

А.И. Опарин

**Ферменты, их роль и
значение в жизни организмов**

**Москва
«Книга по Требованию»**

УДК 57
ББК 28
А11

А11 **А.И. Опарин**
Ферменты, их роль и значение в жизни организмов / А.И. Опарин – М.: Книга
по Требованию, 2016. – 52 с.

ISBN 978-5-458-59252-9

ISBN 978-5-458-59252-9

© Издание на русском языке, оформление
«YOYO Media», 2016

© Издание на русском языке, оцифровка,
«Книга по Требованию», 2016

Эта книга является репринтом оригинала, который мы создали специально для Вас, используя запатентованные технологии производства репринтных книг и печати по требованию.

Сначала мы отсканировали каждую страницу оригинала этой редкой книги на профессиональном оборудовании. Затем с помощью специально разработанных программ мы произвели очистку изображения от пятен, клякс, перегибов и попытались отбелить и выровнять каждую страницу книги. К сожалению, некоторые страницы нельзя вернуть в изначальное состояние, и если их было трудно читать в оригинале, то даже при цифровой реставрации их невозможно улучшить.

Разумеется, автоматизированная программная обработка репринтных книг – не самое лучшее решение для восстановления текста в его первозданном виде, однако, наша цель – вернуть читателю точную копию книги, которой может быть несколько веков.

Поэтому мы предупреждаем о возможных погрешностях восстановленного репринтного издания. В издании могут отсутствовать одна или несколько страниц текста, могут встретиться невыводимые пятна и кляксы, надписи на полях или подчеркивания в тексте, нечитаемые фрагменты текста или загибы страниц. Покупать или не покупать подобные издания – решать Вам, мы же делаем все возможное, чтобы редкие и ценные книги, еще недавно утраченные и несправедливо забытые, вновь стали доступными для всех читателей.



Серия Книжный Ренессанс

www.samizday.ru/reprint

незначительные количества диастаза могли осахарить, казалось, безграничные массы крахмала. Повидимому оно действовало подобно тельцам Левенгука. Но тогда, как эти тельца являлись организмами, диастаз был без сомнения неорганизованным телом. Поэтому его стали называть *неорганизованным* или *растворимым ферментом*. Вскоре было открыто значительное число таких растворимых ферментов. Их находили в проросших семенах и плодах различных растений, в слюне и пищеварительных соках животных; одни из них, подобно диастазу, разлагали крахмал, другие—тростниковый сахар, третьи обращали неспособные к диффузии белки в вещества, легко проникающие через животные и растительные перепонки, и пр.

Таким образом, к середине прошлого столетия по вопросу о ферментах накопилось большое количество фактического материала, настойчиво требующее создания всеобъемлющей теории ферментации. И действительно, вскоре одна за другой появляются две теории, одна принадлежит известному немецкому химику Либиху, другая знаменитому французскому микробиологу Пастеру.

Либих, исходя из наблюдений над неорганизованными ферментами, воскресил старую теорию Сталя. Он видел в бродильном ферменте малоустойчивое органическое тело, распадающееся на отдельные молекулы; сотрясение этих последних в свою очередь расшатывает молекулы другого вещества и вызывает его разложение.

Пастер, наоборот, обратил свое главное внимание на жизнедеятельность дрожжей и пришел к тому убеждению, что брожение стоит в непосредственной связи с жизнью, оно является выражением усилия организма добыть себе кислород при отсутствии его свободного доступа. Только живая клетка способна вызвать брожение.

Обе теории имели за собой много данных, и потому в продолжение всей второй половины прошлого столетия они боролись с переменным успехом. Только на грани XIX и XX века Бухнеру своими знаменитыми опытами удалось разрушить искусственно создавшийся дуализм — деление ферментов на организованные и неорганизованные, на «ферменты существа и ферменты вещества». Указанный ученый путем давления, равного нескольким сотням атмосфер, выжал из

растертых с трепелом дрожжей сок, способный вызывать брожение в отсутствие живых организмов. Таким образом было доказано, что и брожение, производимое дрожжами, обязано действию растворимых веществ, подобных диастазу, но более прочно связанных с протоплазмой живой клетки.

