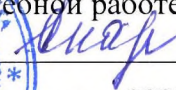


# ГОУ ВПО «ДОНЕЦКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

## ФАКУЛЬТЕТ ХИМИЧЕСКИЙ Кафедра биохимии и органической химии

УТВЕРЖДАЮ:

проректор по научно-методической  
и учебной работе



Е.И. Скафа

«22» апреля 2020 г.

МП



## РАБОЧАЯ ПРОГРАММА УЧЕБНОЙ ДИСЦИПЛИНЫ

«Кинетика и термодинамика ферментативных процессов»

Специальность: *04.05.01 Фундаментальная и прикладная химия*

Образовательная программа: *специалитет*

Квалификация: *Химик. Преподаватель химии*

Форма обучения: *очная*

Донецк 2020

УТВЕРЖДАЮ:

Декан химического факультета

А.В. Белый



Программа составлена на основе Федерального государственного образовательного стандарта высшего образования (ФГОС ВО) специальности 04.05.01 Фундаментальная и прикладная химия, утвержденного приказом Министерства образования и науки Российской Федерации от 13 июля 2017 г. № 652; учебного плана и основной образовательной программы специальности 04.05.01 Фундаментальная и прикладная химия, разработанных в ГОУ ВПО «Донецкий национальный университет».

Разработчик:

доцент кафедры биохимии и органической химии, к.х.н.

И. Д. Одарюк

Программа учебной дисциплины утверждена на заседании кафедры биохимии и органической химии

Протокол № 10 от «13» апреля 2020 г.

И.о. заведующего кафедрой

О.В. Баранова

Программа учебной дисциплины одобрена учебно-методической комиссией химического факультета

Протокол № 3 от «15» апреля 2020 г.

Председатель учебно-методической комиссии факультета

Н. В. Яблочкова

## 2.1. ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ И МЕСТО ДИСЦИПЛИНЫ В УЧЕБНОМ ПРОЦЕССЕ

Курс «Кинетика и термодинамика ферментативных процессов» является дисциплиной вариативной части по специальности 04.05.01 Фундаментальная и прикладная химия. Дисциплина реализуется на химическом факультете ДонНУ кафедрой биохимии и органической химии.

Кинетика и термодинамика ферментативных процессов – это дисциплина, которая рассматривает механизм действия ферментов с фундаментальных позиций физической химии. Подавляющее большинство протекающих в живом организме процессов катализируется ферментами, которых характерна высокая эффективность, селективность, продуктивность, мягкие условия, регулируемость, кооперативный характер действия. Без данных белковых тел жизнь была бы невозможна. Несмотря на их уникальность законы ферментативного катализа не противоречат фундаментальным физико-химическим законам, что не является очевидным при беглом начальном знакомстве с ферментами. Данный курс основывается на базе дисциплин: «Биохимия и молекулярная биология», «Химические основы биологических процессов», «Физическая химия», «Вычислительные методы в химии», «Физические методы исследования в химии». Является основой для выполнения выпускной квалификационной работы и проведения научно-исследовательской деятельности.

Полученные знания используются студентами при выполнении выпускной квалификационной работы и проведении научно-исследовательской деятельности.

## 2. СТРУКТУРА ДИСЦИПЛИНЫ

<i>Характеристика учебной дисциплины</i>		
Специальность	04.05.01 Фундаментальная и прикладная химия	
Программа специалитета	Фундаментальная и прикладная химия	
Программа подготовки	специалитет	
Квалификация	Химик. Преподаватель химии	
Количество содержательных модулей	2	
Дисциплина базовой / вариативной части образовательной программы	дисциплина вариативной части	
Формы контроля	1 модульный контроль, 1 экзамен	
Показатели	очная форма обучения	заочная форма обучения
Количество зачетных единиц (кредитов)	4	
Год подготовки	5	
Семестр	9	
Количество часов	144	
- лекционных	28	
- практических	—	
- лабораторных	28	
- самостоятельной работы	88	
в т.ч. индивидуальное задание		
Недельное количество часов,	10,3	
в т.ч. аудиторных	4	

### 3. ОПИСАНИЕ ДИСЦИПЛИНЫ

#### Цели и задачи

##### Цели:

- педагогическая – подготовка специалистов, способных на практике осуществлять поиск механизма ферментативного процесса, анализировать полученные кинетические и термодинамические экспериментальные данные в рамках теории ферментативного катализа, подбирать ферментные системы для решения технологических задач;
- методологическая – способствовать развитию умения создавать новые информационные модули, основываясь на те методы и подходы в изучении ферментативных процессов, которые изложены в курсе;
- воспитательная – способствовать пониманию ведения здорового образа жизни обучающимися, основываясь на механизме ингибирования ферментативной активности и неспособности отдельных молекулярных систем выполнять свои функции под действием вредных экзогенных факторов;
- дидактическая – усвоение знаний, предусмотренных программой, благодаря целенаправленному сотрудничеству преподавателя и студента.

##### Задачи:

- ✓ внедрить в терминологический аппарат студентов основные термодинамические и кинетические величины, которые используют для анализа ферментативных реакций;
- ✓ рассмотреть современные подходы для анализа кинетических схем одно- и двухсубстратных реакций, а также реакций протекающих в присутствии эффекторов;
- ✓ дать теоретическое обоснование основному уравнению ферментологии — уравнению Михаэлиса-Ментен, указать на приближения, которые используют при его выводе;
- ✓ научить решать прямую и обратную задачи ферментативной кинетики;
- ✓ развить умение устанавливать направление химических реакций в клетке, основываясь на термодинамических расчетах;
- ✓ научить определять основные параметры, характеризующие односубстратные ферментативные реакции ( $K_m$ ,  $V_{max}$ ,  $V_0$ ,  $k_1$ ,  $k_{-1}$ ,  $k_2$ ,  $[ES]_{st}$ ,  $[E]_{st}$ );
- ✓ научить подбирать метод расчета, имеющий минимальную ошибку при вычислении кинетического параметра ферментативной реакции;
- ✓ дать основные представления о кинетике оксидазных и оксигеназных ферментативных реакций; рассмотреть современные представления о механизме действия лакказы и других оксидаз;
- ✓ рассмотреть влияние температуры, pH, эффекторов на кинетические параметры ферментативных реакций катализируемых лакказами, рассмотреть круг субстратов используемых лакказой для четырехэлектронного восстановления молекулярного кислорода до воды, сравнить их реакционную способность.

