Белорусский государственный университет

УТВЕРЖДАЮ
Проректор по учебной работе
_____ А.Л. Толстик

« 29 » декабря 2015 г.

Регистрационный № УД -1338/уч.

ФЕРМЕНТАТИВНАЯ КИНЕТИКА

Учебная программа учреждения высшего образования по учебной дисциплине для специальности
1-31 01 02 Биохимия
специализаций 1-31 01 02 01 Аналитическая биохимия и
1-31 01 02 02 Биохимия лекарственных средств

2015 г.

Учебная программа составлена на основе ОСВО 1-31 01 02-2013 г. и учебного плана УВО: № G31-130/уч. 2013 г.

СОСТАВИТЕЛЬ:

Семак Игорь Викторович, заведующий кафедрой биохимии Белорусского государственного университета, кандидат биологических наук, доцент

РЕКОМЕНДОВАНА К УТВЕРЖДЕНИЮ:

Кафедрой биохимии Белорусского государственного университета (протокол № 3 от 15 октября 2015 г.);

Учебно-методической комиссией биологического факультета Белорусского государственного университета (протокол № 5 от 23 декабря 2015 г.).

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Учебная дисциплина «Ферментативная кинетика» относится к циклу дисциплин специализации учебного плана и составлена в соответствии с Образовательным стандартом высшего образования 1-31 01 02-2013 по специальности «Биохимия».

Ферментативная кинетика является одним из наиболее активно развивающихся направлений биохимии как в нашей стране, так и за рубежом. Полученные знания могут быть использованы для успешного решения целого ряда биохимических, биотехнологических и фармакологических задач прикладного и фундаментального характера. Теоретические положения лекционного курса развиваются и закрепляются на лабораторных занятиях, при выполнении которых студенты приобретают навыки подбора оптимальных условий протекания ферментативных реакций, а также учатся анализировать результаты кинетического эксперимента. Программа составлена с учетом межпредметных связей и программ по смежным дисциплинам биологического профиля («Структурная биохимия», «Метаболическая биохимия», «Энзимология» и др.).

Цель учебной дисциплины – дать представление о возможностях ферментативной кинетики как метода исследования механизма каталитического действия ферментов, разобрать принципы и подходы к изучению кинетики реакций различных типов, кинетики инигибирования и активации ферментов, научить трактовать результаты кинетического анализа.

Задачи учебной дисциплины**:**

- освоение студентами основных принципов ферментативной кинетики;
- закрепление теоретических положений лекционного курса на лабораторных занятиях.

В результате изучения дисциплины обучаемый должен:

знать:

- основные закономерности и принципы ферментативной кинетики;
- механизмы каталитического действия ферментов;
- особенности ингибирования, активирования и аллостерической регуляции ферментов;
- современные информационные технологии, используемые для анализа ферментативной кинетики;
- методические приемы постановки кинетического эксперимента;
- новейшие достижения и перспективы развития ферментативной кинетики.

уметь:

- разрабатывать и ставить кинетический эксперимент;
- трактовать результаты кинетического анализа;
- использовать методы кинетического анализа в биохимии;
- пользоваться специализированными компьютерными базами данных и ресурсами Интернета.

владеть:

- методами исследования скорости ферментативной реакции;

- методами определения, математического и графического выражения кинетических характеристик ферментов;
- основными приемами обработки и анализа экспериментальных данных.

Изучение учебной дисциплины «Ферментативная кинетика» должно обеспечить формирование у студента следующих компетенций:

АК-1. Уметь применять базовые научно-теоретические знания для решения теоретических и практических задач.

АК-3. Владеть исследовательскими навыками.

АК-4. Уметь работать самостоятельно.

АК-6. Владеть междисциплинарным подходом при решении проблем.

ПК-2. Осваивать новые модели, теории, методы исследования, участвовать в разработке новых методических подходов.

ПК-3. Осуществлять поиск и анализ данных по изучаемой проблеме в научной литературе, составлять аналитические обзоры.

ПК-7. Осуществлять поиск и анализ данных по изучаемой проблеме в научно-технических и других информационных источниках.