К этому времени, благодаря многочисленным работам целой плеяды исследователей, выясняется та колоссальная роль, которую играют растворимые ферменты или, как их теперь часто называют, *энзимы* в жизни животных и растений. Эти невидимые агенты открыты всюду, где только чувствуется дыхание жизни. Их находят в тканях и соках животных и растений, в каждой клеточке дрожжей, бактерий и плесеней. Их работа лежит в основе актов дыхания, брожения, пищеварения, гниения, пластической деятельности организмов, словом, в основе всех тех сложных биохимических процессов, которые характеризуют жизнь. «В удивительных свойствах этих тел,—говорит Леб,—скрыта химическая тайна жизни». Не удивительна поэтому та настойчивость, которую проявляют современные ученые в стремлении возможно полнее и отчетливее понять механизм действия ферментов. К чему же можно свести этот механизм? Постараемся, пользуясь простыми примерами, взятыми из неорганической химии, ответить на этот вопрос, согласно общепринятым теперь представлениям о ферментах.

Возьмем небольшую пластинку алюминия и нанесем на нее ничтожно-малую капельку ртути или еще лучше раствора какого-нибудь ртутного соединения, ну хотя бы сулемы. Уже через несколько секунд на месте соприкосновения алюминия с ртутью мы заметим небольшой белый буторок. Буторок сравнительно быстро растет и вверх и вширь, и скоро превращается в целый лес кристаллов окиси алюминия. Как бы мала ни была капелька ртути, процесс, вообще говоря, идет до тех пор, пока не будет окислен весь алюминий. Другой пример. Возьмем слабый раствор перекиси водорода. (Перекись водорода представляет из себя химическое соединение, состоящее, подобно воде, из водорода и кислорода, только кислорода в ней содержится вдвое больше.) Это соединение довольно стойкое, особенно в слабых растворах, если оно отчасти и разлагается при долгом стоянии, то этот процесс идет крайне медленно. Бросим в указанный раствор кусо-

чек мелкораздробленной платины, так называемой платиновой черни; сейчас же с поверхности металла начинает отделяться целый рой пузырьков газа (кислорода) и вся жидкость как бы закипает. Процесс идет до тех пор, пока вся перекись водорода не будет разложена на кислород и воду. При этом оказывается, что платина, вызвавшая этот бурный процесс, сохраняется в полной целостности и неприкосновенности. Ее вес после опыта остался тем же самым, каким был до опыта, ее снова можно бросить в новую порцию перекиси водорода и она снова разложит все предоставленное ей количество, несколько не изменившись. Таким образом, ничтожной крупинкой платины можно разложить неограниченное количество перекиси. Тела, обладающие таким свойством, в неорганической химии называются *катализаторами*. Посмотрим на приведенных примерах, к чему сводится чудесное действие этих веществ. Пластинка алюминия, взятая нами в первом случае, уже сама по себе окисляется кислородом воздуха, но этот процесс не может идти далеко, так как сейчас же на поверхности пластинки образуется непроницаемый слой окиси, отделяющий алюминий от кислорода. Если мы на поверхность пластинки наносим ртуть, то сейчас же эта последняя с алюминием дает раствор, так называемую амальгаму. Алюминий, заключенный в амальгаме, приходит в соприкосновение с воздухом и превращается в окись; эта последняя нерастворима в ртути и поэтому выделяется, выталкивается из амальгамы, а ртуть на ее место растворяет новую порцию алюминия и тем вновь дает ей возможность превратиться в окись, и т. д. Процесс длится до тех пор, пока весь алюминий не будет исчерпан. Аналогичное явление мы наблюдаем в примере с платиной. При действии мелкораздробленной платины на перекись водорода образуется весьма нестойкое соединение (гидрат перекиси платины), которое самопроизвольно распадается на платину, кислород и воду. Освободившаяся при этом процессе платина вновь может вступать с перекисью водорода в соединение, и вновь регенерироваться при распаде этого соединения. Возьмем еще пример. Будем кипятить крахмальный клейстер в воде, при этом крахмал отчасти разлагается, но этот процесс идет с бесконечно-малой скоростью, и даже при очень продолжительном нагревании мы не сможем обнару-

жить продуктов распада этого углевода. Но стоит нам к раствору прибавить хотя бы небольшое количество серной или соляной кислоты, как тотчас же распад пойдет ускоренным темпом, и уже через несколько минут мы можем в растворе обнаружить сахар, являющийся продуктом разложения крахмала. Как и в предыдущих примерах, кислота, вызвавшая этот процесс, сама нисколько не изменится.

