

Программа

Спецкурс «**БИОКАТАЛИЗ**» для биологов 4 курса ФЕН. 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
Итого по курсу	32		16	48

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.