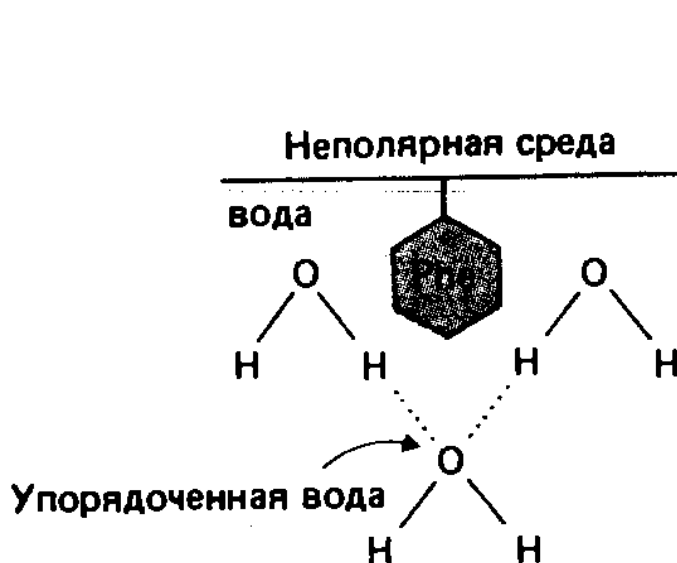
$$\Delta G = -RT \ln P = -RT \ln \frac{[A]_{\text{ОКТ}}}{[A]_{\text{вода}}}$$

Параметр гидрофобности Ганша (C. Hansch)

$$\pi = \lg P_{RX} - \lg P_{RH} = \lg \frac{P_{RX}}{P_{RH}}$$

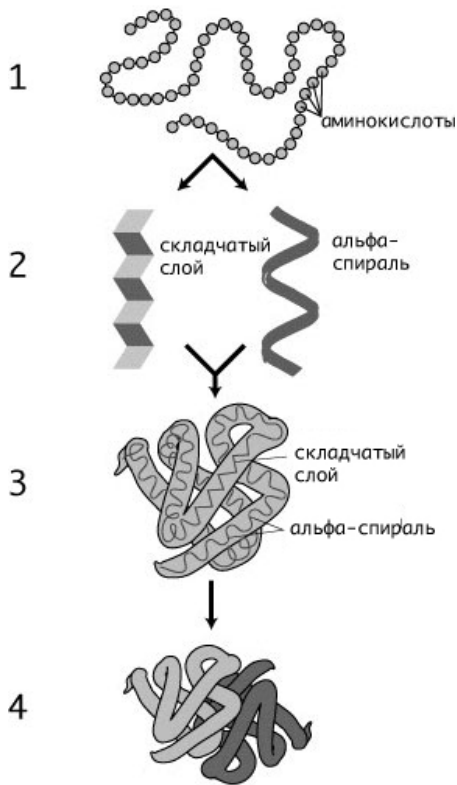


$$\Delta\Delta G(\text{CH}_2) \sim 750 \text{ кал/моль}$$



Переход боковой цепи остатка Phe из раствора внутрь белковой молекулы

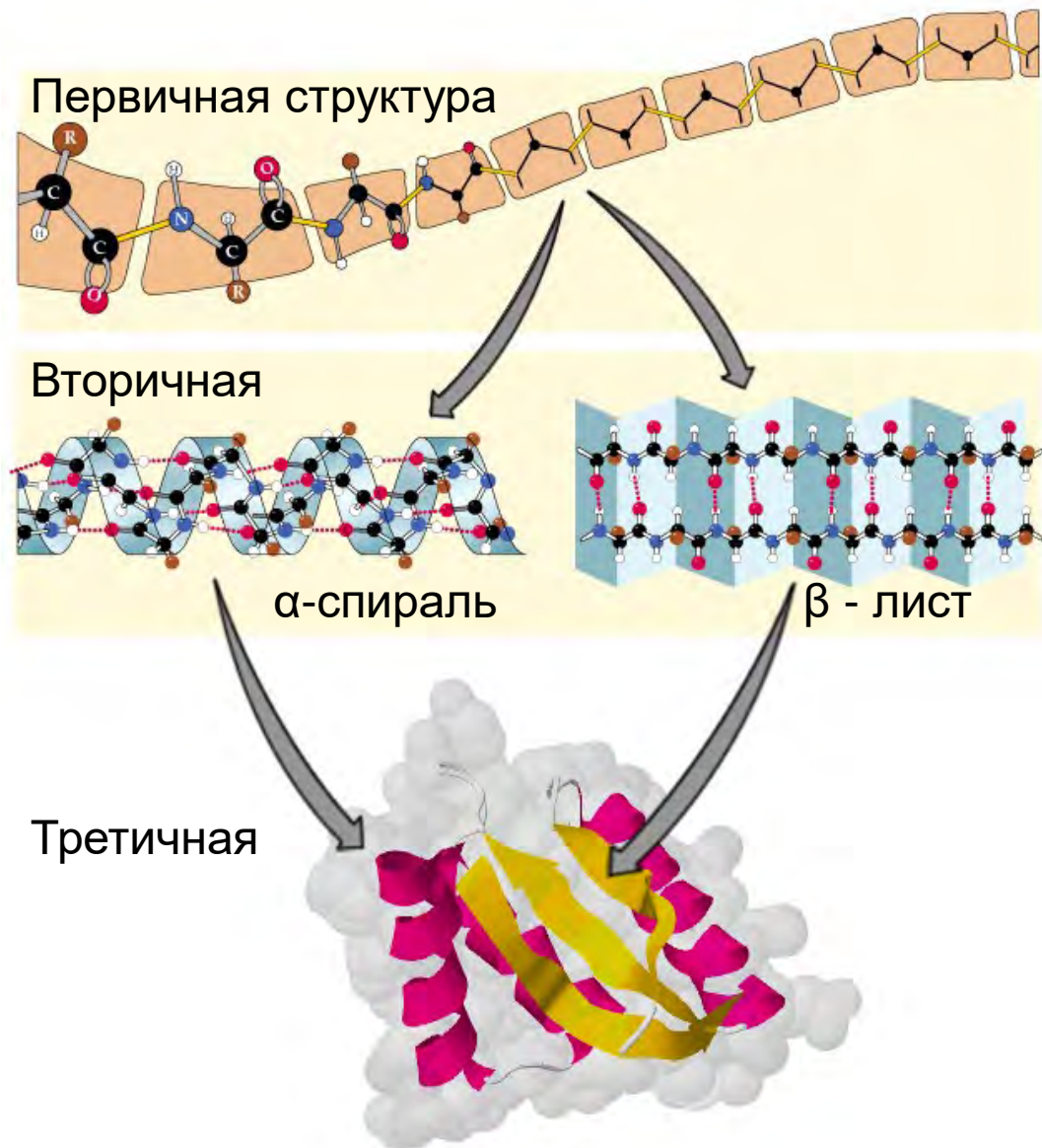
Самосборка: самоассоциация и образование гетерокомпонентных агрегатов



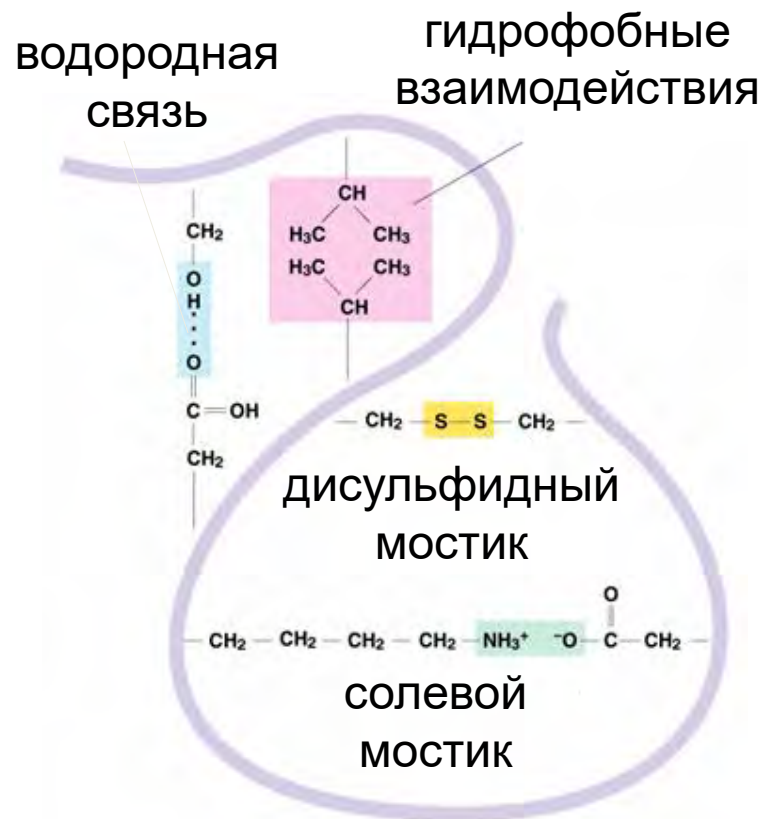
- Образование структур такого рода должно быть основано на комбинации **узнающих модулей**, что вытекает из геометрической комплементарности и химического узнавания
- **Самосборка – центральный процесс во всех биологических системах**
- В большинстве случаев сборка сложных биологических систем идёт **без использования исходных матриц**
- Самосборка – идёт за счёт **многоточечных нековалентных (невалентных) взаимодействий** «строительных блоков»: водородные связи, электростатические и гидрофобные взаимодействия