Совершенно аналогичным образом действует уже упоминавшийся нами фермент—диастаз. Будучи прибавлен к крахмальному клейстеру, он даже при обыкновенной температуре переводит его в то же соединение, что и кислота,—в сахар, при этом фермент не разрушается и сохраняет способность разлагать все новые и новые количества крахмала. Конечно, чем больше мы возьмем диастаза, тем быстрее пойдет осахаривание, но самый механизм, ход процесса остается одинаковым при любом количестве энзима. Подобно диастазу, действуют и прочие ферменты, только их действие направлено не на крахмал, а на другие вещества. Так, пепсин и трипсин, ферменты желудочно-кишечного тракта высших животных и человека, разлагают белки, липаза, энзим масляных семян, расщепляет жиры на жирные кислоты и глицерин, инвертаза дрожжей действует на тростниковый сахар, весьма распространенный как в животном, так и в растительном царстве фермент каталаза разлагает перекись водорода совершенно так же, как это мы видели в примере с платиновой чернью, и т. д. и т. д. Таким образом, можно сказать, что ферменты действуют, как катализаторы. Но тогда, как каждый фермент можно назвать катализатором, не каждый катализатор является ферментом. Есть целый ряд признаков, выделяющих эти тела в особую группу. Прежде всего ферментами можно назвать только те катализаторы, которые вырабатываются живой клеткой. Таким образом, вышеупомянутая ртуть, платиновая чернь, серная кислота не могут быть причислены к ферментам, несмотря на все сходство действия тех и других. Кроме того, ферменты обладают известной специфичностью, приспособленностью к тому субстрату, на который они действуют. Тогда как серная кислота может с одинаковым успехом действовать и на крахмал, и на белок, и на тростниковый сахар, диастаз способен разлагать только крахмал и совсем не действует

на белок, наоборот пепсин, растворяя белки, не затрагивает крахмал, а инвертаза, расщепляя тростниковый сахар, ничего не может сделать ни с крахмалом, ни с белком.

Ферменты, являясь, по всей вероятности, весьма сложными органическими соединениями, проявляют крайнюю чувствительность ко всяким внешним воздействиям, в особенности к высокой температуре. Нагревая водные растворы какого-нибудь фермента до ста градусов, мы можем нацело уничтожить его специфическое действие. Эта, так называемая, термолабильность энзимов тоже является одной из характерных черт, отличающих ферменты от прочих катализаторов.

Итак, ферментом можно назвать каталитически действующее вещество, вырабатываемое живой клеткой, чувствительное к воздействию внешних факторов, действующее в специфическом направлении только на одно определенное тело или на более или менее, ограниченную группу тел.

II.

ХИМИЧЕСКАЯ ПРИРОДА ФЕРМЕНТОВ, СПОСОБЫ ИХ ДОБЫВАНИЯ И УСЛОВИЯ, ПРИ КОТОРЫХ ПРОЯВЛЯЕТСЯ ФЕРМЕНТАТИВНОЕ ДЕЙСТВИЕ.

На первый взгляд кажется, что наиболее простой способ исследовать фермент состоит в том, чтобы прежде всего выделить его в химически чистом виде и затем уже устанавливать его специфические свойства. Раз ферменты так распространены, раз большинство из них сравнительно легко растворяются в воде, то, кажется, стоит только извлечь тот или иной энзим из содержащей его ткани водой, выделить тем или иным способом из раствора, и дело сделано—фермент получен. Однако на самом деле выделение ферментов в химически чистом виде является настолько сложным и трудным, что, несмотря на все старания многочисленных ученых и исследователей, до сих пор ни один из них не может похвастаться полным успехом. Получить раствор фермента, вообще говоря, довольно легко. Для этого измельченную ткань, содержащую фермент, настаивают с водой или каким-либо другим растворителем (в последнее

время особенно часто для этой цели стали употреблять глицерин). Некоторые ферменты выделяются организмами прямо в виде раствора, таковы пталин слюны, трипсин сока поджелудочной железы и др. Гораздо реже для извлечения фермента из клетки или ткани приходится употреблять более сложные методы, подобные тем, которые применил Бухнер для добывания уже упоминавшегося энзима брожения.

Из полученного тем или иным способом раствора фермента, последний может быть выделен в виде осадка целым рядом приемов. Особенно употребителен для этой цели старый способ осаждения крепким винным спиртом или прибавлением к раствору большого количества солей (хлористого натрия, серноокислого аммония, серноокислого цинка и др.).

