

Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Директор Інституту
академік НАН України



С.В. Комісаренко

« 07 » 2023 року

РОБОЧА ПРОГРАМА НАВЧАЛЬНОЇ ДИСЦИПЛІНИ

Кінетика та енергетика біохімічних процесів

Спеціальність: 091 Біологія та біохімія

Освітньо-наукова програма: 091 Біологія та біохімія

Освітній рівень: доктор філософії (PhD)

Статус дисципліни: дисципліна вибору Інституту (основна)

Мова викладання: українська

КИЇВ – 2023

Робоча програма дисципліни: «Кінетика та енергетика біохімічних процесів» для здобувачів вищої освіти ступеня доктора філософії (третього освітньо-наукового рівня) за спеціальністю 091 Біологія та біохімія, „11” 07, 2023 року.

Розробник:

Костерін Сергій Олексійович – академік НАН України, доктор біологічних наук, професор, завідувач відділу біохімії м’язів Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України.

Робоча програма дисципліни «Кінетика та енергетика біохімічних процесів» затверджена на засіданні Вченої ради Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України

Протокол № 7... від «11» 07 2023 року

Директор Інституту біохімії
ім. О.В. Палладіна НАН України
академік НАН України



[Handwritten signature]

С.В. Комісаренко

«11» 07 2023 року

1. Опис навчальної дисципліни

| Найменування показників | Галузь знань, напрям підготовки, освітньо-кваліфікаційний рівень | Характеристика навчальної дисципліни | |
|--|---|---|-----------------------|
| | | денна форма навчання | заочна форма навчання |
| Кількість кредитів – 1 | Галузь знань 09 Біологія (шифр і назва) | Дисципліна вибору Інституту (ДВІ.02) | |
| Модулів – 1 | Спеціальність (професійне спрямування): 091 – Біологія та біохімія | Рік підготовки: | |
| Змістових модулів – 2 | | 1-й | 1-й |
| Індивідуальне науково-дослідне завдання _____ | | Семестр | |
| (назва) | | | |
| Загальна кількість годин - 30 | | 1-й | 1-й |
| Тижневих годин для денної форми навчання: аудиторних – 30 | Освітньо-кваліфікаційний рівень: третій (доктор філософії) | Лекції | |
| | | 30 год. | 30 год. |
| | | Практичні, семінарські | |
| | | 0 год. | 0 год. |
| | | Лабораторні | |
| | | 0 год. | 0 год. |
| | | Самостійна робота | |
| | | 0 год. | 0 год. |
| Консультації: 0 год. | | | |
| Вид контролю: Іспит | | | |

Примітка.

Співвідношення кількості годин аудиторних занять до самостійної і індивідуальної роботи становить:

для денної форми навчання – 30/0

для заочної форми навчання – 30/0

2. Мета та завдання навчальної дисципліни

Мета дисципліни. Опанування аспірантами основними поняттями та теоретичними основами кінетики біохімічних процесів, методологічних та методичних підходів, що використовуються, зокрема, для вирішення теоретичних та практичних потреб ензимології та біотехнології.

Завдання

- Сформувати уявлення щодо теоретичних і практичних аспектів ідентифікації та характеристики різних ензиматичних та транспортних процесів, кінетики протікання метаболічних перетворень.
- Сформувати уявлення у аспірантів щодо наступного: найбільш цікаві проблеми сучасного природознавства локалізовані саме «на перехресті» наук та наукових напрямів, і їх вирішення потребує залучення методів, методологій, уявлень, бачень, що притаманні різним наукам. Саме ферментативна кінетика уособлює в собі «суперпозицію» різних наук та наукових напрямів – біохімії (преш за все - ензимології), молекулярної біології, термодинаміки та статистичної фізики, а також фізичної хімії та математики.
- Сформувати уявлення щодо кількісного оцінювання та характеристики біохімічних процесів.

Структура курсу В результаті вивчення навчальної дисципліни аспірант повинен

знати:

- Оперувати важливими поняттями ферментативної кінетики: швидкість та характеристичні константи (константа Міхаеліса, субстрат на константа, число обертів, константа рівноваги, оборотні ефектори, ефекторна константа) ферментативної реакції; енергія активації ензиматичного перетворення; механізм ферментативної реакції.
- Мати уявлення про фізико-хімічні основи та можливість застосування, при проведенні наукового пошуку у галузі біохімічних досліджень, головних законів динамічної фізичної хімії.