Тип связи	Длина связи, нм	Энергия связи в воде, ккал/моль
Ковалентная	0,15	90
Ионная	0,25	1
Водородная	0,30	1
Вандерваальсова	0,20	0,1

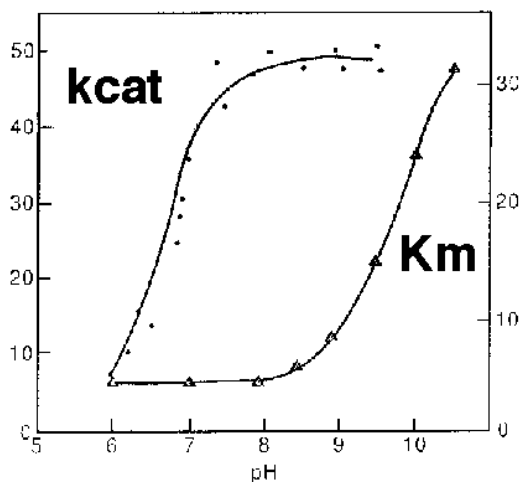
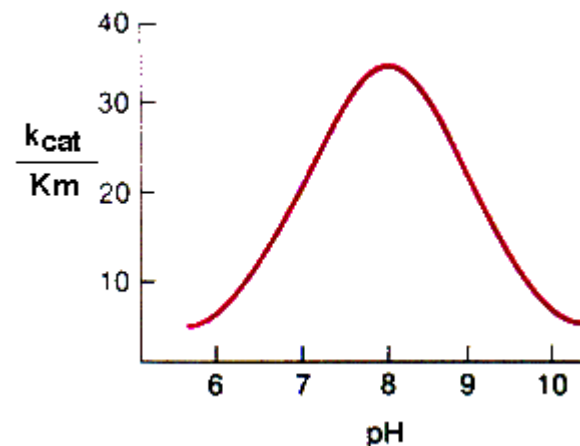
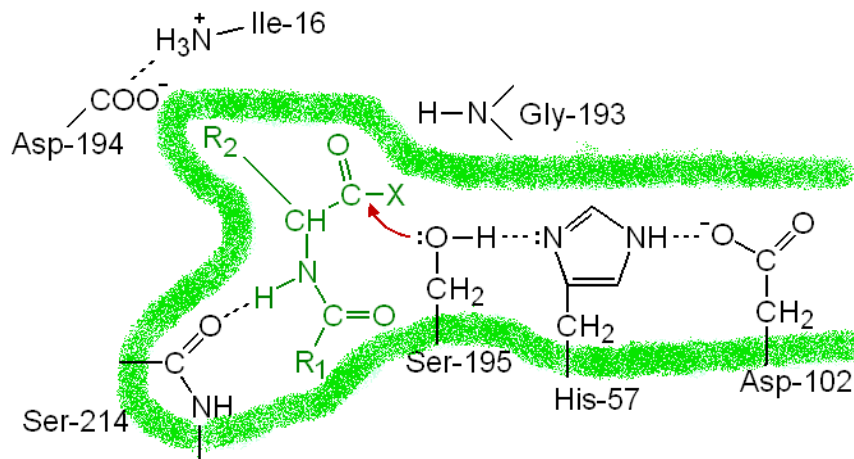
Структура глобулярных белков



Взаимодействия между боковыми радикалами аминокислот:



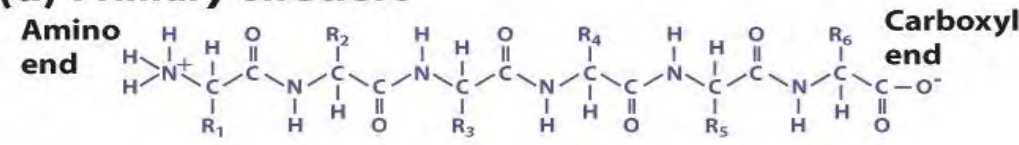
АКТИВНЫЙ ЦЕНТР ХИМОТРИПСИНА



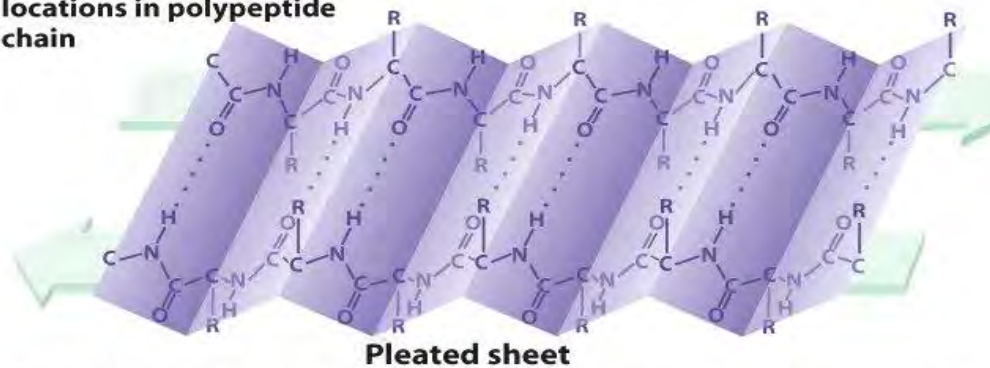
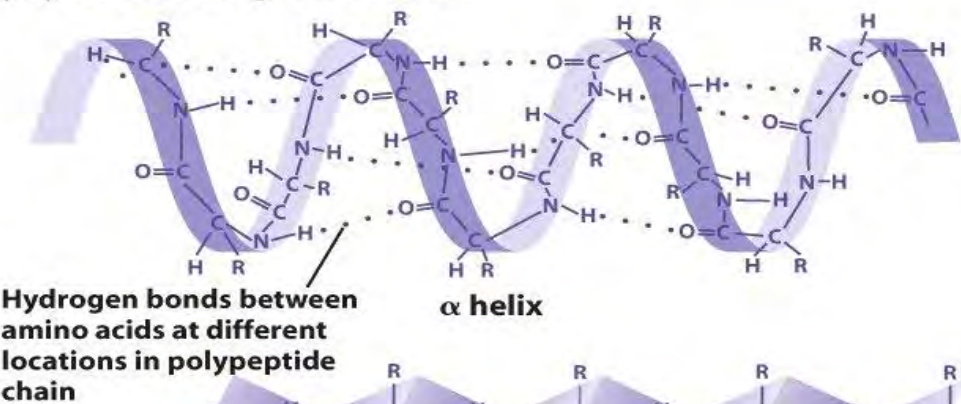
pH-оптимум k_{cat}/K_m - 8.
 Левая ветвь – pK 6.8.
 ЯМР и дифракция нейтронов
 – His-57.

Правая ветвь
 – увеличение
 K_m .
 Разрушение
 солевого
 мостика Ile-16
 – Asp-194.

