

**Программа**  
Спецкурса “**БИОКАТАЛИЗ**”  
Лектор проф. Г.А. Невинский. (32 часа)

**1. Организационно-методический раздел**

Спецкурс "Биокатализ" по специальности "биология" относится к разделу "естественно-научные" в рамках федеральной программы.

**1.1. Цели и задачи курса**

Дисциплина "Биокатализ" предназначена для подготовки специалистов в области молекулярной биологии, биохимии и биоорганической химии и читается для биологов 4 года обучения, проходящих специализацию на Кафедре молекулярной биологии ФЕН НГУ

Основной целью освоения дисциплины является овладение теоретическими основами биокатализа, а так же теоретическими основами физико-химических методов, используемых для изучения механизмов действия ферментов.

Для достижения поставленной цели выделяются задачи курса:

- освоение теоретических основ ферментативной кинетики и термодинамики, органической и биоорганической химии ферментов.
- изучение подходов к использованию различных физико-химических методов для изучения механизмов действия ферментов
- изучения возможных путей применения ферментов в различных областях жизнедеятельности человека (промышленность, медицина, научные исследования и т. д.)

**1.3. Требования к уровню освоения содержания курса "Биокатализ"**

По окончании изучения указанного курса студент должен

- **иметь представление о** структуре и функции наиболее важных ферментов, структуре и функции наиболее важных субстратов, коферментов, кофакторов и простетических групп; основных уравнениях стационарной и быстрой кинетики, термодинамики, используемых для описания механизмов действия ферментов.
- **знать** формулы изучаемых соединений, основные кинетические и термодинамические характеристики ферментативных процессов, основные механизмы химических реакций, катализируемых ферментами
- **уметь** применить полученные знания для анализа экспериментальных данных, получаемых в процессе изучения ферментов при выполнении курсовых и дипломных работ и дальнейшей научно-исследовательской работе в области биохимии, биоорганической химии, молекулярной биологии и фундаментальной медицины; изложить усвоенные знания на экзамене.

#### 1.4. Формы контроля

**Итоговый контроль.** Для контроля усвоения дисциплины учебным планом предусмотрен экзамен.

**Текущий контроль.** В течение семестра выдается задание, включающее несколько задач, решение которых позволяет проверить степень усвоение студентами теоретического материала.

## 2. Содержание курса "Биокатализ"

2.1. Не смотря на то, что курс "Биокатализ" читается студентам биологам как спецкурс, он является базовым курсом для студентов, проходящих специализацию на Кафедре молекулярной биологии ФЕН НГУ; знание этого курса необходимо при выполнении курсовых и дипломных работ и дальнейшей научно-исследовательской работе в области биохимии, биоорганической химии, молекулярной биологии и фундаментальной медицины.

#### 2.2. Тематический план курса

Наименование разделов и тем	Количество часов			
	Лекции	Семинары	Самостоятельная работа	Всего часов
Введение	2		1	3
Основные физико-химические факторы, обеспечивающие ускорение ферментативных реакций. Уровни организации белковых молекул ферментов: общие закономерности формирования активных центров ферментов.	2		1	3
Различные типы ферментативного катализа	4		2	6
Коферменты, кофакторы и простетические группы, их классификация и физико-химические основы функционирования	4		2	6
Классификация и номенклатура ферментов.	2		1	3
Стационарная кинетика и термодинамика ферментативных реакций.	2		1	3
Типы ингибиторов, методы определения типов ингибирования и величин констант ингибирования	4		2	6

Анализа ферментативных реакций с помощью подходов нестационарной кинетики	2		1	3
Аллостерические ферменты, кооперативные взаимодействия	4		2	6
Методы исследования структуры и функции активных центров и механизмов функционирования ферментов	2		1	3
Общие закономерности узнавания ферментами низкомолекулярных и протяженных полимерных субстратов	4		2	6
<b>Итого по курсу</b>	<b>32</b>		<b>16</b>	<b>48</b>

### 2.3. Содержание отдельных разделов и тем

1. Введение  
Понятие о науке "Биокатализ". Что такое ферменты; область применения ферментов; проблемы и перспективы.
2. Ферменты-биологические катализаторы. Основные физико-химические факторы, обеспечивающие ускорение ферментативных реакций (в сравнении с реакциями, протекающими без участия ферментов). Основные отличия ферментативного и химического катализа (специфичность действия и эффективность реакций).
3. . Уровни организации белковых молекул ферментов: первичная, вторичная, третичная и четвертичная структура белка. Общие закономерности формирования активного центра: аминокислотные остатки, входящие в активные центры ферментов, принципы их взаимодействия между собой и со структурными элементами субстратов. Роль гидрофобных и электростатических контактов, водородных связей и ван дер Ваальсовых сил в обеспечении специфичности действия ферментов. Величины рК различных групп (карбоксильных, амино, окси, меркапто- и т.д.), входящих в состав аминокислотных остатков белков. Анализ возможной роли этих групп в образовании контактов активных центров ферментов с субстратами, а также непосредственно в каталитических процессах.
4. Различные типы ферментативного катализа: нуклеофильный, электрофильный, кислотный, основной, общий кислотно-основной, окислительно-восстановительные реакции и другие типы катализа. Роль отдельных аминокислотных остатков в обеспечении каталитических функций активных центров ферментов.
5. Коферменты и простетические группы, их классификация. Закономерности функционирования основных кофакторов и коферментов: пиридоксаль-зависимый катализ, тиаминпирофосфат, NAD и его производные,