вміти:

- В умовах досліджень планувати експерименти у галузі ензимології (так звана «логіка кінетичного аналізу у біохімічному експерименті»).
- Використовуючи комп'ютерні програми проводити первинну статистичну та графічну обробку кількісних експериментальних даних у галузі ензимології.
- Застосовувати методи біохімічної кінетики при вивченні властивостей мембранозв'язаних катіон-транспортних ензимів.
- В умовах експерименту коректно використовувати оборотні ефектори (активатори, інгібітори) у біохімічному (ензимологічному) дослідженні.
- Аналізувати та «будувати» нескладні математичні моделі ферментативних реакцій.

Місце дисципліни (в структурно-логічній схемі підготовки фахівців відповідного напрямку). Дисципліна " Кінетика та енергетика біохімічних процесів " є базовою дисципліною для вивчення динамічних закономірностей метаболічних перетворень. Її місце у системі інших біологічних дисциплін визначається тим, що з'ясування найбільш важливих проблем сучасної біології в нормі та за паталогічних станів пов'язано саме із дослідженням розвитку різноманітних біологічних та фізико-хімічних процесів, що реалізуються в живих системах, у часі.

Зв'язок з іншими дисциплінами.

Основою для вивчення дисципліни «Кінетика та енергетика біохімічних процесів» є, звичайно, нормативний курс «Біохімія». Втім, передумовою вивчення зазначеної дисципліни є знання аспірантів у галузі фізіології, фізичної хімії та біомембранології. У подальшому знання дисципліни та відповідні вміння будуть використовуватися для дисциплін, пов'язаних з різними рівнями організації живого - «Біофізика», «Біотехнологія», «Молекулярна біологія».

3. Програма навчальної дисципліни

Змістовий модуль 1. «Методи кінетичного аналізу хімічних та біохімічних процесів».

Тема 1. Предмет, задачі біологічної кінетики. Основні принципи хімічної кінетики.

Ензими – специфічні білки, які каналізують певні хімічні реакції, що відбуваються в живих тілах і лежить в основі їх життєдіяльності. Термодинамічні аспекти дії ензимів як каталізаторів. Специфіка ензимів як білкових каталізаторів. Структура і властивості ензимів. Загальні принципи хімічної кінетики. Дія ензимів та хімічна рівновага реакції. Логіка кінетичного аналізу у біохімії.

Тема 2. Методи феноменологічного аналізу кінетичних кривих.

Кінетична крива, її характеристичні параметри. Хімічні реакції 1-го, 2-го та більш високих порядків. Метод ітеративної лінеаризації.

Тема 3. Кінетичні закономірності зв'язування лігандів білками та біомембранами. Кінетична теорія елементарного ензиматичного (транспортного) акту. Рівняння Міхаеліса-Ментен.

Загальні закономірності зв'язування лігандів з білками і біомембранами. Графіки Скетчарда. Спорідненість ліганда до рецептора. Аналіз рівняння Міхаеліса-Ментен. Константа Міхаеліса, субстрат на константа та максимальна швидкість ензиматичної реакції.

Тема 4. Методи визначення константи Міхаеліса, субстратної константи та максимальної швидкості ензиматичної реакції (транспортного процесу).

Диференціальні методи визначення K_m та $V_{0,max}$. Інтегралі методи визначення K_m та $V_{0,max}$. Визначення субстратної константи K_s .

Змістовий модуль 2. «Кінетичні закономірності дії оборотних ефекторів на ферменти/транспортні системи. Енергетика ферментативних реакцій».

Тема 5. Кінетичні закономірності дії мембранозв'язаних та транспортних ензимів. Кінетика пасивного та активного мембранного транспорту.

Особливості кінетичної поведінки мембранозв'язаних та транспортних ензимів. Кінетичні закономірності енергонезалежного транспорту речовин. Кінетичні закономірності енергозалежного транспорту речовин.

Тема 6. Енергетика ензиматичних та транспортних процесів. Методи розрахунку енергії активації ферментативних процесів. Термодинаміка конфірмаційних переходів в активному центрі ферментів

Енергетичні закономірності протікання ензиматичних реакцій. Константа рівноваги та енергетика оборотної ензиматичної реакції. Термодинаміка енергонезалежного транспорту речовин. Метод Ареніуса розрахунку енергії активації ензиматичних реакцій. Метод Вант-Гоффа розрахунку енергії активації ензиматичних реакцій. Зміна вільної енергії Гіббса, ентальпії та ентропії у температурній точці конфірмаційного переходу.

Тема 7. Вплив протонів на ензиматичну активність. рН-функції Міхаеліса.

Уявлення про активний центр ензиму як іонізаційну систему. Іонізаційні групи та рК іонізації. Рівняння Міхаеліса-Ментен у випадку ензиму, який містить іонізаційні групи. рН-функції Міхаеліса.