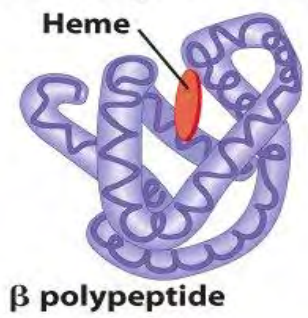
(a) Primary structure



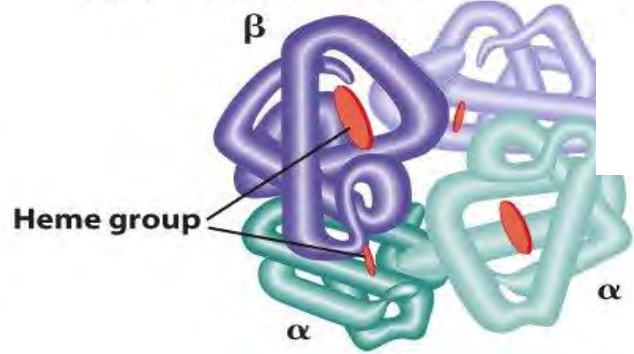
(b) Secondary structure



(c) Tertiary structure



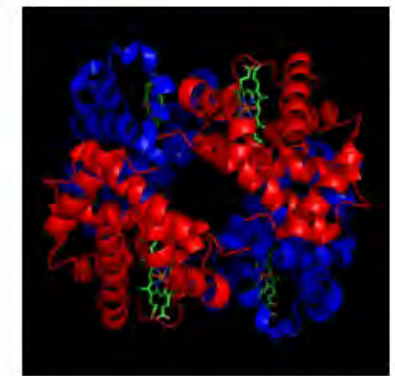
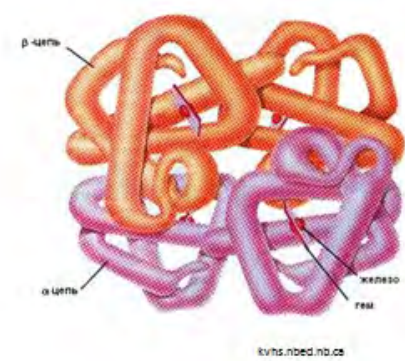
(d) Quaternary structure



Самосборка

Белки: ассоциаты

Гемоглобин



Термодинамика молекулярного узнавания

Чаще всего движущей силой является увеличение энтропии системы.

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

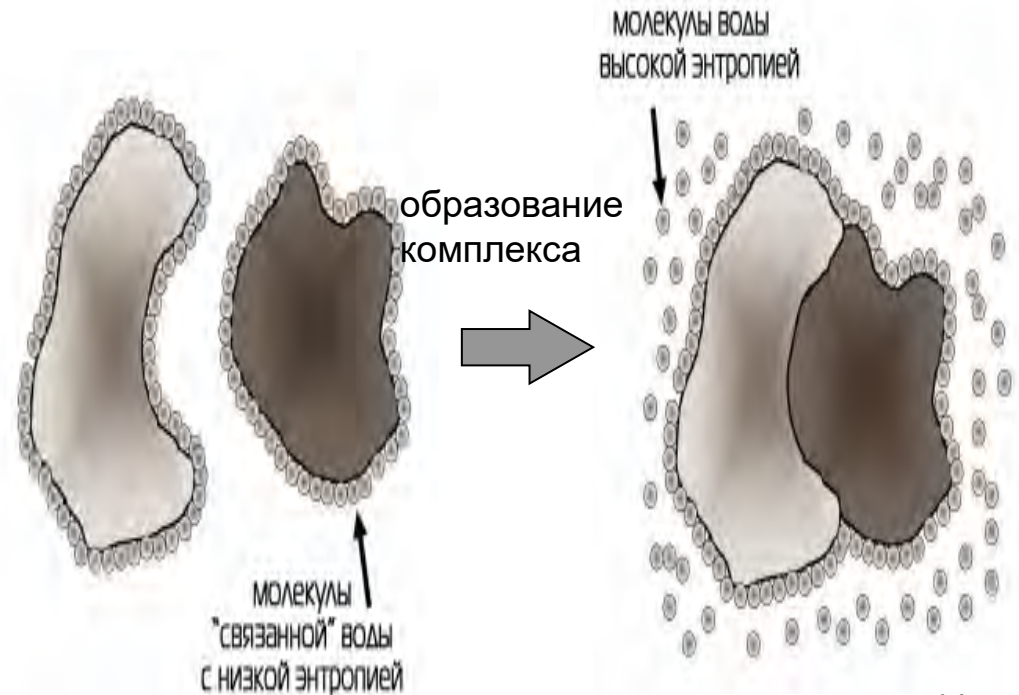
АФФИННОСТЬ МОЛЕКУЛЯРНОГО УЗНАВАНИЯ

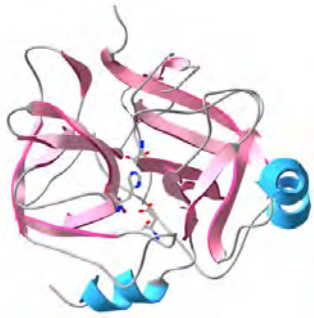
- Специфическим связыванием считают тогда, когда значение K_d — ниже 1 мкМ.
- Антиген-антитело - K_d — $10^{-9} - 10^{-12}$ М
- Лиганд-рецептор - K_d — $10^{-6} - 10^{-10}$ М
- Фермент-ингибитор - K_d — $10^{-6} - 10^{-15}$ М



$$K_B = C_{H^+} C_{OH^-} = K_{H_2O} C_{H_2O} = 1,8 \cdot 10^{-16} \cdot 55,6 = 1 \cdot 10^{-14}$$

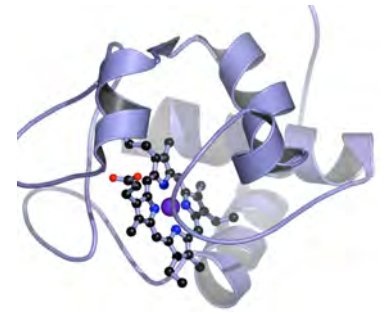
$$C_{H^+} = C_{OH^-} = 1 \cdot 10^{-7}$$





БЕЛКИ

ПРОСТЫЕ И СЛОЖНЫЕ



- Белки содержат только аминокислоты – **простые белки**
- Белки содержат дополнительные компоненты – **сложные белки**
- Небелковые компоненты, необходимые для катализа – **кофакторы, коферменты и простетические группы**

Простетические группы прочно связаны с белковой частью

Белки содержат углеводы (**гликопротеины**: пероксидазы)

Белки содержат липиды (**липопротеины**: протеинкиназа А)

Белки содержат нуклеотиды (**нуклеопротеины**: флавопротеины)

Металлопротеины, гем-содержащие белки и ферменты, фосфопротеины
(сигнальные белки, фосфорилирование ОН-групп Ser, Thr, Tyr)

Дают химические (перенос гидрид-иона) и структурные (молекулярное узнавание) свойства, которые невозможно покрыть за счет аминокислот



Луи Пастер
(1822—1895)

ФЕРМЕНТ = ENZYME («ЭНЗИМ»)



Марселен Бертло
(1827—1907)



Юстус фон Либих
(1803—1873)

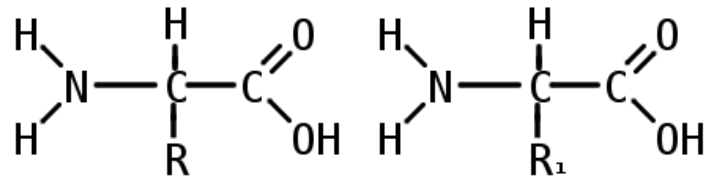
Спор Пастера с Бертло и Либихом (19 век)

О природе спиртового брожения

Ферментами от латинского *Fermentum* (закваска) называли сами микроорганизмы (то есть **целые клетки**).

Слово **ЭНЗИМ** от греческого *En* (в) и *zyme* (закваска) было предложено Кюне в 1876 г. для, так называемых, неорганизованных ферментов, секретируемых клетками, например, в желудок.

Бюхнер в 1897 г. экспериментально доказал, что и **бесклеточный дрожжевой сок** осуществляет **спиртовое брожение** так же хорошо, как и неразрушенные клетки микроорганизмов (Нобелевская премия в 1907 году)



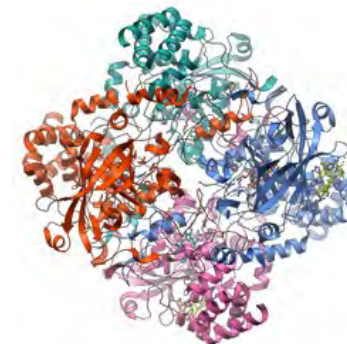
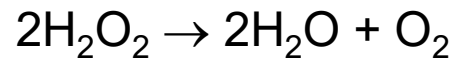
Ферменты - это молекулы белков, которые катализируют (ускоряют) протекающие в организме процессы.

Практически любая реакция в организме осуществляется под действием катализатора.