**Требования к результатам освоения дисциплины:** процесс изучения дисциплины направлен на формирование элементов следующих компетенций в соответствии с ФГОС ВО РФ по данной специальности:

#### а) Универсальные компетенции:

- способен осуществлять критический анализ проблемных ситуаций на основе системного подхода, вырабатывать стратегию действий (УК-1);
- способен применять современные коммуникативные технологии, в том числе на иностранном(ых) языке(ах), для академического и профессионального взаимодействия (УК-4);

#### б) Общепрофессиональные компетенции:

- способен анализировать, интерпретировать и обобщать результаты экспериментальных и расчетно-теоретических работ химической направленности (ОПК-1);
- способен проводить химический эксперимент с использованием современного оборудования, соблюдая нормы техники безопасности (ОПК-2);

- способен планировать работы химической направленности, обрабатывать и интерпретировать полученные результаты с использованием теоретических знаний и практических навыков решения математических и физических задач (ОПК-4);
- способен использовать информационные базы данных и адаптировать существующие программные продукты для решения задач профессиональной деятельности с учетом основных требований информационной безопасности (ОПК-5);
- способен представлять результаты профессиональной деятельности в устной и письменной форме в соответствии с нормами и правилами, принятыми в профессиональном сообществе (ОПК-6);

#### **в) профессиональных компетенций (ПК):**

- способен проводить сбор, обработку, анализ и обобщение результатов экспериментов и исследований в различных областях химии, химической технологии и смежных наук (ПК-1);
- способен внедрять результаты исследований и разработок в соответствии с установленными полномочиями (ПК-3);
- способен проводить научные исследования, совершенствовать и разрабатывать теории и методы изучения химических процессов, осуществлять практическое применение полученных знаний и результатов в различных отраслях экономики (промышленности, сельском хозяйстве и др.), связанных с переработкой сырья, полуфабрикатов, промышленных отходов, получением и совершенствованием различных веществ, материалов, разработкой и улучшением технологических процессов (ПК-4);
- способен к проведению опытов, испытаний и анализов с целью изучения состава, строения, свойств и процессов превращений веществ, энергетических и химических изменений в различных натуральных или искусственных веществах, сырье и изделиях (ПК-5);
- способен на разработку методик проведения контроля качества для изготовителей и потребителей химической продукции (ПК-6);
- способен осуществлять научное руководство работами в соответствии с планом работы структурного подразделения, формировать их конечные цели и предполагаемые результаты (ПК-7);
- способен осуществлять контроль выполнения предусмотренных планом заданий, контроль качества проведения работ, выполненных работниками подразделения и соисполнителями (ПК-8);
- способен применять актуальную нормативную документацию в соответствующей области знаний (ПК-9).

#### **В результате изучения учебной дисциплины студент должен:**

**знать** основы кинетического анализа простых, сложных и ферментативных реакций, характеристические функции, которые используются для термодинамического анализа биохимических процессов; общие принципы ферментативного катализа, заимствования из теории гомогенного и гетерогенного катализа;

**уметь** определять кинетические параметры ферментативного процесса, оценивать самопроизвольность протекания биохимических реакций, анализировать кинетические схемы ферментативного процесса, предсказывать влияние эффекторов на активность энзима, рассчитывать стационарные концентрации интермедиатов в метаболическом процессе, подбирать оптимальный метод анализа ферментативных реакций;

**владеть** навыками работы с биологическим материалом; методами исследования ферментативной кинетики; подходами для решения задач по ферментологии, основываясь на принципе подобия.

#### 4. СОДЕРЖАНИЕ ДИСЦИПЛИНЫ И ФОРМЫ ОРГАНИЗАЦИИ УЧЕБНОГО ПРОЦЕССА

Порядковый номер и тема	Краткое содержание темы
<i>Содержательный модуль 1 Термодинамика ферментативных процессов</i>	
<b>Тема 1.</b>	Введение. Ферментология (энзимология) – составная часть молекулярной биологии. Роль химической термодинамики и кинетики в становлении и развитии ферментологии.
<b>Тема 2.</b>	Общие положения классической термодинамики. Предмет и общие понятия термодинамики: система, процесс, параметры и уравнения состояния. Энергия, теплота, работа. Внутренняя энергия, энтальпия, энтропия. Первый, второй и третий законы термодинамики. Характеристические функции Гиббса, Гельмгольца. Направление протекания спонтанных химических процессов. Несамопроизвольные химические процессы в клетке. Процессы динамического равновесия в биологических системах.
<b>Тема 3.</b>	Комбинирование равновесий и термодинамическое сопряжение в биохимических процессах. Макроэргические связи и роль нуклеозидтрифосфатов в биосистемах. Механизм субстратного и окислительного фосфорилирования. Стадийный термодинамический анализ сложных многостадийных метаболических процессов в клетке. Методы оценки эффективности функционирования отдельных метаболических путей (расчет КПД для гликолиза).
<b>Тема 4.</b>	Окислительно-восстановительные реакции в клетке. Механизмы ферментативных редокс-процессов. Стандартный химический и биохимический окислительно-восстановительные потенциалы (редокс-потенциалы). Уравнение Нернста. Влияние pH и температуры на редокс-потенциал. Использование стандартных редокс-потенциалов для проведения термодинамического анализа окислительных ферментативных реакций.
<i>Содержательный модуль 2 Основы классической теории кинетики ферментативных процессов. Кинетика ферментативных реакций в присутствии эффекторов. Кинетика ферментативного окисления фенольных соединений в присутствии лакказы.</i>	
<b>Тема 5.</b>	Основы классической теории кинетики ферментативных реакций. Гипотеза Анри. Фермент-субстратный комплекс. Принцип установленного равновесия. Модель Михаэлиса-Ментен. Применение принципа квазистационарных концентраций в модели Бриггса-Холдейна. Основные параметры уравнения Михаэлиса-Ментен: максимальная скорость, константа Михаэлиса и ее физический смысл.
<b>Тема 6</b>	Определение кинетических параметров ферментативной реакции с экспериментальными данными. Метод линеаризации Лайнуивера-Берка и его модификации. Применение теории графов к анализу кинетики ферментативных реакций.
<b>Тема 7.</b>	Кинетика ферментативных реакций в присутствии эффекторов (ингибиторов и активаторов). Кинетическая классификация эффекторов. Константа ингибирования. Схема действия обратимых эффекторов. Полное обратимое конкурентное ингибирование. Уравнение скорости в стационарном режиме. Кинетические признаки конкурентного ингибирования. Способы определения константы ингибирования. Метод Диксона.
<b>Тема 8.</b>	Полное обратимое неконкурентное ингибирование: уравнение скорости,