Программа учебной дисциплины рассчитана на 70 часов, из них аудиторных 42 часа: лекционных – 24 часа, лабораторных – 16 часов, аудиторный контроль УСР – 2 часа. Форма текущей аттестации – зачет.

СОДЕРЖАНИЕ УЧЕБНОГО МАТЕРИАЛА ПРОГРАММЫ

1. ВВЕДЕНИЕ

Кинетика ферментов – как один из методов изучения механизма их действия. Основные закономерности и принципы химической кинетики, применяемые в ферментативной кинетике: закон действия масс, порядок и молекулярность реакций, размерности констант скоростей и способы их определения для реакций «0», 1 и 2 порядков.

2. СКОРОСТЬ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ РЕАКЦИИ И СПОСОБЫ ЕЕ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ВЫРАЖЕНИЯ

Понятие начальной скорости ферментативной реакции (V_0). Основные правила подбора экспериментальных условий, обеспечивающих определение V_0. Способы выражения скорости ферментативной реакции и активности ферментов. Единицы активности.

Построение и анализ зависимости накопления продукта реакции (P) от времени (t).

3. СТАЦИОНАРНЫЕ ПРОЦЕССЫ

Условия стационарности реакции. Стационарная скорость реакции и условия отклонения стационарности.

Зависимость V_0 от [S] (кривая насыщения фермента субстратом). Уравнение Михаэлис-Ментен и Бригс-Холдейна. Понятие о максимальной

скорости ферментативной реакции (V_{max}). Константа Михаэлиса (K_m), ее физический смысл, размерность, значимость для характеристики ферментативной реакции.

4. КЛАССИФИКАЦИЯ ФЕРМЕНТАТИВНЫХ РЕАКЦИЙ ПО КОЛИЧЕСТВУ СУБСТРАТОВ (S), ПО СТАДИЙНОСТИ, ПО НАПРАВЛЕННОСТИ

Односубстратные односторонние реакции. Простейшая схема реакции. Анализ зависимости скорости от концентрации фермента (V от [E]). Определение порядка реакции и его изменение в ходе ферментативного процесса.

Односубстратные двусторонние реакции. Условия определения V и K_m.

Двусубстратные реакции. Классификация реакций в зависимости от механизма присоединения субстратов: неупорядоченное, упорядоченное связывание, механизм «пинг-понга». Кажущиеся V и K_m. Получение V и K_m для двусубстратных реакций. Частный случай кинетики двусубстратных реакций (гексокиназная реакция).

Односубстратные односторонние многостадийные реакции. Уравнение скорости реакции. Определение количества стадий реакции.

5. ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ НА СКОРОСТЬ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ РЕАКЦИИ

Понятие об энергии активации (E_a). Изменение энергии активации в ходе ферментативной реакции при различных соотношениях K_{+1}, K_{-1}, K_{+2}. Уравнение Аррениуса и его использование для определения энергии активации и числа стадий ферментативной реакции. Уравнение Вант-Гоффа и его использование для определения изменения энтальпии и энтропии для стадии образования фермент-субстратного комплекса.

6. ТЕРМОДИНАМИЧЕСКАЯ ВЕРОЯТНОСТЬ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ РЕАКЦИИ

Изменение свободной энергии (ΔG) для реакций разных типов. Условия протекания термодинамически невыгодных ферментативных реакций.

7. ВЛИЯНИЕ PH НА СКОРОСТЬ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ РЕАКЦИИ

Понятие об pH-оптимуме. Практические подходы к изучению pH-зависимости скорости ферментативной реакции (определение V, K_m или K_s).

8. ИНГИБИРОВАНИЕ ФЕРМЕНТАТИВНЫХ РЕАКЦИЙ

Понятие «ингибитор», классификация ингибиторов. Обратимое и необратимое ингибирование. Критерии необратимости ингибирования.

Ингибиторные константы (K_i). Кинетика необратимого ингибирования. Кинетика обратимого ингибирования.

Конкурентное ингибирование. Уравнение скорости реакции, графический анализ. Недопустимость использования величины I_{50} для оценки эффективности действия конкурентного ингибитора. Кинетическая неразличимость конкурентного ингибирования с полным и частичным эффектами торможения.