Простая реакция гидратации углекислого газа в организме идет под действием катализатора (фермента) - **карбоангидразы**:

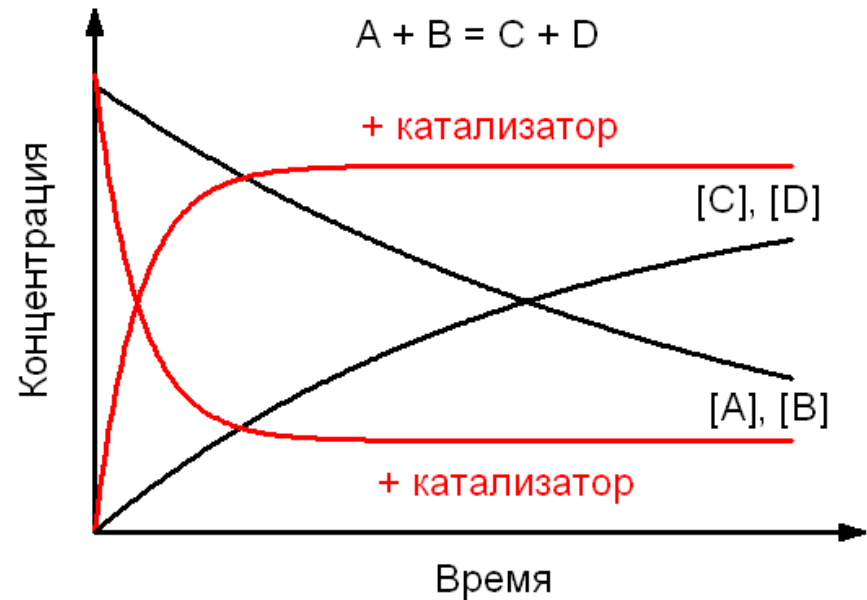
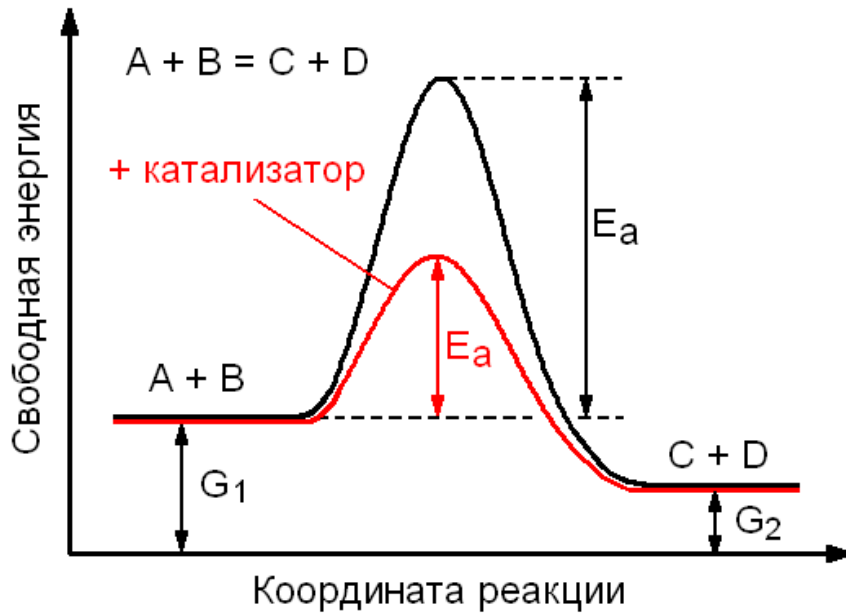


ЭФФЕКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ



Катализатор	Еа, кДж/моль	Относительная скорость при 25°C.
нет	70	1
Pt (гетерогенный катализ)	45	2100
Fe ²⁺ (гомогенный катализ)	42	8100
каталаза	7	9*10¹⁰

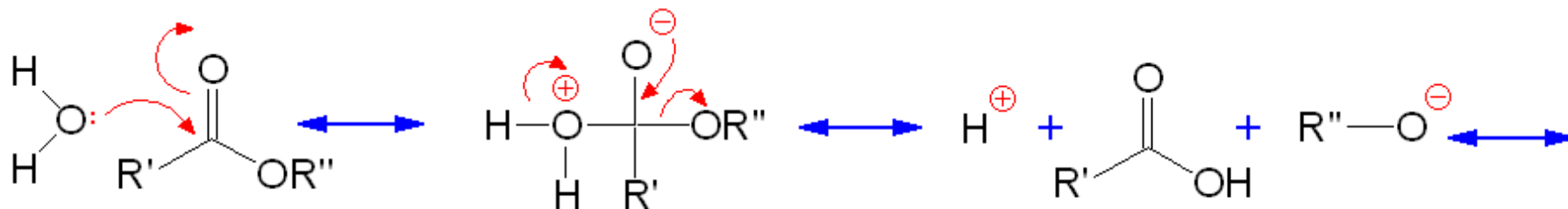
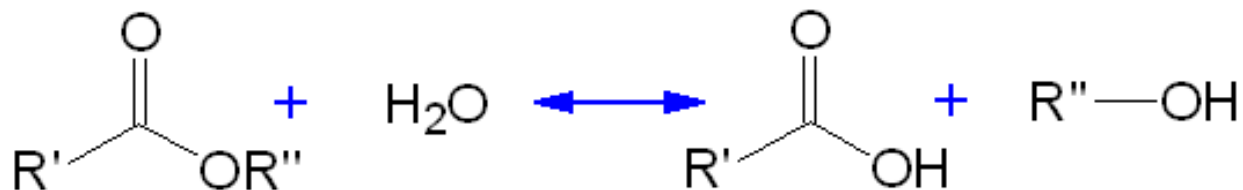
ОБЩИЕ ПРИНЦИПЫ КАТАЛИЗА



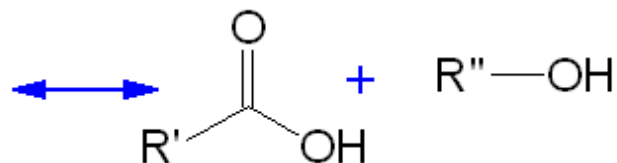
- Не всякая термодинамически выгодная химическая реакция будет идти (энергия активации, переходное состояние)
- Катализатор не влияет на константу равновесия (не изменяет $\Delta G = G_2 - G_1$)
- Катализатор понижает энергию активации

ГИДРОЛИЗ СЛОЖНОГО ЭФИРА

В водной среде при нейтральных pH



Реакция нуклеофильного замещения



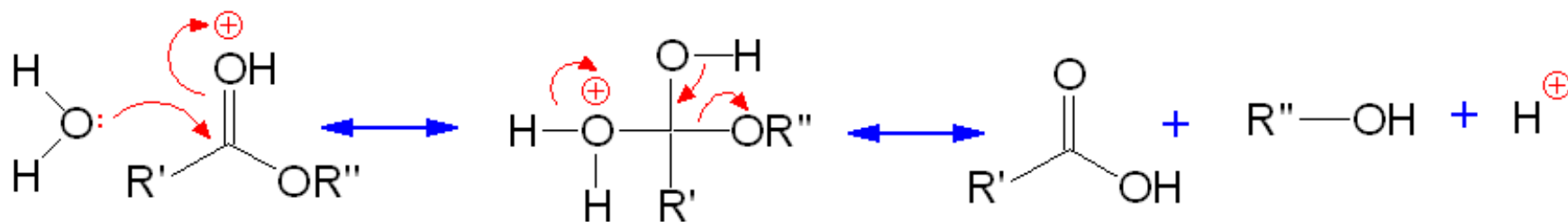
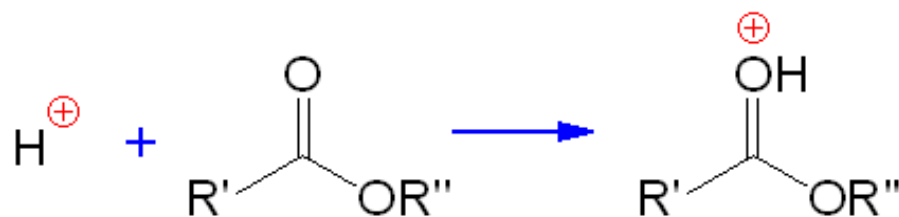
Переходное состояние двухзарядное (положительный и отрицательный заряды вблизи друг друга).