	кинетические признаки, определения констант ингибирования. Бесконкурентное ингибирование, его признаки и формально-кинетическое описание. Смешанные типы активации и ингибирования. Двухкомпонентное обратимое ингибирование. Обратимое конкурентное и неконкурентное ингибирование. Ингибирование и активация субстратом.
<b>Тема 9.</b>	Специальные методы формально-кинетического анализа сложных ферментативных процессов на основании принципов установленной равновесия и квазистационарности в условиях избытка и недостатка субстрата.
<b>Тема 10.</b>	Влияние температуры и кислотности среды на скорость ферментативных реакций. Эффективная константа скорости. Кинетическое описание процесса термической денатурации фермента. Определение констант диссоциации ионогенных групп по кинетическим данным.
<b>Тема 11.</b>	Оксидазные и оксигеназные ферментативные реакции в клетке. Краткая характеристика строения и свойств лакказ, биллирубиноксидазы, аскорбатоксидазы. Практическое применение лакказ и их иммобилизованных форм. Строение активного центра лакказы, термодинамическая характеристика медных кластеров активного центра. Отличия высоко- и низкопотенциальных лакказ, их субстратная селективность. Механизм ферментативного окисления многоатомных фенолов и четырехэлектронного восстановления кислорода. <i>(по результатам НИР 15-1ВВ/29 «Лакказо-медиаторные окислительные системы»)</i>
<b>Тема 12.</b>	Лакказо-медиаторные системы. Понятие медиатора и усилителя фермента. Известные на настоящий момент медиаторы лакказ, механизм их действия, требования к ним предъявляемые. Преимущества лакказо-медиаторных систем. Принципы поиска новых медиаторов. <i>(по результатам НИР 15-1ВВ/29 «Лакказо-медиаторные окислительные системы»)</i>

### Тематический план

Содержательный модуль 1												
Названия содержательных модулей и тем	Количество часов											
	Очная форма обучения						Заочная форма обучения					
	всего	В Т.Ч.					всего	В Т.Ч.				
		лекции	практические	лабораторные	самостоятельная работа	индивидуальная работа		лекции	практические	лабораторные	самостоятельная работа	индивидуальная работа
Тема 1. Основные понятия ферментологии	8	2	–	–	6	–						
Тема 2. Основные принципы классической термодинамики	10	2	–	–	8	–						
Тема 3. Термодинамичес- кий анализ биохимических реакций	14	4	–	2	8	–						

<i>Тема 4. Термодинамический анализ ферментативных реакций с использованием редокс-потенциалов</i>	12	2	–	2	8	–						
<b>Итого по содержательному модулю 1</b>	<b>44</b>	<b>10</b>	<b>–</b>	<b>4</b>	<b>30</b>	<b>–</b>						
<b>Содержательный модуль 2</b>												
<i>Тема 5. Кинетика ферментативных реакций</i>	14	4	–	4	6	–						
<i>Тема 6. Определение кинетических параметров уравнения Михаэлиса-Ментен</i>	18	4	–	4	10	–						
<i>Тема 7. Кинетика ферментативных реакций в присутствии эффекторов</i>	14	2	–	2	10	–						
<i>Тема 8. Ингибирование ферментативных реакций. Кинетический анализ</i>	12	2	–	4	6	–						
<i>Тема 9. Специальные методы кинетического анализа</i>	10	2	–	–	8	–						
<i>Тема 10. Влияние внешних факторов на кинетику ферментативной реакции</i>	12	2	–	4	6	–						
<i>Тема 11. Оксидазные и оксигеназные ферментативные реакции</i>	11	1	–	4	6	–						
<i>Тема 12. Лакказо-медиаторные системы</i>	9	1	–	2	6	–						
<b>Итого по содержательному модулю 2</b>	<b>100</b>	<b>18</b>	<b>–</b>	<b>24</b>	<b>58</b>	<b>–</b>						
<b>Всего часов по модулю</b>	<b>144</b>	<b>28</b>	<b>–</b>	<b>28</b>	<b>88</b>	<b>–</b>						

## 5. МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ЛЕКЦИОННЫХ, ПРАКТИЧЕСКИХ И ЛАБОРАТОРНЫХ ЗАНЯТИЙ

### ТЕМЫ ЛАБОРАТОРНЫХ РАБОТ

<b>№ п/п</b>	<b>Название темы</b>	<b>Количество часов</b>
1	<u>Лабораторная работа 1.</u> Инструктаж по охране труда и пожарной безопасности. Влияние pH среды на процесс	4



	ферментативного разложения крахмала под действием амилазы союны.	
2	<u>Лабораторная работа 2.</u> Определение кинетических параметров реакции ферментативного разложения пероксида водорода каталазой.	4
3	<u>Лабораторная работа 3.</u> Подготовка биоматериала и определение коэффициента экстинкции пара-бензохинона для исследования активности медьсодержащих оксидаз из дереворазрушающих макромицетов. (по результатам НИР 15-1ВВ/29 «Лакказо-медиаторные окислительные системы»)	4
4	<u>Лабораторная работа 4.</u> Устойчивость медьсодержащих ферментов макромицетов <i>Pleurotus ostreatus</i> и <i>Agaricus bisporus</i> при хранении. (по результатам НИР 15-1ВВ/29 «Лакказо-медиаторные окислительные системы»)	4
5	<u>Лабораторная работа 5.</u> Расчет кинетических параметров ферментативного процесса различными методами, сопоставление точности вычисления $V_{\max}$ и $K_m$ . (по результатам НИР 15-1ВВ/29 «Лакказо-медиаторные окислительные системы»)	4
6	<u>Лабораторная работа 6.</u> Сравнение эффективности действия фермента и гомогенного катализатора в реакции каталитического разложения пероксида водорода.	4
7	<u>Лабораторная работа 7.</u> Определение концентрации фермента в биоматериале с помощью кинетических методов. (по результатам НИР 15-1ВВ/29 «Лакказо-медиаторные окислительные системы»)	4
<b>ВСЕГО</b>		<b>28</b>

Темы практических занятий не предусмотрены программой.

