

«УТВЕРЖДАЮ»

Декан биологического факультета МГУ

Академик

М.П.Кирпичников

2015 г.



Рабочая программа дисциплины (модуля)

1. Код и наименование дисциплины (модуля): «Кинетика ферментативных реакций»
2. Уровень высшего образования – подготовка научно-педагогических кадров в аспирантуре.
3. Направление подготовки – **06.06.01 Биологические науки**. Направленность (профиль) программы – **Биохимия**.
4. Место дисциплины (модуля) в структуре ООП: вариативная часть ООП (осенний семестр), спецкурс по выбору (читается на кафедре биохимии)
5. Планируемые результаты обучения по дисциплине (модулю), соотнесенные с планируемыми результатами освоения образовательной программы (компетенциями выпускников)

Формируемые компетенции (код компетенции)	Планируемые результаты обучения по дисциплине (модулю)
УК-1: Способность к критическому анализу и оценке современных научных достижений, генерированию новых идей при решении исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях	Владеть: навыками анализа методологических проблем, возникающих при решении исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях Код В1 (УК-1) Владеть: навыками критического анализа и оценки современных научных

	достижений и результатов деятельности по решению исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях Код В2 (УК-1)
УК-2 <i>Способность проектировать и осуществлять комплексные исследования, в том числе междисциплинарные, на основе целостного системного научного мировоззрения с использованием знаний в области истории и философии науки.</i>	Знать: методы научно-исследовательской деятельности Код 31 (УК-2)
УК-3: <i>Готовность участвовать в работе российских и международных исследовательских коллективов по решению научных и научно-образовательных задач</i>	Владеть: технологиями оценки результатов коллективной деятельности по решению научных и научно-образовательных задач, в том числе ведущейся на иностранном языке Код В2 (УК-3)
УК-4: <i>Готовность использовать современные методы и технологии научной коммуникации на государственном и иностранном языке</i>	Владеть: навыками анализа научных текстов на государственном и иностранном языках Код В1 (УК-4) Знать: стилистические особенности представления результатов научной деятельности в устной и письменной форме на государственном и иностранном языках Код 32 (УК-4)
ОПК-1 <i>Способность самостоятельно осуществлять научно-исследовательскую деятельность в соответствующей профессиональной области с использованием современных методов исследования и информационно-коммуникационных технологий</i>	Уметь: собирать, отбирать и использовать необходимые данные и эффективно применять количественные методы их анализа

Оценочные средства для промежуточной аттестации по дисциплине (модулю) приведены в Приложении.

6. Объем дисциплины (модуля) составляет 3 зачетных единицы, всего 108 академических часов, из которых 28 часов составляет контактная работа аспиранта с преподавателем (28 часов занятий лекционного типа) и 80 часов составляет самостоятельная работа аспиранта (решение домашних заданий).

7. Входные требования для освоения дисциплины (модуля), предварительные условия:

ЗНАТЬ: неорганическую и органическую химию, физическую химию, биохимию, основы молекулярной биологии, клеточной биологии и физиологии (на уровне программ специалиста/магистра), теоретические и методологические основы биологических научных исследований

УМЕТЬ: вырабатывать на основе рационального анализа экспериментальных результатов свою точку зрения в вопросах, касающихся механизмов ферментативных реакций и отстаивать ее во время дискуссии со специалистами и неспециалистами; читать и реферировать научную литературу в области энзимологии, в том числе на иностранных языках, при условии соблюдения научной этики и авторских прав.

ВЛАДЕТЬ: современными информационно-коммуникационными технологиями, иностранным языком.

8. Образовательные технологии: классические лекционные технологии.

9. Содержание дисциплины (модуля), структурированное по темам (разделам) с указанием отведенного на них количества академических часов и виды учебных занятий

Наименование и краткое содержание разделов и тем дисциплины (модуля), форма промежуточной аттестации по дисциплине (модулю)	Всего (часы))	В том числе							
		Контактная работа (работа во взаимодействии с преподавателем), часы из них					Самостоятельная работа обучающегося, часы из них		
Занятия лекционного типа	Занятия семинарского типа	Групповые консультации	Индивидуальные консультации	Учебные занятия, направленные на проведение текущего контроля успеваемости коллоквиумы, практические контрольные занятия и др)*	Всего	Выполнение домашних заданий	Подготовка рефератов и т.п.	Всего	
Механизм химической реакции. Кинетика как инструмент изучения механизмов реакций. Основные кинетические законы. Скорость химической реакции, способы ее выражения. Закон действующих масс. Анализ кинетических результатов. Интегральный метод обработки экспериментальных данных. Дифференциальный метод Вант-Гоффа.	12	4				4	8		8
Физический смысл константы скорости реакции. Устойчивость молекул и энергия связи. Образование и разрыв химических связей. Влияние температуры на	12	4				4	8		8