- ⇒ переходное состояние нестабильно;
- ⇒ его образование требует высокой энергии активации;
- ⇒ скорость реакции мала, если она вообще идёт

ОСНОВНЫЕ ТИПЫ КАТАЛИЗА

1. Кислотно-основный катализ (H^+ или OH^-)
2. Ковалентный катализ (электрофильный или нуклеофильный)
3. Внутримолекулярный катализ

Кислоты могут катализировать реакцию, временно давая H^+ , например, эфиру

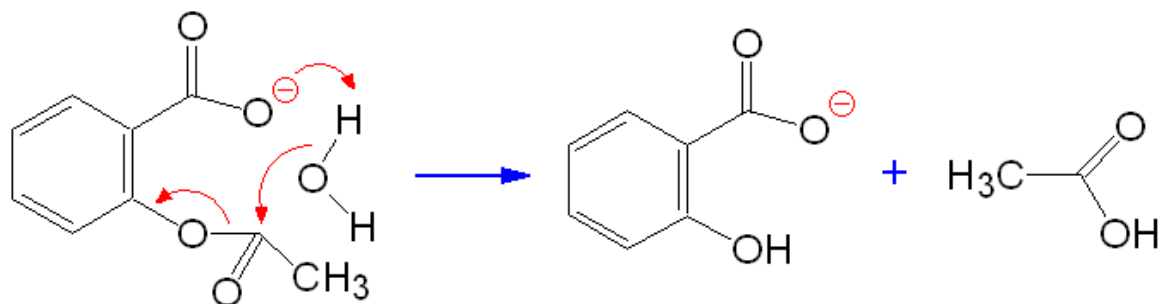


Протонированная
форма эфира
атакуется водой

Более стабильное
переходное состояние
 $\Rightarrow$ скорость выше

ВНУТРИМОЛЕКУЛЯРНЫЙ КАТАЛИЗ

Пример – гидролиз аспирина. Гидролиз эфирной связи ускоряется с помощью внутримолекулярного общесредственного катализа. Скорость реакции увеличивается в 200 раз.



Энтропия – важный фактор катализа

Реакции в растворе $\Rightarrow$ сближение реагирующих молекул $\Rightarrow$ уменьшение энтропии

Ферментативные реакции в пределах ES комплекса $\Rightarrow$ эффективная концентрация каталитических групп высока по сравнению с реакцией в растворе $\Rightarrow$ выигрыш в энергии оплачен энергией связывания субстрата ферментом

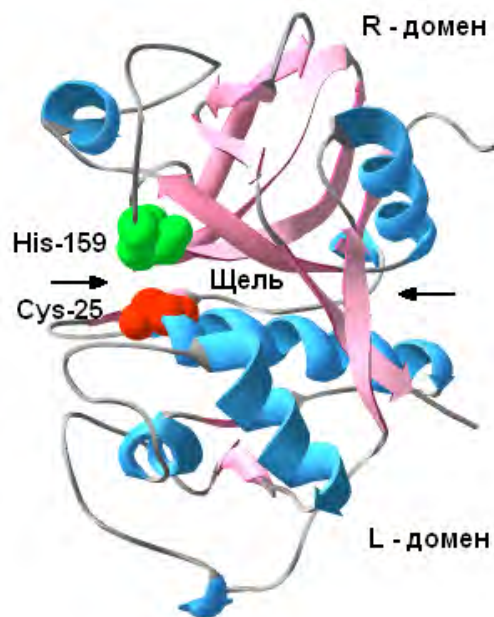
Уменьшение энтропии поступательного и вращательного движения происходит не на химической стадии реакции.

Отличия ферментов от небиологических катализаторов

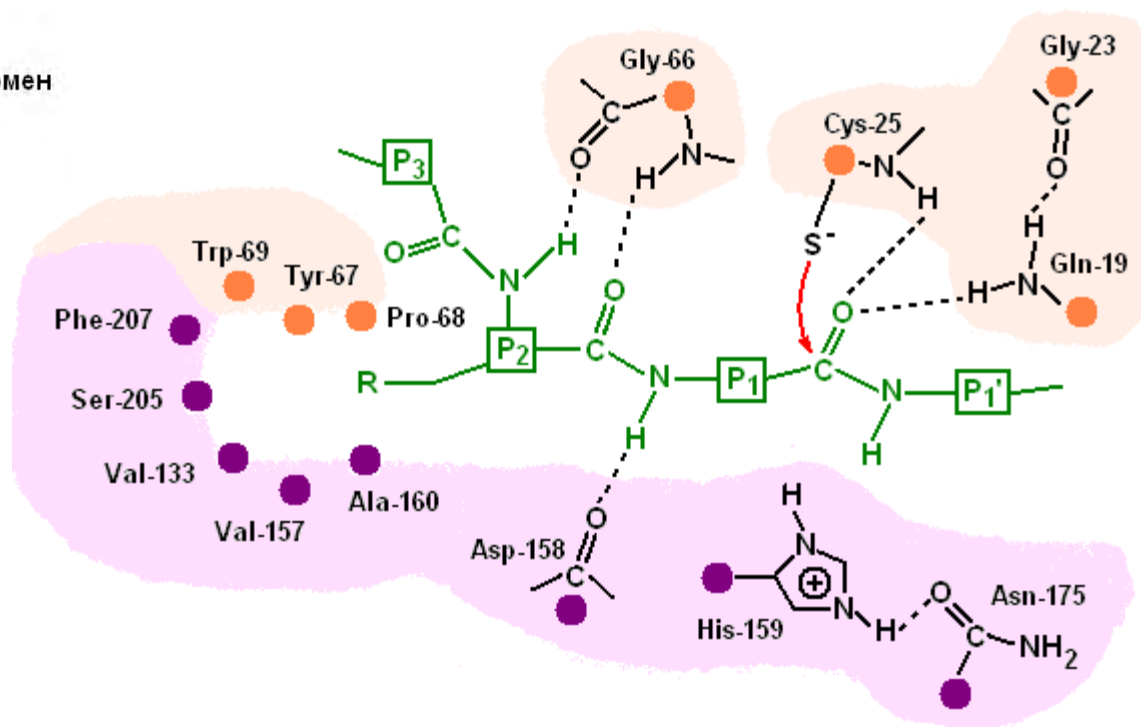
- Удивительная эффективность ферментов

Число оборотов некоторых ферментов

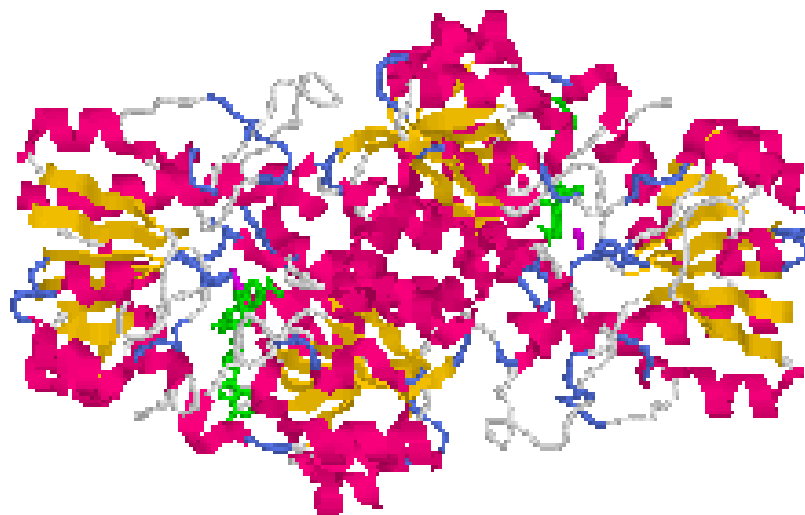
Фермент	Число оборотов в 1 мин при 37° С
Карбоангидраза	36 000 000
β -Амилаза	1 100 000
Фосфоглюкомутаза	1 240