### ТЕМЫ ЛЕКЦИОННЫХ ЗАНЯТИЙ

<b>№ п/п</b>	<b>Название темы</b>	<b>Количество часов</b>
1	Основные понятия ферментологии	2
2	Основные принципы классической термодинамики	2
3	Термодинамический анализ биохимических реакций	2
4	Термодинамический анализ ферментативных реакций с использованием редокс-потенциалов	2
5	Основные понятия формальной кинетики. Виды катализа, особенности ферментативного катализа	2
6	Кинетика ферментативных реакций	2
7	Определение кинетических параметров уравнения Михаэлиса-Ментен	2
8	Кинетика ферментативных реакций в присутствии эффекторов	2
9	Ингибирование ферментативных реакций. Кинетический анализ	2
10	Анализ ферментативной кинетики методом графов	2
11	Специальные методы кинетического анализа	2
12	Влияние внешних факторов на кинетику ферментативной реакции	2

13	<i>Оксидазные и оксигеназные ферментативные реакции</i>	2
14	<i>Лакказо-медиаторные системы</i>	2
<b>ВСЕГО</b>		<b>28</b>

## 6. МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ОРГАНИЗАЦИИ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ СТУДЕНТОВ

### ОРГАНИЗАЦИЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ СТУДЕНТОВ

<b>№ п/п</b>	<b>Название темы</b>	<b>Количество часов</b>
1.	Влияние ионной силы раствора на скорость реакции. Первичные и вторичные солевые эффекты.	8
2.	Влияние температуры на скорость химической реакции. Уравнение Аррениуса. Влияние температуры и pH на ферментативную активность.	6
3.	Отличия ферментов от катализаторов небелковой природы.	6
4.	Редокс-потенциал и методы его определения. Стандартный водородный электрод.	10
5.	Закон Гесса. Сумма теплоты сгорания и образования. Расчет теплового эффекта реакции.	10
6.	Изобарно-изотермический и изохорно-изотермический потенциал.	6
7.	Принципы кислотно-основного катализа.	6
8.	Виды ингибирования ферментативной активности.	8
9.	Определение кинетических параметров реакции лакказного окисления гидрохинона, метилгидрохинона и АБТС <i>(по результатам НИР 15-1ВВ/29 «Лакказо-медиаторные окислительные системы»)</i> .	6
10.	Кинетическое моделирование ферментативных реакций.	8
11.	Классификация ферментов, катализ реакций ферментами класса оксидаз и пероксидаз.	6
12.	Анализ сложных химических реакций с помощью метода квазистационарных концентраций.	8
<b>ВСЕГО</b>		<b>88</b>

Самостоятельная работа студентов предусматривает отработку теоретических положений прослушанного лекционного материала, подготовку к контрольным работам и другим формам текущего контроля, систематизация изученного материала, изучение тем или вопросов, предусмотренных для самостоятельной работы студентов.

#### Задачи для самостоятельного решения

- Фермент лакказы обладает высокой субстратной селективностью, катализируя окисление молекулярным кислородом гидрохинона, пирокатехина и галловой кислоты. В результате исследования кинетики расщепления субстратов при одинаковой концентрации фермента получены следующие значения констант уравнения Михаэлиса-Ментен:
  - для гидрохинона  $V_{\max}=2,0 \cdot 10^{-4}$  М/с,  $K_m=1,0 \cdot 10^{-4}$  М;
  - для пирокатехина  $V_{\max}=2,0 \cdot 10^{-2}$  М/с,  $K_m=5,0 \cdot 10^{-4}$  М;
  - для галловой кислоты  $V_{\max}=1,0 \cdot 10^{-4}$  М/с,  $K_m=3,0 \cdot 10^{-4}$  М.
 Какой из указанных субстратов лакказы окисляет наиболее эффективно?
- Установите, при каких концентрациях реагентов и продуктов процесс ферментативного окисления ацетальдегида в ацетат будет самопроизвольным, если коферментом является НАДФ<sup>+</sup>, стационарная концентрация ацетата равна  $1,0 \cdot 10^{-3}$  М, а  $t=37^\circ\text{C}$ .

3. Составьте уравнение для скорости реакции конкурентного ферментативного ингибирования, используя *метод графов*.
4. Объем сосуда, содержащего равновесную смесь  $\text{NO}_2$  и  $\text{N}_2\text{O}_4$   $P_{\text{NO}_2} = 0.6$  атм,  $P_{\text{N}_2\text{O}_4} = 0.4$  атм, был изотермически увеличен в двое. Каков будет количественный состав системы после установления равновесия?
5. Константа равновесия электролитической диссоциации *o*-бромбензойной кислоты равна  $1,4 \cdot 10^{-3}$ , а *n*-бромбензойной кислоты  $1,1 \cdot 10^{-4}$  моль/л при 25°C. Установите значение pH раствора, который содержит по 0,1 моль/л обеих кислот?

## 7. ИНДИВИДУАЛЬНАЯ РАБОТА

Индивидуальные задания не предусмотрены программой.