- пиримидиновые и пуриновые нуклеотиды и т. д. Механизмы ферментативных реакций с участием указанных выше коферментов. Роль металлов в катализе. Макроэргические соединения и их роль в биологических процессах.
6. Классификация и номенклатура ферментов.
  7. Кинетика ферментативных реакций. Понятие о величинах констант Михаэлиса ( $K_M$ ) и максимальных скоростей. Уравнение Михаэлиса-Ментен и границы его применимости. Понятие о величинах констант диссоциации ( $K_d$ ) фермент-субстратных комплексов. Соотношение величин  $K_M$  и  $K_d$ , характеризующих взаимодействие ферментов с субстратами. Понятие об основных кинетических факторах каталитических процессов. Подходы к анализу одно, двух и многосубстратных ферментов. Экспериментальные методы определения термодинамических и кинетических параметров, характеризующих ферментативные процессы.
  8. Общие закономерности процессов ингибирования энзимологических процессов. Типы ингибиторов, методы определения типов ингибирования и величин констант ингибирования ( $K_I$ ) Применение элементов теории графов для вывода уравнений, описывающих взаимодействие фермента с субстратом и анализа кинетических параметров ферментативных реакций. Многосубстратные ферментативные реакции. Методы анализа порядка присоединения субстратов.
  9. Границы применимости методов стационарной кинетики и понятие о нестационарной кинетике. Экспериментальные методы анализа скоростей быстрых реакций. Условия анализа реакций с помощью подходов нестационарной кинетики; уравнения для описания нестационарного режима реакций. Примеры применения методов нестационарной кинетики.
  10. Аллостерические ферменты. Конформационные свойства ферментов. Кооперативные взаимодействия активных центров. Динамика взаимодействия ферментов с субстратами и взаимодействия структурных элементов ферментов между собой. Методы анализа кооперативных взаимодействий. Модели, описывающие кооперативные взаимодействия. Принципы регуляции кооперативных ферментов. Детальный анализ кооперативных взаимодействий на примере гемоглобина.
  11. Методы исследования структуры и функции активных центров и механизмов функционирования ферментов: аффинная и группоспецифическая модификация ферментов, анализ олигомерной структуры и числа участков связывания субстратов, комплексные методы анализа ферментов, рентгеноструктурный анализ и т. д. Данные о строении активных центров химотрипсина, карбоксипептидазы, рибонуклеазы, лактат и малат дегидрогеназ, нуклеотид-связывающих доменов различных ферментов. Общность и различия в строении активных центров ферментов: структурные предпосылки специфичности и эффективности биокатализа. Диапазон ускорения реакций.
  12. Общие закономерности в механизмах действия ферментов, узнающих маленькие по размеру лиганды. Узнавание ферментами протяженных молекул ДНК, полисахаридов и т. д. Роль большого числа слабых аддитивных неспецифических взаимодействий протяженных лигандов с

ферментами в обеспечении высокого сродства таких лигандов. Роль специфических взаимодействий между ферментами и протяженными лигандами в обеспечении сродства и специфичности действия ферментов. Роль стадий адаптации (конформационной подгонки) структур фермента и протяженного лиганда и непосредственно катализа в специфичности действия ферментов.

### **3. Учебно-методическое обеспечение курса "Ферментативный катализ и химия метаболизма"**

#### **3.1. Образцы вопросов для подготовки к экзамену**

Нуклеофильный и электрофильный катализ

Механизмы действия пиродоксаль-зависимых ферментов

Стационарная кинетика ферментативных реакций. Уравнение Михаэлиса-Ментен.

Нестационарная кинетика ферментативных реакций, уравнения и методы анализа

#### **3.2. Список основной и дополнительной литературы**

1. Фершт Э. Структура и механизм действия ферментов, Москва, Мир, 1980.
2. Дюга Г. и Пенни К. Биоорганическая химия, Москва, Мир, 1983.
3. Курганов Б. И. Аллостерические ферменты, Москва, Наука, 1978.
4. Аффинная модификация ферментов/под. ред. Кнорре Д.Г., Наука, 1983.
5. Корниш-Боуден Э. Основы ферментативной кинетики, Москва, Мир, 1979.
6. Килети Т. Основы ферментативной кинетики, Москва, Мир., 1990.
7. Диксон М. и Уэбб Э. Ферменты, Москва, Мир, том 1-3, 1966
8. Классификация и номенклатура ферментов, под ред. Браунштейна А. Е., Издательство иностранной литературы, 1962.
9. Невинский Г.А., Важная роль слабых взаимодействий при узнавании ферментами протяженных молекул ДНК и РНК, Молекулярная биология, 1995, **29**, 16-37.
10. Бугреев Д.В., Невинский Г.А. Возможности метода постадийного усложнения лиганда в исследовании белково-нуклеиновых взаимодействий: механизмы функционирования некоторых ферментов репликации, репарации, топоизомеризации и рестрикции. Биохимия, 1999, **64**, 291-305.