Кинетика ферментативных реакций

Лектор: доцент, к.б.н. В.Г. Гривенникова

Программа курса

Часть 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. 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.

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.

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.

Катализ. Типы катализа на примере реакции кето-енольной таутомерии 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.

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 Бриггса-Холдейна. Справедливость допущения о стационарном протекании реакции. Соотношение KM и KS. Способы лианеризации уравнения Михаэлиса и их критическая оценка. Способы определения KS. Метод Слейтера-Боннера. Кинетические механизмы ферментативных реакций. Методы установления кинетического механизма реакции.

Специфичность максимальных скоростей реакций, катализируемых ферментами. Конформационная подвижность молекул ферментов. Гипотеза индуцированного соответствия Кошланда. Гипотеза непродуктивного связывания.

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.

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

Часть 2

Механизм Михаэлиса-Ментен для обратимой ферментативной реакции. Соотношение Холдейна. Связь между кинетическими параметрами и константой равновесия реакции.

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

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

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.

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.

Рекомендуемая 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. Ленинджер. 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.