Неконкурентное ингибирование. Схема реакций, графическое представление результатов. Определение K_i и V_i. Полный и частичный эффекты. Причины изменения K_{+2} в условиях действия неконкурентного ингибитора.

Смешанный тип торможения. Схема реакции и графический анализ. Бесконкурентный тип торможения. Схема реакции, уравнение скорости реакции и графический анализ экспериментальных данных.

Субстратное торможение как частный случай ингибирования. Возможные механизмы. Уравнение скорости, графическое представление данных, анализ хода кривой. Условия определения V и K_m.

9. АЛЛОСТЕРИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ

Прямая и косвенная регуляция. S-образная зависимость V от [S]. Определение числа взаимодействующих центров (уравнение Хилла).

10. ПРИМЕНЕНИЕ КОМПЬЮТЕРНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В ФЕРМЕНТАТИВНОЙ КИНЕТИКЕ

Использование ресурсов *Internet*. Компьютерные базы данных. *EMP, BRENDA, WIT, SWISS-PROT*. Обработка результатов кинетического анализа с помощью компьютерных программ *GraphPad Prizm и Enzfitter*.

Некоторые замечания и рекомендации по изучению кинетики и активности ферментов.

УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКАЯ КАРТА УЧЕБНОЙ ДИСЦИПЛИНЫ

Номер раздела, темы	Название раздела, темы	Количество аудиторных часов					Количество часов УСР	Форма контроля знаний
		Лекции	Практические занятия	Семинарские занятия	Лабораторные занятия	Иное		
1.	Введение	2						
2.	Скорость ферментативной реакции и способы ее количественного выражения	2			4		2	Промежуточ-ный зачет (Контрольная работа)
3.	Стационарные процессы	2						
4.	Классификация ферментативных реакций по количеству субстратов (S), по стадийности, по направленности	4			4			
5.	Влияние температуры на скорость ферментативной реакции	3			4			
6.	Термодинамическая вероятность ферментативной реакции	2						
7.	Влияние pH на скорость ферментативной реакции	2			4			
8.	Ингибирование ферментативных реакций	3						
9.	Аллостерическая регуляция активности ферментов	2						
10.	Применение компьютерных технологий в ферментативной кинетике	2						

ИНФОРМАЦИОННО-МЕТОДИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основная:

1. Плакунов, В. К. Основы энзимологии / В. К. Плакунов. - 2-е изд. – М.: Логос, 2001.

2. Биссвангер, Х. Практическая энзимология = Practical Enzymology : учебник : пер. с англ. / Г. Биссвангер. – М.: Бином. Лаборатория знаний, 2010.

3. Келети Т. Основы ферментативной кинетики. Т. Келети. М.: «Мир», 1990

4. Бендер М. Биоорганическая химия ферментативного катализа. М. Бендер, Р. Бергерон, М. Комияма М.: «Мир», 1987

5. Варфоломеев С.Д. Биокинетика. Практ. курс: Учеб. пособие для хим. биолог. и мед. спец. вузов. Варфоломеев С.Д., Гуревич К.Г.- М.: Фаир-Пресс. 1999

6. Семиохин И.А. Кинетика химических реакций. И.А. Семиохин, Б.В. Страхов, А.И. Осипов. Изд. МГУ, 1995

7. Березин И.В. Основы физической химии ферментативного катализа. И.В. Березин, К. Мартинек Высшая школа, 1977

8. Уолтер Ч. Кинетика ферментативных реакций. Ч. М. Уолтер М.:Мир, 1969

Дополнительная:

1. Selkov E., Galimova M., Goryanin I. et al. // The metabolic pathway collection: an update. Nucl. Acids Res., 1997, 25, 37-38.

2. Overbeek R., Larsen N., Pusch G.D. et al. // Nucl. Acids Res., 2000, 28, 123-125.

3. Schomburg I., Chang A., Schomburg D.// Nucl. Acids Res., 2002, 30, 47-49.

4. http://isir.ras.ru/ - Интегрированная Система Информационных Ресурсов Российской Академии Наук.

5. http://www.viniti.msk.su/ - Всероссийский Институт Научной и Технической Информации (ВИНИТИ РАН).

6. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Pubmed - База научных данных в области биомедицинских наук.

7. www.chem.qmul.ac.uk/iubmb - Биохимическая классификация и номенклатура ферментов. Свободный доступ на сайте Международного союза биохимии и молекулярной биологии.

8. www.molbiol.ru, www.nature.ru - Учебники, научные монографии, обзоры, лабораторные практикумы в свободном доступе на сайтах практической молекулярной биологии.

9. http://igweb.integratedgenomics.com/EMP/

10. http://wit.mcs.anl.gov/WIT2/

11.http://www.uni-koeln.de/math-nat-fak/biochemie/ds/dsbren_e.htm .

12. http://us.expasy.org/sprot/sprot-top.html

ПЕРЕЧЕНЬ КОНТРОЛЬНЫХ МЕРОПРИЯТИЙ УПРАВЛЯЕМОЙ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ СТУДЕНТОВ

1. Промежуточный зачет по разделу «Скорость ферментативной реакции и способы ее количественного выражения».

ПЕРЕЧЕНЬ ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СРЕДСТВ ДИАГНОСТИКИ РЕЗУЛЬТАТОВ УЧЕБНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ СТУДЕНТОВ

В качестве формы итогового контроля по дисциплине используется зачет.

Для оценки профессиональных компетенций студентов используется следующий диагностический инструментарий:

– устные и письменные опросы на лабораторных занятиях;
– выполнение заданий в тестовой форме;
– проверка ведения протоколов лабораторных занятий;
– защита подготовленного студентом реферата.

ПЕРЕЧЕНЬ ЛАБОРАТОРНЫХ ЗАНЯТИЙ

(16 часов)

1. Зависимость накопления продуктов пероксидазного окисления о-фенилендиамина от времени (4 ч).
2. Зависимость начальной скорости реакции пероксидазного окисления о-фенилендиамина от концентрации пероксидазы хрена (4 ч).
3. Зависимость скорости реакции пероксидазного окисления о-фенилендиамина от температуры (4 ч).
4. Зависимость скорости реакции пероксидазного окисления о-фенилендиамина от значения pH (4 ч).

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ОРГАНИЗАЦИИ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ СТУДЕНТОВ

Для организации самостоятельной работы студентов по учебной дисциплине следует использовать современные информационные технологии: разместить в сетевом доступе комплекс учебных и учебно-методических материалов (программа, методические указания к лабораторным занятиям, список рекомендуемой литературы и информационных ресурсов, задания для осуществления самоконтроля и др.).

Эффективность самостоятельной работы студентов целесообразно проверять в ходе текущего и итогового контроля знаний.

При пропуске лекционных занятий предусмотрено написание реферата по теме лекции.

ПРОТОКОЛ СОГЛАСОВАНИЯ УЧЕБНОЙ ПРОГРАММЫ

Название учебной дисциплины, с которой требуется согласование	Название кафедры	Предложения об изменениях в содержании учебной программы учреждения высшего образования по учебной дисциплине	Решение, принятое кафедрой, разработавшей учебную программу (с указанием даты и номера протокола)[1]
Структурная биохимия	Биохимии	Не требуется	Протокол № 3 от 15 октября 2015 г.
Метаболическая биохимия	Биохимии	Не требуется	Протокол № 3 от 15 октября 2015 г.
Энзимология	Биохимии	Не требуется	Протокол № 3 от 15 октября 2015 г.

ПРИЛОЖЕНИЕ 7

ДОПОЛНЕНИЯ И ИЗМЕНЕНИЯ К УЧЕБНОЙ ПРОГРАММЕ
ПО ИЗУЧАЕМОЙ УЧЕБНОЙ ДИСЦИПЛИНЕ
на _____/_____ учебный год

№№ пп	Дополнения и изменения	Основание

Учебная программа пересмотрена и одобрена на заседании кафедры
(протокол № ____ от _____ 20 г.)

Заведующий кафедрой

_____ _____ _____
(степень, звание) (подпись) (И.О.Фамилия)

УТВЕРЖДАЮ
Декан факультета

_____ _____ _____
(степень, звание) (подпись) (И.О.Фамилия)