<p>константы скорости. Уравнение Аррениуса. Понятие об энергии активации и построение энергетических диаграмм реакций. Специфика реакций, протекающих в растворах. Вода – универсальный растворитель в биологических системах. Физико-химические свойства воды. Водородная связь и структура воды. Подвижности ионов водорода и гидроксила</p>	
<p>Типы катализа на примере реакции кето-енольной тautомерии оксалоацетата. Катализ водой. Специфический кислотный катализ; специфический основной катализ. Обобщенный катализ кислотой и основанием.</p> <p>Внутrimолекулярный катализ.</p> <p>Согласованный катализ. Ферментативный катализ. Формальная кинетика реакций, катализируемых ферментами. Модель Ван-Слайка (необратимая реакция образования фермент-субстратного комплекса). Равновесное приближение Михаэлиса. Принцип стационарности.</p> <p>Модель Бриггса-Холдейна.</p>	<p>4</p> <p>12</p> <p>4</p> <p>8</p> <p>8</p>

Соотношение K_M и K_S . Способы линеаризации уравнения Михаэлиса и их критическая оценка. Способы определения K_S . Механизм Михаэлиса-Ментен для обратимой ферментативной реакции. Соотношение Холдейна. Связь между кинетическими параметрами и константой равновесия реакции. Специфичность максимальных скоростей реакций, катализируемых ферментами.	12	4						4	8		8
Ингибиторы и активаторы ферментативных реакций. Классификация ингибиторов. Обратимые ингибиторы. Необратимые ингибиторы. Способы анализа необратимого торможения. Необратимые ингибиторы-аналоги субстрата.	12	4						4	8		8
Ингибиторы с высоким сродством. Системы с взаимным истощением. Кинетика ферментов, прочно связывающих лиганды. Титрование фермента прочно связывающимся лигандом. Влияние pH на ферменты. Ионизация двухосновной кислоты. Кислотно-основной катализ и pH-	12	4						4	8		8

зависимости скорости реакции. pH-функции Михаэлиса.										
Сопряженные последовательные реакции и их использование для измерения активности ферментов. Наиболее распространенные в биохимии сопряженные системы. Переходные состояния в сопряженных системах. Проблема регулирования активности ферментов в клетке и «аномальная» кинетика ферментативных реакций. Кооперативные явления в ферментативном катализе. Олигомерные ферменты.		4					4	8	24	32
Промежуточная аттестация - зачет										
Итого:	108	28					28	56	24	80

10. Учебно-методические материалы для самостоятельной работы аспирантов.

Конспекты лекций, аудио- и видеозаписи лекций, файлы презентаций лекций, основная и дополнительная учебная литература (см. п.11)

11. Ресурсное обеспечение:

Основная литература

1. Дж. Брей, К. Уайт. Кинетика и термодинамика биохимических процессов. ИЛ, М., 1966.

2. Л. Полинг. Общая химия. Мир, М., 1974.
3. В. Дженкс. Катализ в химии и энзимологии. Мир. М., 1972.
4. М. Диксон, Э. Уэбб. Ферменты. Мир, М.. 1982.
5. Л. Уэбб. Ингибиторы ферментов и метаболизма. Мир, М., 1966.
6. А. Лениндже. Основы биохимии. Мир, М., 1985.
7. С. Бенсон. Основы химической кинетики. Мир, М., 1964.
8. И.В. Березин, А.А. Клесов. Практический курс химической и ферментативной кинетики. МГУ, 1976.
9. Э. Корниш-Боуден. Основы ферментативной кинетики. Мир, М., 1979.
10. Э. Корниш-Боуден. Основы математики для биохимиков. Мир, М., 1983.
11. Д. Нельсон, М. Кокс. Основы биохимии Ленинджера. Т. 1. Основы биохимии. Строение и катализ. Изд-во БИНОМ. Лаборатория знаний. М., 2012.