Но именно тут, когда уже кажется, что задача почти выполнена, когда мы держим полученный нами фермент в руках, и начинаются затруднения. Выделенный осадок не является чистым энзимом, он представляет из себя более или менее сложную смесь из белков, углеводов и других органических тел, смесь, в которой только между прочим содержится и фермент. Конечно, мы можем растворить этот осадок в воде и вновь его осадить, при этом часть посторонних примесей будет удалена и выделенная смесь будет содержать большее количество фермента, но все-таки это будет смесь, а не химическое чистое тело. И, что самое главное, сколько бы раз мы не переосаждали наш «фермент», какие бы тонкие и совершенные методы мы не применяли для его очистки, у нас никогда не будет уверенности, что, в конце концов, мы получили химически чистый энзим. А. Бах выжал сок из 9 пудов репы и из этого сока путем весьма совершенного метода выделил 0,7 грамма энзима, обладающего силой действия, в 40 раз превышающей силу действия обычно получаемых препаратов, но и в этом исключительном случае указанный ученый не мог быть уверен в том, что имеет в руках вполне чистый фермент. Гарантией чистоты и однородности данного тела химики считают получение этого тела в кристаллическом виде, а именно этого условия по отношению к ферментам и не удастся выполнить. Более того, по целому ряду соображений мы даже можем вообще сомневаться в его выполнимости.

Таким образом, не будучи в состоянии получить фермент в химически чистом виде, мы можем судить о его природе только на основании работ, произведенных с более или менее чистыми препаратами. На такой метод исследования весьма ненадежен и поэтому наши знания о химической природе ферментов являются очень ограниченными. Еще сравнительно недавно в науке господствовало мнение, считавшее энзимы белковыми веществами. Эти последние являются весьма сложными соединениями. Они, находящиеся буквально в каждой живой клетке, и входят в состав протоплазмы, этой носительницы жизненных свойств. Прототипом белков или, как часто их теперь называют, протеинов является белок куриного яйца. Сложность этих веществ долгое время служила препятствием для более детального знакомства с ними и только благодаря обширнейшим и строго систематическим исследованиям Э. Фишера тайна их строения в значительной степени была раскрыта. Но чем дальше шло, с одной стороны, исследование белков, а с другой стороны, изучение свойств энзимов, тем все яснее и яснее становилось, что, по крайней мере для значительной части ферментов, уподобление их белкам является неправильным. Для некоторых ферментов, как, напр., для окислительных энзим это удалось показать тем, что чем дальше мы ведем очистку фермента от загрязняющих его примесей, чем активнее становится препарат, тем больше его элементарный состав отличается от элементарного состава белков. Для других энзим, как, например, диастаза и инвертазы, это же положение доказывается тем, что наиболее активные препараты этих ферментов совершенно не дают характерных для белков цветных реакций. Вопрос в значительной степени усложняется тем, что белки являются наиболее часто встречающимися и наиболее трудно удаляемыми примесями в препаратах ферментов. Таким образом, даже в том случае, когда наиболее хорошо очищенный и наиболее активный препарат фермента дает все белковые реакции, у нас нет уверенности, что эти реакции дает сам фермент, а не загрязняющий его белок.

В последнее время большинство ученых склоняются к тому мнению, что ферменты представляют из себя более или менее измененные продукты белкового распада. Но та-

кое воззрение носит пока еще характер только чистой гипотезы и со стороны некоторых исследователей встречает серьезные возражения. Существует даже мнение, что большинство энзим не имеют ничего общего с белками, а образуется при разложении и изменении тех тел, на которые обычно данные ферменты действуют, так, например, диастаз образуется из крахмала и т. д. Однако это утверждение имеет за собой еще слишком мало фактического материала.

Приведенные противоречивые воззрения на природу ферментов указывают, насколько до сих пор еще темн этот важный для понимания жизненных процессов вопрос.

Одно только можно сказать с уверенностью, что все или почти все ферменты обладают очень большим молекулярным весом, т.-е., иными словами, каждая частица фермента составлена из очень большого числа атомов и как по своему объему так и по весу значительно превышает частицы таких простых тел, какими являются, например, водород, кислород и пр. Благодаря этой особенности при растворении в воде энзим, последние дают так называемые *коллоидальные* растворы.

Понятие о коллоидальных растворах является настолько важным для современного учения о ферментах, что мы должны остановиться на нем более подробно. Возьмем мелко-растертый порошок какого-нибудь практически нерастворимого в воде вещества, хотя бы кварца. Если мы взболтаем этот порошок с водой, то получим равномерно мутную жидкость, носящую название *суспензии*. Но если мы оставим суспензию в покое, то порошок отделится от жидкости и упадет на дно сосуда вследствие силы тяжести. Это разделение на прозрачную жидкость и осадок можно достигнуть другим путем, например, фильтрованием суспензии через бумажные фильтры. Однако в том случае, когда мы для наших опытов будем брать тела с более мелкими частицами, например, глину (каолин) или сажу, то подобное разделение явится уже затруднительным. Даже при очень долгом стоянии жидкость будет оставаться мутной и ни один обыкновенный бумажный фильтр не сможет выделить из нее осадка. Указанное разделение может быть достигнуто только усиленным центрофугированием. Этот метод с большим успехом применяется не только для разделения суспензий, но и для