ПАПАИН: взаимодействие субстрата с активным центром фермента

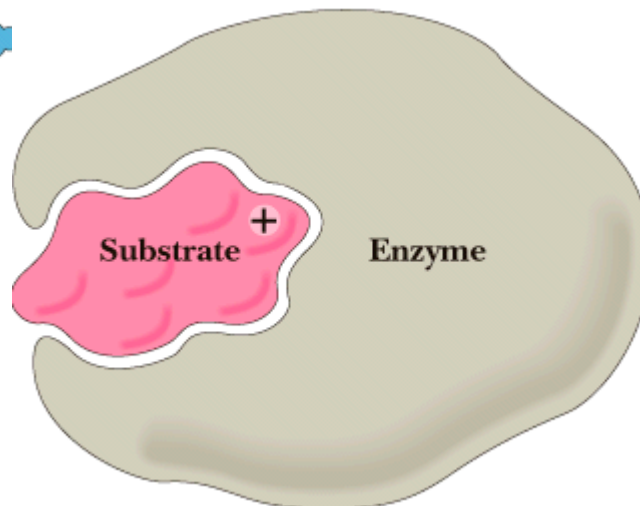
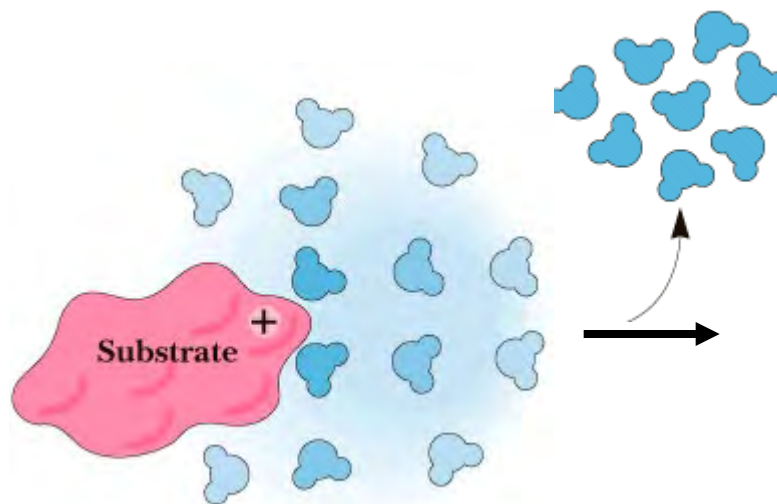
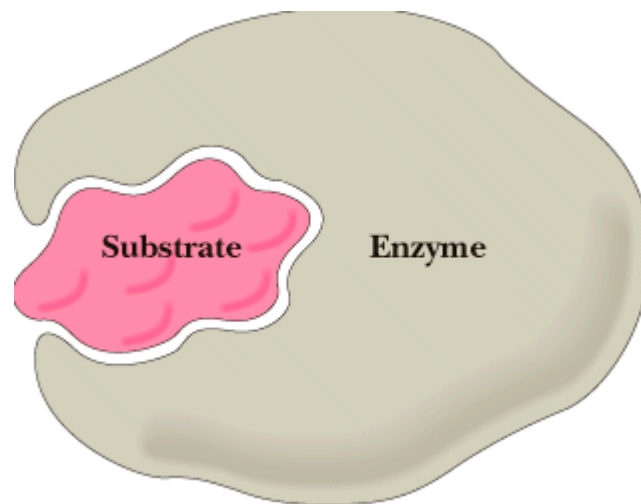
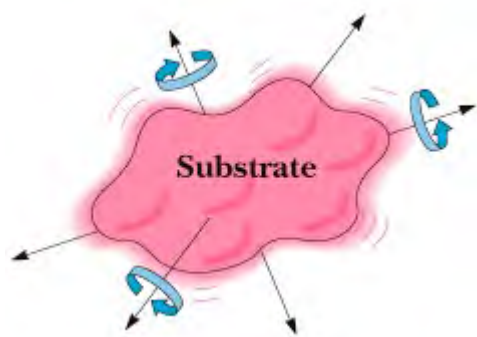


ФОРМИАТДЕГИДРОГЕНАЗА - СВЯЗЫВАНИЕ С КОФЕРМЕНТОМ ВЫЗЫВАЕТ КОНФОРМАЦИОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ



Е и S свободны (поступательные, вращательные, колебательные движения) → **высокая энтропия**

Упорядоченный ES комплекс
- **низкая энтропия**

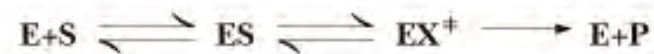
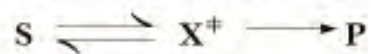


Сольватная оболочка

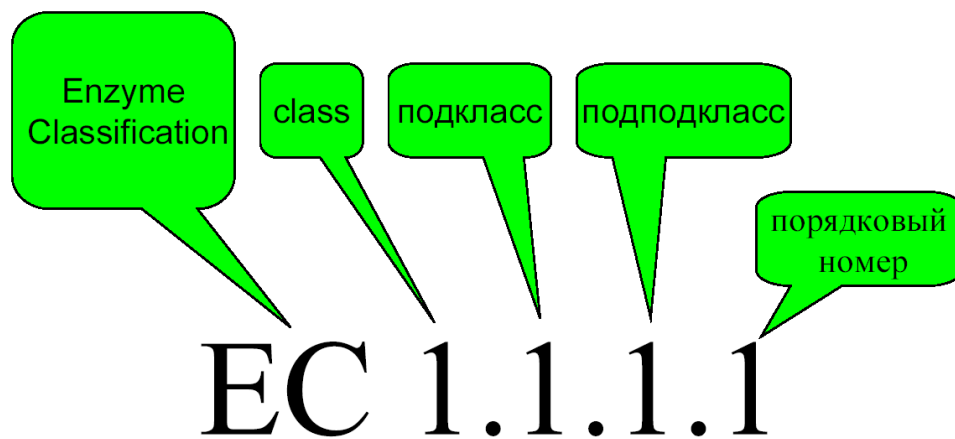
Десольватированный ES комплекс

Факторы, определяющие каталитическую эффективность ферментов

- Сближение и ориентация (внутримолекулярный режим реакции)
- Напряжение и деформация; индуцированное соответствие
- Общий кислотно-основной катализ;
Ковалентный катализ
- Эффекты микросреды



Классификация ферментов – Е.С. (Enzyme Classification)



1. Оксидоредуктазы
2. Трансферазы
3. Гидролазы
4. Лиазы
5. Изомеразы
6. Лигазы
7. Транслоказы (2018)

Задание. EC 7 Translocases
Дать пример фермента из класса 7 и катализируемой им реакции;
написать, чем определяется подкласс и подподкласс в приведенном примере

КЛАССЫ ФЕРМЕНТОВ

1. Оксидоредуктазы

Доноры электронов $\text{CH} - \text{OH}$, $\text{CH} - \text{CH}$, $\text{C} = \text{O}$, $\text{CH} - \text{NH}_2$ и др.

В подклассе **1.X** **X** определяется типом донора электронов:



1.X.Y **Y** определяется типом акцептора электронов:



2. Трансферазы

Перенос группы **A** с субстрата **S1** на субстрат **S2** (**A**, $\text{S1} \neq \text{H}_2\text{O}$ или OH)

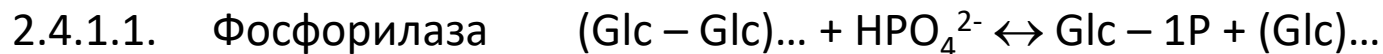
Некоторые подклассы:

2.1. Ферменты, переносящие одноуглеродный остаток,

2.2. Ферменты, переносящие кетонную группу $\text{C} = \text{O}$,

2.4. Ферменты, переносящие гликозил,

2.7. Ферменты, переносящие фосфорсодержащую группу



КЛАССЫ ФЕРМЕНТОВ (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

3. Гидролазы

Гидролиз эфирных, сложноэфирных, пептидных и гликозильных связей, кислотных ангидридов, связей C – C, C – Hal и P – N

Некоторые подклассы:

3.1. Ферменты, действующие на сложные эфиры,

3.2. Ферменты, действующие на гликозиды,

3.3. Ферменты, действующие на простые эфиры,

3.4. Ферменты, действующие на пептиды

3.4.21.1. Химотрипсин $RC(O)-NH-CH_2R' + H_2O \rightarrow RC(O)OH + NH_2CH_2R'$

3.1.1.7. Ацетилхолинэстераза $RC(O)-O-CH_2R' + H_2O \rightarrow RC(O)OH + HOCH_2R'$

4. Лиазы

Отщепление групп от субстратов (C – C, C – O, C – N) по негидролитическому механизму с образованием двойной связи (C = C, C = O, C = N) или присоединение по двойной связи.

Подклассы:

4.1. Ферменты, действующие на связь C – C,

4.2 Ферменты, действующие на связь C – O.

4.1.1.1. Пируватдекарбоксилаза $CH_3C(O)COO^- + H^+ \rightarrow CH_3CHO + CO_2$

КЛАССЫ ФЕРМЕНТОВ (ПРОДОЛЖЕНИЕ)

5. Изомеразы

Взаимопревращения оптических, геометрических и химических изомеров

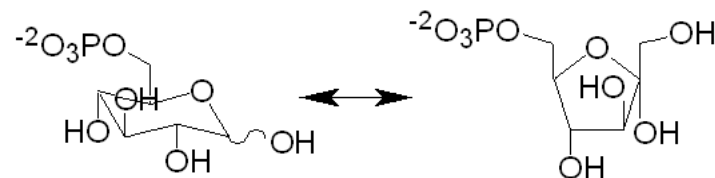
Некоторые подклассы:

5.1. Рацемазы и эпимеразы,

5.2. Цис-транс-изомеразы,

5.3. Внутримолекулярные оксидоредуктазы

5.3.1.9. Глюкозо-6-фосфатизомераза:



6. Лигазы

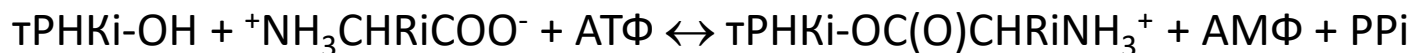
Присоединение двух молекул, сопряженное с разрывом пирофосфатной связи АТФ или подобного соединения. Ферменты, катализирующие реакции, в ходе которых образуются связи C – O, C – S, C – N и C – C

Некоторые подклассы:

6.1. Ферменты, образующие связи C – O,

6.4. Ферменты, образующие связи C – C.