Дополнительная литература

1. V.G. Grivennikova, R. Roth, N.V. Zakharova, C. Hägerhäll, A.D. Vinogradov. The mitochondrial and prokaryotic proton-translocating NADH:ubiquinone oxidoreductases: similarities and dissimilarities of the quinone-junction sites. *Biochim. Biophys. Acta* 1607 (2003) 79-90.
2. A.B. Kotlyar, A.D. Vinogradov. Slow active/inactive transition of the mitochondrial NADH-ubiquinone reductase. *Biochim. Biophys. Acta*. 1019 (1990) 151-158.
3. I. Takagahara, J. Yamauti, K. Fujii, J. Yamashita, T. Horio. Theoretical and experimental analyses of coupled enzyme reactions. *J. Biochem.* 93 (1983) 1145-1157.
4. W.W. Cleland. The kinetics of enzyme-catalyzed reactions with two or more substrates or products. I. Nomenclature and rate equations. *Biochim.Biophys. Acta*. 67 (1963) 104-137.

Перечень ресурсов информационно-телекоммуникационной сети «Интернет»

- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21054/>

Перечень используемых информационных технологий, используемых при осуществлении образовательного процесса, включая программное обеспечение, информационные справочные системы (при необходимости):

Интернет-браузер, базы данных PubMed (NCBI, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>), Protein Data Bank (Research Collaboratory for Structural Bioinformatics <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>)

Описание материально-технической базы.

Кафедра биохимии биологического факультета МГУ располагает необходимым аудиторным фондом, компьютерами, проекторами и экранами, аудиоаппаратурой.

12. Язык преподавания: русский

13. Преподаватель (преподаватели): доцент кафедры биохимии В.Г. Гривенникова

В.Гриев

Приложение

**Оценочные средства для промежуточной аттестации по дисциплине (модулю) «Биохимия мышц и биологическая подвижность»
на основе карт компетенций выпускников**

РЕЗУЛЬТАТ ОБУЧЕНИЯ по дисциплине (модулю)	КРИТЕРИИ и ПОКАЗАТЕЛИ ОЦЕНИВАНИЯ РЕЗУЛЬТАТА ОБУЧЕНИЯ по дисциплине (модулю), баллы БРС					ОЦЕНОЧНЫЕ СРЕДСТВА
	1, 0	2 1-29	3 30-59	4 60-89	5 90-100	
Владеть: навыками анализа методологических проблем, возникающих при решении исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях Код В1 (УК-1)						- индивидуальное собеседование, реферат, зачет
Владеть: навыками критического анализа и оценки современных научных достижений и результатов деятельности по решению исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях Код В2 (УК-1)	0	1-29	30-59	60-89	90-100	-- индивидуальное собеседование, реферат, зачет
Знать: методы научно-исследовательской деятельности Код 31(УК-2)	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- индивидуальное собеседование, реферат, зачет
Владеть:	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- индивидуальное собеседование, реферат,

технологиями оценки результатов коллективной деятельности по решению научных и научно-образовательных задач, в том числе ведущейся на иностранном языке Код В2(УК-3)						<i>зачет</i>
Знать: стилистические особенности представления результатов научной деятельности в устной и письменной форме на государственном и иностранном языках Код 32(УК-4)	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- индивидуальное собеседование, реферат, <i>зачет</i>
Владеть: навыками анализа научных текстов на государственном и иностранном языках Код В1(УК-4)	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- индивидуальное собеседование, реферат, <i>зачет</i>
Уметь: собирать, отбирать и использовать необходимые данные и эффективно применять количественные методы их анализа	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- индивидуальное собеседование, реферат, <i>зачет</i>

Фонды оценочных средств, необходимые для оценки результатов обучения

Примеры вопросов к промежуточному контролю (темы рефератов, вопросы для индивидуального собеседования):

1. Скорость химической реакции, способы ее выражения. Молекулярность реакции. Порядок реакции. Реакции первого, второго, третьего и нулевого порядков.
2. Закон действующих масс. Константа скорости реакции. Анализ кинетических результатов. Интегральный метод обработки экспериментальных данных. Дифференциальный метод Вант-Гоффа.
3. Физический смысл константы скорости реакции. Влияние температуры на константу скорости. Частота встречаемости молекул. Стерический фактор.
4. Распределение молекул по скоростям. Понятие об энергии активации и построение энергетических диаграмм реакции. Переходное состояние.
5. Специфика реакций, протекающих в растворах. Физико-химические свойства воды. Водородная связь и структура воды. Подвижности ионов водорода и гидроксила. Влияние растворенных веществ на структуру воды. Соединения, структурирующие воду. Хаотропные агенты.
5. Типы катализа на примере реакции кето-енольной тautомерии оксалоацетата.
6. Специфический кислотный катализ.
7. Специфический основной катализ.
8. Обобщенный катализ кислотой и основанием.
9. Внутримолекулярный катализ. Согласованный катализ.
10. Ферментативный катализ. Понятие энергии активации. Влияние катализаторов на факторы, определяющие величину константы скорости химической реакции.
11. Основные ограничения и постулаты, использующиеся в ферментативной кинетике. Вывод уравнения, связывающего скорость ферментативной реакции с концентрациями фермента и субстрата и с индивидуальными константами.
12. Гипотеза стационарного приближения в кинетике ферментативных реакций.
13. Кинетические модели ферментативной реакции в приближении Van Слайка, Михаэлиса-Ментен и Бриггса-Холдейна.
14. Уравнение Михаэлиса. Вывод и анализ.