## 8. КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ К ПРОМЕЖУТОЧНОЙ АТТЕСТАЦИИ

- Основные положения классической термодинамики. Предмет и основные понятия термодинамики: система, процесс, параметры и уравнения состояния. Энергия теплота работа. Изолированные, открытые и закрытые системы.
- Внутренняя энергия. Первый закон термодинамики. Принцип эквивалентности. Обратимый и необратимый процессы. Энтальпия. Тепловые эффекты химических реакций.
- Второй закон термодинамики. Интеграл приведенных теплот. Энтропия термодинамические и статистические аспекты. Изменение энтропии в химической реакции.
- Характеристические функции Гиббса, Гельмгольца. Свободная энергия. Направление протекание спонтанных химических реакций. Несамостоявольные химические процессы в клетке. Химическое равновесие. Принцип Ле-Шателье-Брауна.
- Комбинирование равновесий и термодинамическое сопряжение в б/х процессах. Макроэргические связи и роль молекулы АТФ в биосистемах.
- Стандартный химический изобарно-изотермический потенциал и стандартный биохимический изобарно-изотермический потенциал.
- Расчет констант равновесия и свободной энергии Гиббса.
- Способы расчета свободной энергии Гиббса на основании принципа адитивности.
- Термодинамический анализ биохимических реакций.
- Значения стандартных редокс-потенциалов для анализа биохимических реакций.
- Общие представления о ферментах. Строение, структурная организация. Понятие активного и аллостерического центров.
- Общие черты, присущие ферментам и небелковым катализаторам.
- Высокая эффективность и специфичность действия ферментов. Виды специфичности. Теория Фишера и Кошланда.
- Способы регуляции ферментативной активности.
- Основные положения формальной кинетики. Основной постулат химической кинетики. Простые и сложные химические реакции.
- Основные понятия: скорость, константа скорости, порядок и молекулярность реакции. Кинетические уравнения и кривые.
- Необратимые элементарные реакции первого и второго порядков. Определение констант скорости и порядков реакции по экспериментальным данным.
- Влияние температуры на величину константы скорости реакции. Уравнение Аррениуса.
- Многостадийные химические процессы. Понятие о лимитирующей стадии многостадийного процесса. Принципы независимости и микрообратимости элементарных реакций, а также стационарности и квазистационарности Боденштейна-Семенова.
- Каталитические химические процессы. Понятия: катализатор, субстрат, активатор, ингибитор.
- Теория ферментативного катализа. Основные понятия. Заимствования теории ферментативного катализа из теорий гомогенного и гетерогенного катализа.

- Понятие фермент-субстратного комплекса. Принцип установившегося равновесия. Модель Михаэлиса-Ментен.
- Основные параметры уравнения Михаэлиса-Ментен: максимальная скорость, константа Михаэлиса и ее физический смысл.
- Определение кинетических параметров ферментативной реакции по экспериментальным данным. Метод линеаризации Лайнуивера-Берка и его модификации.
- Применение теории графов для анализа кинетики ферментативных реакций.
- Кислотный и основной катализ.

## 9. ОБРАЗЕЦ МОДУЛЬНОГО КОНТРОЛЯ (ОБРАЗЕЦ ВАРИАНТА И КРИТЕРИЙ ОЦЕНИВАНИЯ)

### ГОУ ВПО «ДОНЕЦКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Химический факультет

Специальность

**04.05.01 Фундаментальная и прикладная химия**

Программа специалитета:

**Фундаментальная и прикладная химия**

Программа подготовки:

**специалитет**

Семестр

**IX**

Учебная дисциплина

**Кинетика и термодинамика ферментативных процессов**

### МОДУЛЬНАЯ КОНТРОЛЬНАЯ РАБОТА ВАРИАНТ 1

- Особенности переноса энергии в биообъектах. Макроэргические молекулы организма. Механизмы субстратного и окислительного фосфорилирования. (15 баллов)
- Условия, ограничивающие применение уравнения Михаэлиса-Ментен для односубстратных ферментативных реакций: образование кинетически устойчивого фермент-субстратного комплекса, характеристика констант  $K_m$ ,  $K_s$ ,  $K_s'$ ,  $K_K$ . (10 баллов)
- Фермент лакказы обладает высокой субстратной селективностью, катализируя окисление молекулярным кислородом гидрохинона, пирокатехина и галловой кислоты. В результате исследования кинетики расходования субстратов при одинаковой концентрации фермента получены следующие значения констант уравнения Михаэлиса-Ментен:
  - для гидрохинона  $V_{max}=2,0 \cdot 10^{-4}$  М/с,  $K_m=1,0 \cdot 10^{-4}$  М;
  - для пирокатехина  $V_{max}=2,0 \cdot 10^{-2}$  М/с,  $K_m=5,0 \cdot 10^{-4}$  М;
  - для галловой кислоты  $V_{max}=1,0 \cdot 10^{-4}$  М/с,  $K_m=3,0 \cdot 10^{-4}$  М.
 Какой из указанных субстратов лакказы окисляет наиболее эффективно? (5 баллов)
- Определите  $V_{max}$  и  $K_m$  реакции ферментативного окисления резорцина, используя уравнение Лайнуивера-Берка. При окислении в тех же условиях гидрохинона имеем  $V_{max}=5,0$  мкМ/с и  $K_m=20$  мМ. По отношению к какому субстрату ферментативная активность выше? (10 баллов)

#### Критерии оценивания модульного контроля

Номер задания	Количество баллов
Задания 1	15
Задание 2	10
Задание 3	5
Задание 4	10
<b>Всего</b>	<b>40</b>

## 10. ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ВОПРОСЫ К ЭКЗАМЕНУ (ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ВОПРОСЫ К ЭКЗАМЕНУ, ОБРАЗЕЦ БИЛЕТА И КРИТЕРИЙ ОЦЕНИВАНИЯ)