эмульсий, т.-е. для таких взмутей, где роль взвешенных частиц играют капельки жидкости. (Примером такой эмульсии может служить молоко, в котором капельки жира взвешены в одном растворе. Отделение сливок при помощи сепаратора как раз основано на методе центрофугирования). Взбалтывая в воде тела с еще более мелко раздробленными частицами, например, темно-синюю краску ультрамарин, мы получим жидкости на вид совершенно прозрачные и однородные, остающиеся месяцами без изменения и легко проходящие через фильтры. Однако, под микроскопом уже при увеличении в 1200 раз в этих «растворах» видны точки, взвешенные частички краски; следовательно взмученный ультрамарин представляет собою суспензию. Идя дальше по пути уменьшения частиц суспензируемых веществ, мы приходим к таким «растворам», в которых даже самый совершенный микроскоп не в состоянии обнаружить их неоднородности. Только при помощи ультрамикроскопирования мы можем увидеть тени или вернее отблески плавающих в жидкости частиц. Вот такие-то «растворы» и называются коллоидальными. Если же в жидкости расположены настолько мелкие частицы, что никаким известным нам путем мы не можем обнаружить неоднородность раствора, то тогда мы говорим об истинных растворах: Они получаются при растворении таких веществ, как сахар, соль и пр. В этом случае взвешенными частицами являются молекулы или даже части молекул (ионы). Таким образом, коллоидальные растворы представляют собою переход от грубых суспензий к истинным растворам. Все тела, обладающие большими молекулами, как, например, белки, камеди, декстрин и пр., очень легко дают коллоидальные растворы. Подобные же растворы дают и ферменты. И этим именно мы можем объяснить целый ряд свойств, присущих энзимам. Так, большинство ферментов с большим трудом и весьма медленно проходят (диффундируют) через животные и растительные перепонки. Это объясняется тем, что сравнительно крупные частицы энзим не могут проникнуть через узкие поры перепонок. Именно поэтому и бывает весьма полезно при добывании ферментов возможно полнее разрушить стенки тех клеточек, в которых заключены энзимы. Способность ферментов выпадать в виде осадка от прибавления к раствору солей тоже присуща в большей

или меньшей степени всем без исключения коллоидам. Наконец, упоминавшаяся нами трудность выделения ферментов в химически чистом виде зависит тоже от коллоидальной природы этих веществ. Ибо громадное большинство коллоидов не способно к кристаллизации и при выделении тем или иным способом из растворов всегда увлекают с собой в осадок большое количество посторонних веществ. При этом особенно легко увлекаются и особенно прочно удерживаются выпадающими коллоидами другие коллоиды, находящиеся одновременно с ними в растворе. Поэтому-то так часто в препаратах ферментов мы находим в виде примесей посторонние белки. По этой же причине препараты одного фермента редко бывают свободны от примеси других энзим. Так, упоминавшийся нами диастаз, получающийся из солодовой вытяжки, обычно, кроме способности разлагать крахмал, обладает способностью действовать в том же смысле на сахар — мальтозу и трегалозу; продажный препарат пепсина не только разлагает белки, но и осаждает (свертывает) казеин молока; настой из пивных дрожжей действует на тростниковый сахар, мальтозу и глюкозиды, и т. д. Поэтому вполне понятен тот вопрос, который ученые нередко себе ставили: имеем ли мы в данном препарате смесь нескольких выделяемых клеткой ферментов, из которых каждому присуще особое химическое действие или это одно вещество, столь разнообразно действующее на различные субстраты? В настоящее время в громадном большинстве случаев ученые разрешают этот вопрос в первом смысле. Однако, окончательный ответ можно дать только путем детального изучения всех условий, при которых фермент проявляет свое действие. Под влиянием изменений этих условий будет меняться и самый эффект специфического ферментативного действия: он будет то бурно возрастать, то падать, то совсем пропадать, то возникать с новой силой.

Почти ничего не зная о химической природе ферментов, не будучи в состоянии получить энзимы в химически чистом виде, мы можем судить об этих веществах только на основании проявляемого ими специфического действия. Поэтому, при отсутствии детальных сведений о тех изменениях, которые производит воздействие внешних факторов на ход реакции, мы, при нашем суждении о ферментах, все время