6.1.1. Лигазы, образующие аминокислот-тРНК:



Классификация ферментов: Класс 7 - Транслоказы

КФ (ЕС). Список был впервые утвержден the International Union of Biochemistry in 1961.

Шесть классов основаны на типе катализируемой реакции:

oxidoreductases (EC 1), transferases (EC 2), hydrolases (EC 3), lyases (EC 4), isomerases (EC 5) and ligases (EC 6).

Однако, ни один из классов не описывает четко **группу ферментов**, которая **перемещает ионы или молекулы через мембрану или их отделение от мембраны**. Некоторые ферменты, например ATPases (EC 3.6.3.-), оказались в классе гидролаз, хотя гидролиз не является их первичной функцией. Теперь они в новом классе - class of translocases (EC 7).

Определение

Транслоказа – общий термин для белка, который помогает в перемещении другой молекулы, например, через клеточную мембрану.

Реакция записывается как перенос со стороны 1 (side 1) на сторону 2 (side 2). (Прежние in и out не используют, т.к. не очевидны).

EC 7.1.1.1 Accepted name: proton-translocating NAD(P)⁺ transhydrogenase

Reaction: $\text{NADPH} + \text{NAD}^+ + \text{H}^+_{[\text{side 1}]} = \text{NADP}^+ + \text{NADH} + \text{H}^+_{[\text{side 2}]}$

Мембраносвязанная протон-транслоцирующая пиридиннуклеотидтрансгидрогеназа Сочетает обратимое восстановление НАДФ под действием НАДН с перемещением протонов внутрь через мембрану.

У бактерии *Escherichia coli* фермент является основным источником цитозольного НАДФН. Детоксикация активных форм кислорода в митохондриях глутатионпероксидазой зависит от НАДФН, продуцируемого этим ферментом.

Carnitine-acylcarnitine translocase is responsible for transporting both carnitine-fatty acid complexes and carnitine across the inner mitochondrial membrane, which is required since fatty acids cannot cross the mitochondrial membranes without assistance

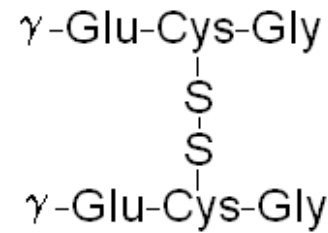
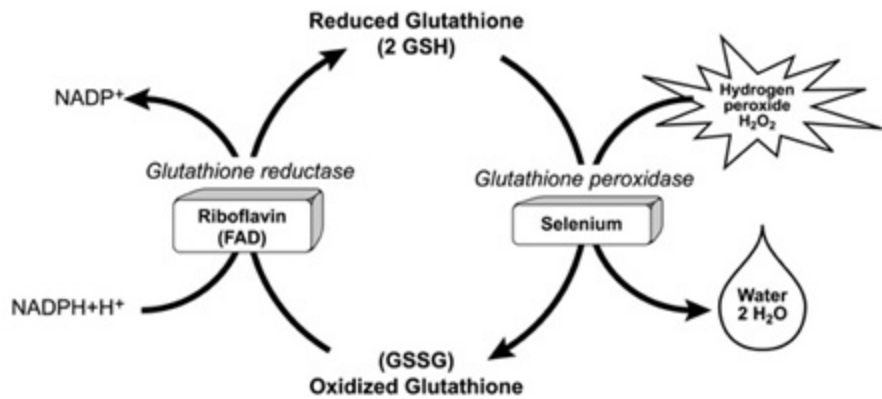
ADP/ATP translocases are transporter proteins that enable the exchange of cytosolic adenosine diphosphate (ADP) and mitochondrial adenosine triphosphate (ATP) across the inner mitochondrial membrane. Free ADP is transported from the cytoplasm to the mitochondrial matrix, while ATP produced from oxidative phosphorylation is transported from the mitochondrial matrix to the cytoplasm, thus providing the cells with its main energy currency.

DNA translocases are motor proteins that can convert the chemical energy of ATP hydrolysis into directional movement along DNA.

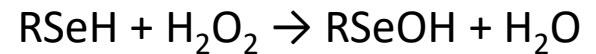
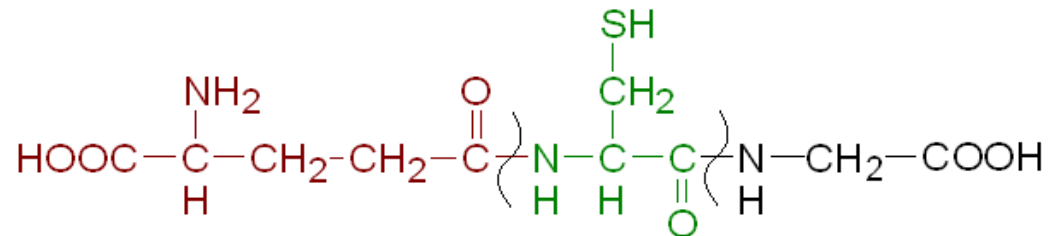
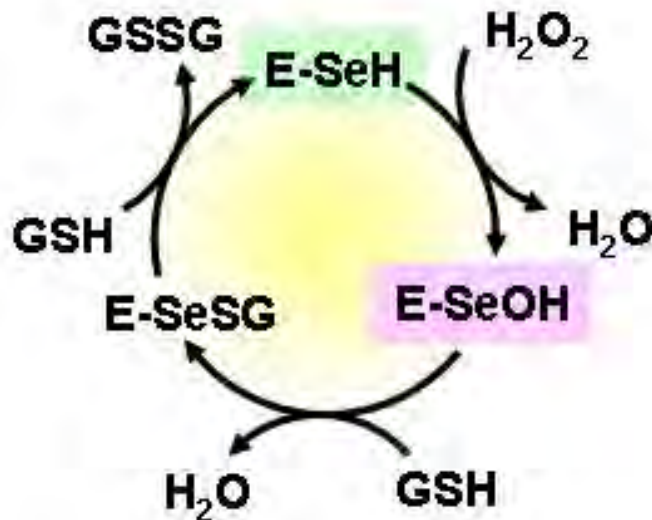
Translocases are the most common **secretion system in Gram positive bacteria**.

Неорганические ионы в составе ферментов

Ион металла	Фермент
Fe ³⁺	Пероксидаза
Zn ²⁺	Карбоангидраза Алкогольдегидрогеназа
Cu ²⁺ , Cu ¹⁺	Тирозиназа, Лакказа
Mg ²⁺	Гексокиназа Глюкозо-6-фосфатаза
Mn ²⁺	Аргиназа
K ⁺	Пируваткиназа (и Mg ²⁺)
Se ⁻²	Глутатионпероксидаза
Cu ²⁺ , Zn ²⁺	Супероксиддисмутаза



Cf. GPx cycle



Глутатионпероксидаза

ВИТАМИНЫ

- **Витамины** - биологически активные низкомолекулярные органические вещества, принимающие участие в **биологическом катализе**
- **Витамины** являются незаменимыми факторами питания, не синтезируются в организме человека и поступают с растительной пищей и пищей животного происхождения
- Исключение составляют:
 - 1) Водорастворимый **витамин РР** – синтезируется в **печени** из **триптофана** (незаменимая а/к)
 - 2) жирорастворимый **витамин D₃** – синтезируется в **коже** из **7-дегидрохолестерина** под действием **УФ**
 - 3) жирорастворимый **витамин А (ретинол)** – синтезируется в **печени** из **каротинов**
- Ряд **витаминов** синтезируется **микрофлорой кишечника**:
В₁-тиамин, **В₂**-рибофлавин, **В₆**-пиридоксин, **В₁₂**-кобаламин, **РР**-ниацин, **В₉**-фолиевая кислота, **В₅**-пантотеновая кислота, **К**-нафтохинон, **Н**-биотин

Н.И. Лунин (опыты с искусственным питанием, компоненты молока) 1880 г. пришел к следующему заключению: "... если, как вышеупомянутые опыты учат, невозможно обеспечить жизнь белками, жирами, сахаром, солями и водой, то из этого следует, что в молоке, помимо казеина, жира, молочного сахара и солей, содержатся еще другие вещества, незаменимые для питания. Представляет большой интерес исследовать эти вещества и изучить их значение для питания".