### *Теоретические вопросы к экзамену*

1. Общие подходы к изучению химических и биохимических реакций. Термодинамический и кинетический подходы. Характеристика основных термодинамических и кинетических функций.
2. Отличие химических реакций от биохимических. Понятие катализ и катализатор. Краткая характеристика видов катализа.
3. Ферменты – природа, строение. Теория ферментативного катализа.
4. Связь между биохимической реакцией и классом ферментов. Специфичность действия ферментов, теории ее объясняющие. Общие черты и отличия, присущие ферментам и небелковым катализаторам.
5. Понятие скорости ферментативной реакции и активности ферментов. Параметры активности, которые используют на практике. Их размерность.
6. Влияние внешних факторов (температура, pH растворов, давление, ионная сила, примеси органических растворителей) на активность ферментов. Концепции, объясняющие влияние температуры и pH среды на ферментативную активность.
7. Регуляция ферментативной активности посредством концентрации субстрата, наличия кофактора и эффекторов.
8. Регуляции активности ферментов, реализуемая через геном, процессы ковалентной модификации, ограниченного протеолиза, через ассоциацию и диссоциацию олигомерных ферментов.
9. Основы ферментативной кинетики. Анализ схемы Бригса-Холдейна, вывод уравнения Михаэлиса-Ментен.
10. Уравнение Михаэлиса-Ментен, его основные параметры, их физический смысл. Частные варианты уравнения Михаэлиса-Ментен.
11. Методы линеаризации уравнения Михаэлиса-Ментен, вывод и использование уравнений Хейнса, Лайнуивера-Берка, Иди-Хофсти.
12. Основной постулат химической кинетики. Физический смысл входящих в него параметров. Использование основного постулата для сложных ферментативных реакций. Составление системы линейных дифференциальных уравнений для сложных биохимических реакций.
13. Дополнительные методы определения кинетических параметров уравнения Михаэлиса-Ментен: графический метод (Эйзенталя и Корниш-Бовдена), метод Диксона, установление стационарных концентраций фермент-субстратного комплекса и свободной концентрации фермента графическим методом.
14. Краткая характеристика условий ограничивающих выполнение уравнения Михаэлиса-Ментен. Условие образования устойчивого фермент-субстратного комплекса.
15. Природа констант в уравнении Михаэлиса-Ментен.
16. Влияние концентрации субстрата и продукта на основное уравнение ферментативной кинетики.
17. Простейший кинетический анализ двухсубстратных ферментативных реакций. Параллельное и последовательное связывание субстратов. Уравнение Хилла.
18. Ингибирование ферментативных реакций. Виды ингибирования. Использование ингибирования для установления механизма биохимических процессов.
19. Кинетический анализ необратимого ингибирования. Примеры данного вида ингибирования.
20. Кинетический анализ обратимого ферментативного ингибирования. Способы определения константы ингибирования, ее физический смысл.
21. Применение метода графов при анализе сложных ферментативных процессов.
22. Понятие термодинамики, что изучает. Характеристика клетки и организма как термодинамической системы. Характеристические функции, которые используют для термодинамических исследования биохимических систем.

23. Особенности переноса энергии в биообъектах. Условия, используемые организмом для получения работы. Условия, используемые при термодинамическом анализе биохимической системы.
24. Самопроизвольные и не самопроизвольные биохимические реакции. Условия самопроизвольности протекания процесса. Макроэргические молекулы и связи.
25. Перенос электронов в окислительно-восстановительных реакциях в клетке. Применение уравнения Нернста при анализе этих реакций.
26. Примеры расчета самопроизвольности протекания реакции при использовании стандартных биохимических термодинамических потенциалов.
27. Подходы, которые используют в биохимии при термодинамическом анализе биохимических систем.
28. Термодинамический анализ гликолиза.

### Образец экзаменационного билета

#### ГОУ ВПО «ДОНЕЦКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Химический факультет

Специальность:

**04.05.01 Фундаментальная и прикладная химия**

Программа специалитета:

**Фундаментальная и прикладная химия**

Программа подготовки:

**специалитет**

Семестр

**IX**

Учебная дисциплина

**Кинетика и термодинамика ферментативных процессов**

**БИЛЕТ № 1**

1. Особенности переноса энергии в биообъектах. Макроэргические молекулы организма. Механизмы субстратного и окислительного фосфорилирования. **(40 баллов)**
2. Условия, ограничивающие применение уравнения Михаэлиса-Ментен для односубстратных ферментативных реакций: образование кинетически устойчивого фермент-субстратного комплекса, характеристика констант  $K_m$ ,  $K_s$ ,  $K_s'$ ,  $K_K$ . **(30 баллов)**
3. Какое количество энергии (в кДж/моль) расходуется непродуктивно в реакции ферментативного образования АТФ из фосфоенолпирувата в стандартных условиях? **(30 баллов)**

Утверждено на заседании кафедры биохимии и органической химии

Протокол № \_\_\_\_\_ от „\_\_\_\_” \_\_\_\_\_ года

Зав. кафедрой \_\_\_\_\_

Экзаменатор \_\_\_\_\_

#### Критерии оценивания экзамена

Номер задания	Количество баллов
Задание 1	40
Задание 2	30
Задание 3	30
<b>Всего</b>	<b>100</b>

## 11. ОБРАЗЕЦ ТЕСТОВОГО ЗАДАНИЯ

1. Какие из указанных реакций идут по радикальному механизму:

<b>1:</b> хлорирование этана в газовой фазе на свету;	<b>2:</b> бромирование этилена в водной среде;	<b>3:</b> реакция гидратации ацетилен;	<b>4:</b> алкилирование бензола в присутствии $\text{FeCl}_3$ ;	<b>5:</b> окисление углеводородов в жидкой фазе в присутствии инициаторов;
<b>А:</b> 1, 2;	<b>Б:</b> 2, 3;	<b>В:</b> 3, 4, 5;	<b>Г:</b> 1;	<b>Д:</b> 1, 5.

2. Какие из перечисленных веществ используются в качестве инициаторов:

<b>1:</b> азометан;	<b>2:</b> азобензол;	<b>3:</b> перекись бензоила;	<b>4:</b> трихлорметан;	<b>5:</b> бензиловый спирт;
<b>А:</b> 1, 2;	<b>Б:</b> 2, 3;	<b>В:</b> 1, 3;	<b>Г:</b> 3, 5;	<b>Д:</b> 4.

3. Выберите реакции, которые относятся к стадиям обрыва цепи:

<b>1:</b> $\text{RO}_2 + \text{RO}_2 \longrightarrow 2\text{RO} + \text{O}_2$ ;	<b>2:</b> $\text{Cl}^\cdot + \text{CH}_4 \longrightarrow \text{CH}_3^\cdot + \text{HCl}$ ;	<b>3:</b> $\text{ROOR} \xrightarrow{t, ^0\text{C}} \text{RO}^\cdot + \text{RO}^\cdot$ ;
<b>4:</b> $\text{RO}_2 + \text{RH} \longrightarrow \text{ROOH} + \text{R}^\cdot$ ;	<b>5:</b> $\text{CH}_3\text{---}\dot{\text{C}}\text{H}_2 \longrightarrow \text{CH}_2\text{=CH}_2 + \text{H}^\cdot$ ;	<b>6:</b> ;

<b>А:</b> 1, 3, 4;	<b>Б:</b> 1, 2, 3, 5;	<b>В:</b> 1, 2, 3, 4;	<b>Г:</b> 2, 5;	<b>Д:</b> 1, 2, 3, 4.
--------------------	-----------------------	-----------------------	-----------------	-----------------------

4. Кто создал основы теории радикально-цепных процессов:

<b>А:</b> Меншуткин;	<b>Б:</b> Бах;	<b>В:</b> Семенов;	<b>Г:</b> Поляни;	<b>Д:</b> Уотсон.
----------------------	----------------	--------------------	-------------------	-------------------

5. Укажите последовательность протекания цепного процесса:

<b>1:</b> обрыв цепи;	<b>2:</b> образование активного радикального комплекса;	<b>3:</b> зарождение цепи;	<b>4:</b> развитие цепи;	<b>5:</b> разветвление;
<b>А:</b> 3, 4, 5, 1;	<b>Б:</b> 3, 2, 1;	<b>В:</b> 3, 4, 2, 1;	<b>Г:</b> 2, 3, 4, 5, 1;	<b>Д:</b> 1, 2, 3, 4, 5.