15. Способы лианеризации уравнения Михаэлиса.
14. Механизм Михаэлиса-Ментен для обратимой ферментативной реакции. Связь между кинетическими параметрами и константой равновесия реакции. Соотношение Холдейна для обратимой односубстратной ферментативной реакции.
15. Специфичность максимальных скоростей реакций, катализируемых ферментом. Гипотеза индуцированного соответствия Кошланда.
16. Способы определения K_S . Метод Слейтера-Боннера для определения субстратной константы.
17. Ингибиторы и активаторы ферментативных реакций. Классификация ингибиторов. Обратимые ингибиторы. Конкурентный тип торможения ферментативных реакций.
18. Неконкурентное ингибирование.
19. Смешанное ингибирование.
20. Бесконкурентное ингибирование.
21. Графическое представление результатов ингибирования. Метод Диксона. Определение констант ингибирования.
22. Необратимые ингибиторы. Способы анализа необратимого торможения.
23. Ингибиторы – аналоги переходного состояния субстрата.
23. Ингибиторы с высоким сродством.
24. Влияние pH на ферменты. pH-функции Михаэлиса.
25. Сопряженные последовательные реакции и их использование для измерения активности ферментов. Наиболее распространенные в биохимии сопряженные системы.
26. Кооперативные явления в ферментативном катализе. Олигомерные ферменты. Положительная и отрицательная кооперативность связывания субстрата реакции. Количественная оценка кооперативности. Уравнение Хилла и физический смысл входящих в него параметров.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ ФОРМЫ ОТЧЕТНОСТИ

ЗАДАНИЕ 1:

3–4 задачи на определение порядка реакции и констант скорости.

ЗАДАНИЕ 2:

2–3 задачи на определение кинетических параметров ферментативных реакций с применением графиков в координатах Лайнувера–Берка, Эдди–Хофсти, Хайнса и Корниш–Боудена.

ЗАДАНИЕ 3:

Вывод и анализ уравнений скорости для окислительно–восстановительных реакций, протекающих с участием субстрата-донора и акцептора электронов.

ЗАДАНИЕ 4:

Вывод уравнения скорости ферментативной реакции в присутствии конкурентного ингибитора в стационарном приближении.

Вывод уравнения скорости ферментативной реакции в присутствии ингибитора со смешанной функцией и его анализ. Построение графиков в координатах Диксона.

ЗАДАНИЕ 5:

2–3 задачи на определение pH-зависимости скорости ферментативной реакции и определение скорости реакции в сопряженной ферментативной системе.

Все задания аспиранты решают самостоятельно либо в качестве домашней работы, либо в виде 1–2 контрольных работ с последующим обсуждением на занятиях.

ПРОГРАММА
зачета по спецкурсу «Кинетика ферментативных реакций»

ЛЕКЦИЯ 1. Предмет и задачи химической кинетики. Соотношение кинетики и термодинамики применительно к процессам, протекающим в живой клетке. Механизм химической реакции. Кинетика как инструмент изучения механизмов реакций. Основные кинетические законы. Скорость химической реакции, способы ее выражения. Молекулярность реакции. Порядок реакции. Реакции первого, второго, третьего и нулевого порядков. Константа скорости реакции. Размерности констант скорости.

ЛЕКЦИЯ 2. Закон действующих масс. Анализ кинетических результатов. Интегральный метод обработки экспериментальных данных. Дифференциальный метод Вант-Гоффа. Концентрационный и временной порядок реакции. Сравнение методов. Полувремя реакции первого порядка. Обратимые реакции. Последовательные реакции.