Тема 8. Методи розрахунку констант іонізації амінокислотних залишків центру зв'язування субстрату та активного центру ферменту.

Кінетичне тлумачення рН-оптимуму ферментативної активності. Методи розрахунку констант іонізації хімічних груп, що містяться в центрі зв'язування субстрату та в активному центрі ензиму.

4. Структура навчальної дисципліни

| Назви змістових модулів і тем | Кількість годин | | | | | | | | | | | |
|--|-----------------|--------------|---|-----|-----|------|--------------|--------------|----|-----|-----|------|
| | денна форма | | | | | | Заочна форма | | | | | |
| | усього | у тому числі | | | | | усього | у тому числі | | | | |
| | | л | п | лаб | інд | с.р. | | л | п | лаб | інд | с.р. |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |
| Модуль 1 | | | | | | | | | | | | |
| Змістовий модуль 1. Методи кінетичного аналізу хімічних та біохімічних процесів | | | | | | | | | | | | |
| Тема 1. Предмет, задачі біологічної кінетики. Основні принципи хімічної кінетики | 3 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Тема 2. Методи феноменологічного аналізу кінетичних кривих | 3 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Тема 3. Кінетичні закономірності зв'язування лігандів білками та біомембранами. | 4 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |

| | | | | | | | | | | | | |
|---|----|----|---|---|---|---|----|----|---|---|---|---|
| Кінетична теорія елементарного ензиматичного (транспортного) акту. Рівняння Міхаеліса-Ментен | | | | | | | | | | | | |
| Тема 4. Методи визначення константи Міхаеліса, субстратної константи та максимальної швидкості ензиматичної реакції (транспортного процесу) | 4 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Разом за змістовим модулем 1 | 14 | 14 | 0 | 0 | 0 | 0 | 14 | 14 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Змістовий модуль 2. Кінетичні закономірності дії оборотних ефекторів на ферментативні/транспортні системи. Енергетика ферментативних реакцій | | | | | | | | | | | | |
| Тема 5. Кінетичні закономірності дії мембранозв'язаних та транспортних ензимів. Кінетика пасивного та активного мембранного транспорту | 4 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Тема 6. Енергетика ензиматичних та транспортних процесів. Методи розрахунку енергії активації ферментативних процесів. Термодинаміка конфірмаційних | 4 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |

| | | | | | | | | | | | | |
|--|----|----|---|---|---|---|----|----|---|---|---|---|
| переходів в активному центрі ферментів | | | | | | | | | | | | |
| Тема 7. Вплив протонів на ензиматичну активність. рН-функції Міхаеліса | 4 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Тема 8. Методи розрахунку констант іонізації амінокислотних залишків центру зв'язування субстрату та активного центру ферменту | 4 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Разом за змістовим модулем 2 | 16 | 16 | 0 | 0 | 0 | 0 | 16 | 16 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Усього годин | | 30 | 0 | 0 | 0 | 0 | | 30 | 0 | 0 | 0 | 0 |

5. Методи навчання

Лекції та підсумкові заняття. Використання дистанційного навчання – з залученням аспірантів до освітніх ресурсів та міжнародновизначених курсів.

6. Методи контролю

Питання до підсумкового контролю:

1. Початкова швидкість хімічної та ензиматичної реакції.
2. Константа швидкості, константа рівноваги, порядок хімічної реакції.
3. Кінетична ідентифікація хімічної реакції нульового порядку.
4. Кінетична ідентифікація хімічної реакції першого порядку.
5. Кінетична ідентифікація хімічної реакції другого порядку.
6. Методи розрахунку константи швидкості хімічних реакцій..
7. Методи емпіричного аналізу складних кінетичних кривих в хімічній та біохімічній кінетиці.
8. Графіки Скетчарда для гомо – та гетерогенних біохімічних систем.
9. Кінетична теорія елементарного ензиматичного (транспортного) акту в рівноважному та стаціонарному наближенні.
10. Рівняння Міхаеліса-Ментен.