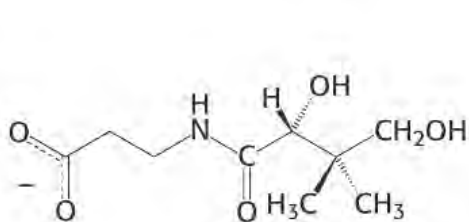
Врач Эйкман, работавший в тюремном госпитале на острове Ява, в 1896 году подметил, что куры, содержащиеся во дворе госпиталя и питавшиеся обычным полированным рисом, страдали заболеванием, напоминающим бери-бери. После перевода кур на питание неочищенным рисом болезнь проходила.

В 1911 году польский ученый Казимир Функ выделил это вещество в кристаллическом виде (органическое соединение, содержало аминокгруппу). Функ (1912) предложил назвать весь этот класс веществ витаминами (лат. *vita* — жизнь, *vitamin* — амин жизни).

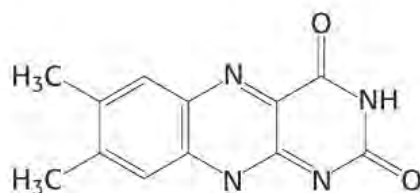
ВИТАМИНЫ И КОФЕРМЕНТЫ

Витамины – предшественники коферментов

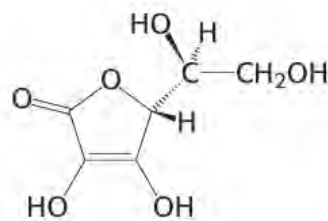
Коферменты – небольшие органические молекулы (кофакторы), необходимые для активности многих ферментов



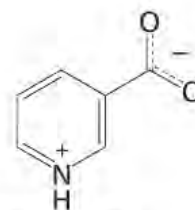
Vitamin B₅
(Pantothenate)



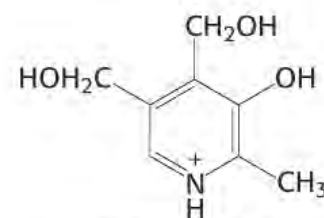
Vitamin B₂
(Riboflavin)



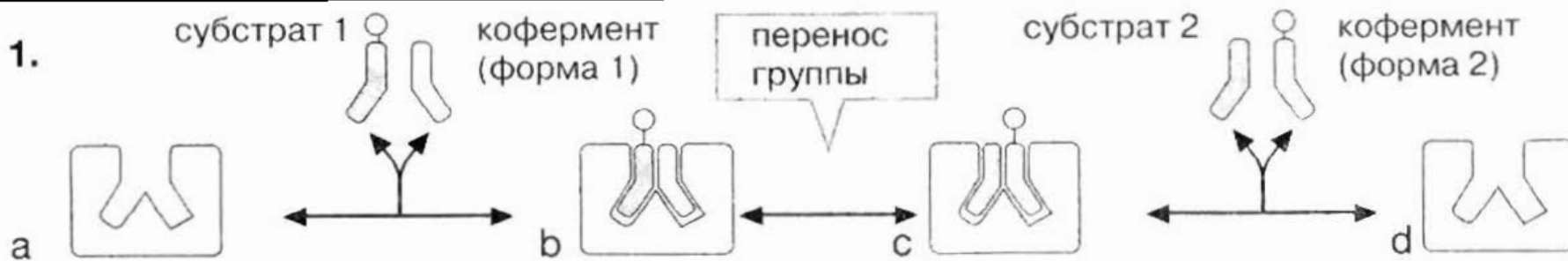
Vitamin C
(Ascorbic acid)



Vitamin B₃
(Niacin)



Vitamin B₆
(Pyridoxine)



Коферменты и витамины

Витамин	Коферментная форма	Тип катализируемой реакции
Водорастворимые витамины		
Тиамин (В ₁)	Тиаминпирофосфат	Декарбоксилирование α -кетокислот
Рибофлавин (В ₂)	Флавиномононуклеотид, флавинадениндинуклеотид	Окислительно-восстановительные реакции
Никотиновая кислота	Никотинамидадениндинуклеотид, никотинамидадениндинуклеотидфосфат	Окислительно-восстановительные реакции
Пантотеновая кислота	Кофермент (коэнзим) А	Перенос ацильных групп
Пиридоксин (В ₆)	Пиридоксальфосфат	Перенос аминогрупп
Биотин (Н)	Биотицин	Перенос CO ₂
Фолиевая кислота	Тетрагидрофолат	Перенос одноуглеродных групп
Витамин В ₁₂	Дезоксиаденозилкобаламин	Перенос связанного с углеродом атома водорода на соседний атом углерода
Аскорбиновая кислота (С)	Не известна	Реакции гидроксилирования

Coenzymes Serving as Transient Carriers of Specific Atoms or Functional Groups

«Антивитамины»

• **воздействие антивитаминов**, которые могут быть:

- а). структурными аналогами **витамина**, конкурирующими за активный центр фермента (**окситиамин**, **оксибиотин**, **изониазид** (производное **никотиновой кислоты**, применяется как противотуберкулезный препарат)
- б). ферментами, разрушающими **витамин** (например, **тиаминаза**, **аскорбатоксидаза**)
- в). белками, связывающими **витамин** и нарушающими его всасывание (**авидин** – белок сырых яиц, связывающий биотин)
- г). антагонистами **витамина** (**дикумарол**, **варфарин** – антагонисты **витамина К**, тормозящие тромбообразование)
- д). веществами, нарушающими превращение **витамина** в кофермент (**аминазин** – антидепрессант – нарушает превращение **витамина В₂** в кофермент, и др.)

«Антивитамины»

История антивитаминов началась лет пятьдесят назад с одной, поначалу казалось бы, неудачи. **Синтез витамина Вс (фолиевую кислоту)**.

Вс участвует в биосинтезе белка и активизирует процессы кроветворения.

Химический аналог полностью утратил витаминную активность. Но оказалось, что новое соединение тормозит развитие клеток, прежде всего раковых. **Противоопухолевое средство (антагонист Вс)**, лечебное действие обусловлено тем, что, оно нарушает превращение фолиевой кислоты в кофермент.

Соединения, противоборствующие некоторым витаминам, обнаружили и в ряде пищевых продуктов. Специалисты обратили внимание на то, что включение в рацион лисиц **сырого карпа** вызывало у животных развитие типичного состояния **В1-авитаминоза**. Позже было установлено, что в тканях сырого карпа содержится фермент **тиаминаза**, расщепляющий молекулу витамина В1 (тиамина) до неактивных соединений.

В овощах и фруктах, больше всего в огурцах, кабачках, цветной капусте и тыкве, содержится **аскорбатоксидаза (окисление витамина С** до практически неактивной дикетоглуоновой кислоты). Это происходит вне организма (хранение, кулинарная обработка). Например, только за счет действия аскорбатоксидазы смесь сырых размельченных овощей за 6 часов хранения теряет более половины содержащегося в ней витамина С, причем потери его тем выше, чем больше измельчены овощи.

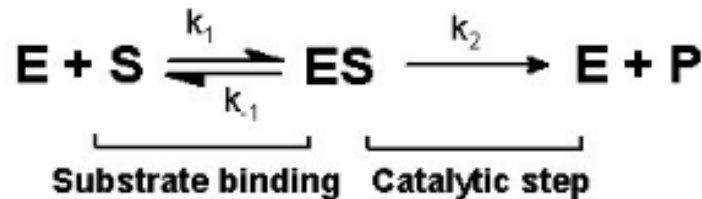
Антивитамин К – дикумарин, лекарственное средство. «Болезнь сладкого клевера» - у сельскохозяйственных животных плохая свертываемость крови. В клеверном сене дикумарин. Витамин К способствует свертыванию крови, а дикумарин нарушает этот процесс.



ФЕРМЕНТАТИВНАЯ КИНЕТИКА

Уравнение Михаэлиса-Ментен — уравнение наиболее известной модели ферментативной кинетики.

Названо в честь **Леонора Михаэлиса** и **Мод Леоноры Ментен**. Статья в 1913 – провели математический анализ ферментативной кинетики



$$v = \frac{V_m S}{S + K_M}$$

Уравнение описывает зависимость скорости реакции, катализируемой ферментом, от концентрации субстрата при определённых общепринятых допущениях

$$v = \frac{k_2 [E]_0 [S]}{\frac{k_{-1} + k_2}{k_1} + [S]}$$

Вывод уравнения был впервые предложен **Бриггсом и Холдейном** (1925) с применением метода квазистационарности