ЛЕКЦИЯ 3. Физический смысл константы скорости реакции. Устойчивость молекул и энергия связи. Кривая потенциальной энергии молекул при изменении расстояния между атомами. Образование и разрыв химических связей. Влияние температуры на константы скорости. Уравнение Аррениуса. Распределение молекул по скоростям. Понятие об энергии активации и построение энергетических диаграмм реакции. Переходное состояние. Кинетическая теория столкновений. Частота встречаемости молекул. Стерический фактор.

ЛЕКЦИЯ 4. Специфика реакций, протекающих в растворах. Вода – универсальный растворитель в биологических системах. Физико-химические свойства воды. Водородная связь и структура воды. Подвижности ионов водорода и гидроксила. Влияние растворенных веществ на структуру воды. Соединения, структурирующие воду. Хаотропные агенты. Гидрофобные взаимодействия в водных растворах. Влияние воды на различные типы взаимодействия между молекулами.

ЛЕКЦИЯ 5. Катализ. Типы катализа на примере реакции кето-енольной тautомерии оксалоацетата. Катализ водой. Специфический кислотный катализ; специфический основной катализ. Обобщенный катализ кислотой и основанием. Внутримолекулярный катализ. Согласованный катализ. Ферментативный катализ. Влияние катализаторов на факторы, определяющие величину константы скорости химической реакции.

ЛЕКЦИЯ 6. Формальная кинетика реакций, катализируемых ферментами. Основные ограничения и постулаты, использующиеся в ферментативной кинетике. Вывод уравнения, связывающего скорость ферментативной реакции с концентрациями фермента и субстрата и с индивидуальными константами. Модель Ван-Слайка (необратимая реакция образования фермент-субстратного комплекса). Равновесное приближение Михаэлиса. Принцип стационарности. Модель Бригgsа-Холдейна. Справедливость допущения о стационарном протекании реакции.

ЛЕКЦИЯ 7. Соотношение K_m и K_s . Способы лианеризации уравнения Михаэлиса и их критическая оценка. Способы определения K_s . Метод Слейтера-Боннера. Кинетические механизмы ферментативных реакций. Методы установления кинетического механизма реакции.

ЛЕКЦИЯ 8. Механизм Михаэлиса-Ментен для обратимой ферментативной реакции. Соотношение Холдейна. Связь между кинетическими параметрами и константой равновесия реакции. Специфичность максимальных скоростей реакций, катализируемых ферментами. Конформационная подвижность молекул ферментов. Гипотеза индуцированного соответствия Кошланда. Гипотеза непродуктивного связывания.

ЛЕКЦИЯ 9. Ингибиторы и активаторы ферментативных реакций. Классификация ингибиторов. Обратимые ингибиторы. Конкурентный тип торможения ферментативных реакций. Неконкурентное ингибирование. Смешанное ингибирование. Бесконкурентное ингибирование. Графическое представление результатов ингибирования. Метод Диксона. Определение констант ингибирования. Субстратное ингибирование ферментов.

ЛЕКЦИЯ 10. Необратимые ингибиторы. Способы анализа необратимого торможения. Необратимые ингибиторы-аналоги субстрата. Защита фермента субстратом и конкурентным ингибитором.

ЛЕКЦИЯ 11. Ингибиторы с высоким сродством. Системы с взаимным истощением. Кинетика ферментов, прочно связывающих лиганды. Титрование фермента прочно связывающимся лигандом. Медленные изменения активности ферментов. Трудности определения типа торможения псевдонеобратимыми ингибиторами.

ЛЕКЦИЯ 12. Влияние pH на ферменты. Ионизация двухосновной кислоты. Кислотно-основной катализ и pH-зависимости скорости реакции. pH-функции Михаэлиса. Неоднозначность интерпретации pH-зависимостей ферментативной реакции.

ЛЕКЦИЯ 13. Сопряженные последовательные реакции и их использование для измерения активности ферментов. Наиболее распространенные в биохимии сопряженные системы. Переходные состояния в сопряженных системах. Стационарные концентрации субстратов и продуктов. Ошибки, встречающиеся при измерении активностей ферментов в сопряженных системах.

ЛЕКЦИЯ 14. Проблема регулирования активности ферментов в клетке и «аномальная» кинетика ферментативных реакций. Кооперативные явления в ферментативном катализе. Олигомерные ферменты. Положительная и отрицательная кооперативность связывания субстрата реакции. Количественная оценка кооперативности. Уравнение Хилла и физический смысл входящих в него параметров. Уравнение Эдера. Аллостерическая модель Моно, Уаймена и Шанжё. Различные примеры отклонения от гиперболической зависимости скорость реакции÷концентрация субстрата.