6. Катализ – это

<b>А:</b> явление изменения скорости химической реакции в присутствии веществ, состояние и количество которых после реакции остается неизменным;	<b>Б:</b> увеличение скорости химической реакции при нагревании;	<b>В:</b> процесс, протекающий с образованием активного интермедиата;	<b>Г:</b> ускорение реакции при введении в систему определенных веществ;	<b>Д:</b> явление снижения энергии активации реакции.
--	--	---	--	---

7. Как называется способность катализатора ускорять только одну реакцию (или группу реакций) и не влиять на скорость других реакций:

<b>А:</b> избирательность;	<b>Б:</b> селективность;	<b>В:</b> специфичность;	<b>Г:</b> автокатализ;	<b>Д:</b> каталитическая активность.
----------------------------	--------------------------	--------------------------	------------------------	--------------------------------------

8. Реакция  $\text{CH}_3\text{CHO}_{(г)} \rightarrow \text{CH}_{4(г)} + \text{CO}_{(г)}$ , протекающая в присутствии паров  $\text{I}_2$  является примером:

<b>А:</b> гомогенного катализа;	<b>Б:</b> гетерогенного катализа;	<b>В:</b> автокатализа;	<b>Г:</b> ферментативного катализа;	<b>Д:</b> некаталитического процесса.
---------------------------------	-----------------------------------	-------------------------	-------------------------------------	---------------------------------------

9. Какие из перечисленных утверждений верны:

<b>1:</b> катализатор часто снижает энергию активации;	<b>2:</b> катализатор не расходуется в ходе реакции;	<b>3:</b> катализатор обеспечивает самопроизвольное протекание тех процессов, у которых $\Delta G > 0$ ;	<b>4:</b> катализатор уменьшает величину константы равновесия для обратимых реакций;	<b>5:</b> катализатор ускоряет достижение равновесного состояния для обратимых процессов.
<b>А:</b> 2, 4, 5;	<b>Б:</b> 1, 2, 4, 5;	<b>В:</b> 1, 2, 5;	<b>Г:</b> 2, 3;	<b>Д:</b> все утверждения верны.

10. Укажите специфические особенности гетерогенного катализа:

<b>1:</b> промотирование	<b>2:</b> очень высокая специфичность;	<b>3:</b> зависимость активности катализатора от pH среды и температуры;	<b>4:</b> отравление катализатора;	<b>5:</b> чрезвычайно высокая активность.
<b>А:</b> 4;	<b>Б:</b> 1, 4;	<b>В:</b> 1, 3, 4;	<b>Г:</b> 2, 5;	<b>Д:</b> 1, 2.

## 12. КРИТЕРИИ ОЦЕНИВАНИЯ

По курсу предполагается проведение аттестации в виде модульного контроля, выполнение индивидуальной работы и экзамена. Экзамен сдают студенты с целью повышения рейтинга.

Распределение баллов, которые могут получить студенты  
в процессе изучения дисциплины

Организационно учебная работа студента	СРС			Всего
	Самостоятельная работа	Модульный контроль	Индивидуальная творческая работа	
Мах 35 баллов	мах 25 баллов	мах 40 баллов	мах ____ баллов	100 баллов
Подготовка вопросов и доклад на семинаре (по 5 баллов за выполнение, оформление и защиту лабораторной работы)	Выполнение индивидуальных заданий	Модульная контрольная работа		

### Шкала соответствия баллов национальной шкале

Оценка по шкале ECTS	Оценка по 100-балльной шкале	Оценка по государственной шкале (экзамен, дифференцированный зачет)	Оценка по государственной шкале (зачет)
A	90-100	5 (отлично)	зачтено
B	80-89	4 (хорошо)	зачтено
C	75-79	4 (хорошо)	зачтено
D	70-74	3 (удовлетворительно)	зачтено
E	60-69	3 (удовлетворительно)	зачтено
FX	35-59	2 (неудовлетворительно) с возможностью повторной сдачи	не зачтено
F	0-34	2 (неудовлетворительно) с возможностью повторной сдачи при условии обязательного набора дополнительных баллов	не зачтено

**100-90 баллов** – студент в полной мере владеет лекционным материалом, сдал контрольные работы, модульный контроль и защитил лабораторные работы на отлично, безошибочно отвечал на вопросы на экзамене.

**90-80 баллов** – студент демонстрирует высокое владение лекционным материалом, имеет высокую посещаемость, своевременно сдал контрольные работы и модульный контроль, а также защитил лабораторные работы с высоким баллом, отвечал на вопросы на экзамене с небольшим количеством неточностей;

**79-75 баллов** – студент имел высокую посещаемость, ориентируется в материале, своевременно сдал контрольные работы, модульный контроль и защитил лабораторные работы на положительные оценки, отвечал на вопросы на экзамене с небольшим количеством ошибок;

**74-70 баллов** – студент имел среднюю посещаемость и качество при сдаче модульного контроля, относительно неплохо ориентируется в материале, имеет низкие баллы за контрольные работы, отвечая на вопросы на экзамене допускал ошибки, плохо разбирается в общей теории ферментативного катализа;



**69-60 баллов** – студент имел среднюю посещаемость лекций и лабораторных занятий, посредственное качество знаний при сдаче контрольных работ, модульного контроля и защите лабораторных работ, плохо ориентируется в материале, отвечая на вопросы на экзамене допускал ошибки;

**менее 60 баллов** – студент не выполнил требования для получения минимального количества баллов, предусмотренных программой.

