

Кинетика ферментативных реакций

Лектор – доктор химических наук профессор П.В.Вржеш

Программа курса:

Понятие о скорости химической реакции. Элементарные реакции. Порядок реакции. Определение порядка реакции. Механизм реакции. Прямые и обратные задачи химической (ферментативной) кинетики.

Стохастическая природа химической реакции. Химическая реакция как марковский процесс. Анализ естественных ограничений сферы применения химической кинетики для биологических процессов.

Простейшая двухстадийная схема ферментативной реакции. Предстационарный и стационарный режимы на примере двухстадийной схемы ферментативной реакции. "Характеристическое время" ферментативной реакции. Уравнение Михаэлиса-Ментен. Понятия "константа Михаэлиса" и "максимальная скорость реакции". Методы определения параметров уравнения Михаэлиса-Ментен.

Нестационарная кинетика. Общая формулировка задачи. Экспериментальные методы "быстрой кинетики" (метод "непрерывной струи", метод "остановленной струи", применение импульсного фотолиза, другие методы).

Стационарное приближение в ферментативной кинетике. Принцип стационарности Боденштейна и его математическое обоснование. Теорема Тихонова. Анализ фазового портрета системы. Критерий применимости стационарного приближения для ферментативных реакций. Равновесное приближение в ферментативной кинетике, ограничения при его применении.

Интегральное уравнение Михаэлиса-Ментен. Координаты Уокера-Шмидта. Экспериментальные осложнения при применении интегрального уравнения Михаэлиса-Ментен (ингибирование продуктом, инактивация фермента, влияние обратной реакции и др.).

Ингибиторный (активаторный) методы анализа ферментативной кинетики. Типы обратимого ингибирования: конкурентное ингибирование, неконкурентное ингибирование, бесконкурентное ингибирование, смешанное ингибирование. Анализ в координатах Лайнуивера-Бэрка и в координатах Диксона. Частные случаи псевдобесконкурентного и псевдоконкурентного ингибирования, их кинетическая дискриминация. Анализ общего случая ингибирования/активации обратимым эффектором. Кинетические методы определения констант ингибирования.

pH-эффекты в ферментативном катализе. Их физический смысл, ионогенные каталитически активные функциональные группы. Кинетическая схема реакций с одной и

двумя ионогенными группами. Кинетические методы определения рК ионогенной группы фермента.

Кинетика ферментативных реакций в гетерогенных условиях. Стационарная кинетика реакции с иммобилизованным ферментом. Кинетический и диффузионный режимы. Модуль Тиле.

Применение теории переходного состояния к ферментативному катализу. Энергетическая диаграмма "свободная энергия - координата реакции". Анализ взаимосвязи между структурой субстрата (ингибитора) и сорбционными и каталитическими свойствами фермента. Константа Ханша. Корреляционные зависимости.

Модели ферментативного катализа. Внутримолекулярные реакции. Мицеллярный катализ. Абзимы.

Метод графов. Применение метода графов для вывода уравнений и качественного анализа в случае стационарного (метод Волькенштейна и Гольдштейна) и равновесно-стационарного приближения (метод Ча) в ферментативной кинетике.

Уравнение стационарной скорости обратимой трехстадийной ферментативной реакции. Обобщенные схемы многосубстратных ферментативных реакций. Необходимые и достаточные условия появления гиперболических зависимостей типа уравнения Михаэлиса-Ментен в ферментативной кинетике. Ингибирование обратимыми ингибиторами. Понятие о скалярной и векторной связности промежуточных фермент-субстратных форм в механизме реакции. Качественный анализ произвольных механизмов ферментативных реакций.

Кинетика полиферментных реакций. Понятие лимитирующей стадии. Сопряженные ферментативные реакции. Нестационарный и стационарный режимы протекания процесса.

Литература:

- С.Д.Варфоломеев. Химическая энзимология. М.: Издательский центр «Академия», 2005. – 480 с.
- И.В.Березин, С.Д.Варфоломеев. Биокинетика. М.:Наука, 1979 - 312с.
- И.В.Березин, А.А.Клесов. Практический курс ферментативной кинетики. М., МГУ, 1976 -320 с.
- С.Д.Варфоломеев, Г.Ф.Судьина. Кинетика реакций с иммобилизованными ферментами. (Методические разработки к спецкурсу "Биокинетика") Москва, 1980 - 160 с.
- А.А.Клесов, И.В.Березин. Ферментативный катализ. Часть 1. Специфичность ферментативного катализа (простые субстраты). Учебное пособие. М.: Изд-во МГУ, 1980, - 264 с.

- И.В.Березин, К.Мартинек. Основы физической химии ферментативного катализа. М.:Высшая школа, 1977 - 280 с.
- М.Диксон, Э.Уэбб. Ферменты. М.:Мир, 1982, Т.1-3 - 1120 с.
- Л.Уэбб. Ингибиторы ферментов и метаболизма. М.:МИР, 1966 - 862 с.
- А.Б.Рубин, Н.Ф.Пытьева, Г.Ю.Ризниченко. Кинетика биологических процессов. Учебное пособие. Изд-во Моск. ун-та, 1977 - 330 с.
- Химическая и биологическая кинетика /Под ред. Н.М.Эмануэля, И.В.Березина, С.Д.Варфоломеева. - М.: Изд-во Моск. ун-та, 1983, - 296 с.
- Б.Н.Холоденко. Современная теория контроля метаболизма. Итоги науки и техники. Серия Биофизика. Т.32, М.:ВИНИТИ, 1991 - 92 с.
- Б.Н.Гольдштейн. Кинетические графы в энзимологии. М.:Наука, 1989-165с.
- S.Cha. A simple method for derivation of rate equations for enzyme-catalyzed reaction under rapid equilibrium assumption or combined assumption of equilibrium and steady-state. J.Biol.Chem. 1968, V.243, N 4, P.820-825.
- Вржещ П.В., Варфоломеев С.Д. Стационарная кинетика многосубстратных ферментативных реакций. Инактивация фермента в процессе реакции. Биохимия, 1985, Т.50, N1, С.139-147.
- Вржещ П.В. Стационарная кинетика многосубстратных ферментативных реакций. Ингибирование продуктами, обратимыми и необратимыми ингибиторами. Биохимия, 1988, Т.53, N 10, С.1704-1711.
- П.В.Вржещ. Кинетическая модель бифункционального многосубстратного фермента. Стационарное приближение. Биохимия, 1999, Т.64, Вып. 4, С.502-512.
- П.В.Вржещ. Интегральная кинетика многосубстратных ферментативных реакций. Критерии кинетического поведения и характеристические координаты для решения прямой и обратных задач. Биохимия, 1996, Т.61, Вып.12. С.2069-2083.
- П.В.Вржещ, К.Г.Завада. Предстационарная и стационарная кинетика ферментативных реакций. Москва, 2004, изд-во «Макс-Пресс», - 176 с.
- П.В.Вржещ. Стационарная кинетика многосубстратных ферментативных реакций. Москва, 2003, изд-во «Макс-Пресс», - 56 с.