### 13. МАТЕРИАЛЬНО-ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ УЧЕБНОГО ПРОЦЕССА

Лекционные занятия проводятся в аудитории, с использованием мультимедийной техники и доски. Практические занятия проводятся в компьютерном классе, оборудованном компьютерами с лицензионным программным обеспечением, доступом к сети Интернет, столами, доской. Для проведения лабораторных работ используются СФ-2000, газовольюметрическая установка, КФК-2, иономер И-160М, центрифуга, термостаты, сушильный шкаф, электрические печи.

### 14. РЕКОМЕНДОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

№ п/п	Наименование	К-во экземпляров в библиотеке ДонНУ	Наличие электронной версии в ЭБС
<b>Основная литература</b>			
1	Одарюк И.Д. Кинетические методы исследования ферментных систем [Электронный ресурс] : учеб.-метод. пособие для специалистов специальности "Фундаментальная и прикладная химия"/ И.Д. Одарюк, В.С. Дорошкевич, О.В. Баранова ; Донецкий нац. ун-т. - Донецк : ДонНУ, 2020. – 105 с.	-	+
2	Биссвангер, Х. Практическая энзимология [Текст] = Practical Enzymology / Х. Биссвангер ; пер. с англ. Т. П. Масоловой ; с предисл. А. В. Левашова. - Москва : БИНОМ. Лаб. знаний, 2010. - 328 с. : ил. - (Методы в биологии).	1	-
3	Харламова, Т. С. Методы исследования каталитических свойств гетерогенных катализаторов [Электронный ресурс] : учебно-методическое пособие / Т. С. Харламова, О. В. Водянкина ; Национальный исследовательский Томский государственный университет. - Электронные текстовые данные. - Томск : Томский государственный университет, 2017. - Электронные данные (1 файл).	0	+
4	Ферменты: структура, механизм действия, модельные системы [Текст] : учеб.-метод. пособие для магистров и специалистов специальностей "Химия", "Биохимия", "Биология" всех форм обучения / [А. Ф. Попов и др.] ; Донецкий нац. ун-т. - Донецк : ДонНУ, 2012. - 65 с. : ил.	14	+
5	Попов, А. Ф. Структура и механизм действия ферментов [Текст] : учеб. пособие по спецкурсу "Молекулярная биохимия" : (для студентов специальности "Биохимия" всех форм обучения) / А.Ф.Попов, Н. Т. Малеева, О. В. Баранова ; Донецкий нац. ун-т, Хим. фак. - Донецк :	18	+

	ДонНУ, 2009. - 91 с. : ил.		
6	Тюрина, Т. Г. Катализ в органической химии. Кинетика каталитических реакций [Текст] : учебное пособие / Т. Г. Тюрина, М. А. Синельникова, С. Г. Бахтин ; ГОУ ВПО "Донецкий национальный университет", Кафедра биохимии и органической химии. - Донецк : ДонНУ, 2018. - 107 с. : ил.	1	+
<b>Дополнительная литература</b>			
7	Учебно-методическое пособие по курсу "Кинетические методы анализа" [Текст] : (для студентов специальности "Биохимия" 6.03.03.00 всех форм обучения) / [сост.: Л. В. Каниболоцкая, А. А. Федосеева, А. Н. Шендрик] ; Донец. нац. ун-т, хим. фак. - Донецк : ДонНУ, 2007. - 98 с.	24	+
8	Блюменфельд, Л. А. Решаемые и нерешаемые проблемы биологической физики / Л. А. Блюменфельд. - М. : УРСС, 2002. - 157, [1] с. : ил. ; 22.	1	-
9	Кнорре, Д. Г. Биологическая химия : Учеб. для студентов хим., биол. и мед. спец. вузов / Д. Г. Кнорре, С. Д. Мызина. - 3-е изд., испр. - М. : Высш. шк., 2002. - 479 с. : ил.	64	-
10	Байрамов, В. М. Химическая кинетика и катализ [Текст] : примеры и задачи с решениями : учебное пособие для студентов хим. фак. ун-тов, обучающихся по спец. 011000 "Химия" и направлению 510500 "Химия" / В. М. Байрамов. - Москва : Academia, 2003. - 316, [3] с. : ил. ; 22. - (Высшее образование).	35	-
11	Варфоломеев, С. Д. Химическая энзимология [Текст] : учеб. для студентов, обучающихся по специальности 011000 "Химия" и направлению 510500 "Химия" / С. Д. Варфоломеев. - Москва : Academia, 2005. - 471, [1] с. : ил. ; 22.	1	-
12	Беспалова, С. В. Математические модели биологических процессов : Учеб.-метод. пособие для студентов биофиз. спец. ун-та / С. В. Беспалова, А. А. Гусев ; Донец. гос. ун-т. - Донецк : ДонГУ, 2000. - 150 с.	11	-
13	Бахтин, С. Г. Катализ в органической химии. Кинетика каталитических реакций [Электронный ресурс] : учебное пособие / С. Г. Бахтин, Т. Г. Тюрина, М. А. Синельникова ; ГОУ ВПО "Донецкий национальный университет". - Электронные текстовые данные. - Донецк : ДонНУ, 2016. - Электронные данные (1 файл).	0	+

## 15. ИНФОРМАЦИОННЫЕ РЕСУРСЫ

<http://mondnr.ru/> – Министерство образования и науки Донецкой Народной Республики

<http://resobrnadzor.ru/> – Республиканская служба по контролю и надзору в сфере образования и науки

## 16. ПРОГРАММНОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ

1. *Windows 7 PRO* (корпоративная лицензия ДОННУ № 46484614)
2. *Microsoft Office* (корпоративная лицензия ДОННУ № 46472919)
3. *Microsoft Visual Studio* (лицензия программы *DreamSpark* для высших учебных заведений)
4. Лицензии *GPL*, *Apache*, *BSD* для свободного программного обеспечения: - Антивирус Касперского;- *Adobe Acrobat Reader*;- *xPDF*.

Рабочая программа рассмотрена и переутверждена на заседании кафедры биохимии и органической химии без изменений на \_\_\_\_\_ учебный год.

Протокол № \_\_ от “\_\_” \_\_\_\_\_ г.

**Зав. кафедрой**

**О.В. Баранова**