11. Максимальна початкова швидкість, константа Міхаеліса та субстратна константа ензимологічної реакції.
12. Диференціальні методи визначення максимальної початкової швидкості та константи Міхаеліса ензимологічної реакції.
13. Інтегральні методи визначення максимальної початкової швидкості та константи Міхаеліса ензимологічної реакції.
14. Метод Слейтера визначення субстратної константи ензимологічної реакції.
15. Кінетична теорія дії оборотних ефекторів на ензиматичну (транспортну) активність білків. Коефіцієнти модифікації.
16. Теоретичні основи повного конкурентного інгібування в ензимології.
17. Теоретичні основи повного неконкурентного інгібування в ензимології.
18. Коефіцієнт інгібування в ензиматичному каталізі. Використання цього коефіцієнту з метою розрахунку константи інгібування.
19. Методи розрахунку енергії активації в ензиматичному каталізі.
20. Термодинаміка конформаційних переходів в активному центрі ензиму.
21. Неміхаелісова кінетика. Рівняння Хілла..
22. Теорія Бресткіна у випадку субстратного інгібування в ензимології.
23. Вплив концентрації протонів на ензиматичну активність. Глумачення рН-оптимуму ензиматичної реакції в термінах штрихових констант іонізації. рН-функції Міхаеліса та їх використання для тестування хімічної топографії активного та субстрат-зв'язуючого центрів ензиму.
24. Кінетичні закономірності протікання транспортних процесів..
25. Сучасні методи кінетичного аналізу в фізико-хімічній біології.

7. Розподіл балів, які отримують студенти

| Поточне тестування та самостійна робота | | | | | | | | Підсумковий тест (екзамен) | Сума |
|---|----|----|----|--------------------|----|----|----|----------------------------|------|
| Змістовий модуль 1 | | | | Змістовий модуль 2 | | | | 40 | 100 |
| T1 | T2 | T3 | T4 | T5 | T6 | T7 | T8 | | |
| 5 | 5 | 10 | 10 | 5 | 5 | 10 | 10 | | |

T1, T2 ... T12 – теми змістових модулів.

Шкала оцінювання: національна та ECTS

| Сума балів за всі види навчальної діяльності | Оцінка ECTS | Оцінка за національною шкалою | |
|--|-------------|--|------------|
| | | для екзамену, курсового проекту (роботи), практики | для заліку |
| 90 – 100 | A | відмінно | зараховано |
| 82-89 | B | добре | |
| 74-81 | C | | |

| | | | |
|-------|-----------|--|--|
| 64-73 | D | задовільно | |
| 60-63 | E | | |
| 35-59 | FX | незадовільно з можливістю повторного складання | не зараховано з можливістю повторного складання |
| 0-34 | F | незадовільно з обов'язковим повторним вивченням дисципліни | не зараховано з обов'язковим повторним вивченням дисципліни |

Контроль знань і розподіл балів, які отримують студенти.

Контроль здійснюється за модульно-рейтинговою системою.

У змістовий модуль 1 (ЗМ1) входять теми 1-4, у змістовий модуль 2 (ЗМ2) – теми 5-8. Обов'язковим для допуску до іспиту є отримання 40 балів (критичний мінімум).

8. Компетентності, яких аспірант набуває в процесі вивчення дисципліни

| | |
|---|---|
| Інтегральна компетентність | Здатність розв'язувати комплексні завдання в галузі біології у процесі проведення дослідницько-інноваційної діяльності, що передбачає переосмислення наявних та створення нових цілісних знань, оволодіння методологією наукової та науково-педагогічної діяльності, проведення самостійного наукового дослідження, результати якого мають наукову новизну, теоретичне та практичне значення і інтегруються у світовий науковий простір через публікації. |
| Загальні компетентності | ЗК01. База знань. Знання та розуміння предметної області та розуміння професійної діяльності ЗК02. Інтегрованість. Здатність працювати в міжнародному контексті ЗК03. Керування проектами. Здатність розробляти та управляти науковими проектами ЗК05. Критичність. Здатність оцінювати та забезпечувати якість виконуваних робіт |
| Спеціальні (фахові, предметні) компетентності (СК) | СК01. Самостійність. Здатність планувати і здійснювати комплексні оригінальні дослідження, досягати наукових результатів, які створюють нові знання у біології та дотичних до неї міждисциплінарних напрямках і можуть бути опубліковані у наукових виданнях з біології та суміжних галузей. СК05. Наукове мислення. Здатність виявляти, формулювати та вирішувати проблеми дослідницького характеру в галузі біології, оцінювати та забезпечувати якість досліджень, які проводять. |

| | |
|--|--|
| | <p>СК06. Ініціативність. Здатність ініціювати, розробляти і реалізовувати комплексні інноваційні проекти в біології та дотичні до неї міждисциплінарні проекти.</p> <p>СК07. Етичність. Здатність дотримуватись етики досліджень, а також правил академічної доброчесності в наукових дослідженнях та науково-педагогічній діяльності.</p> <p>СК08. Систематичність. Здатність сформулювати системний науковий світогляд та загальнокультурний кругозір.</p> |
|--|--|

10. Програмні результати навчання

РН01. Мати концептуальні та методологічні знання з біології і на межі предметних галузей, а також дослідницькі навички, достатні для проведення наукових і прикладних досліджень на рівні світових досягнень з відповідного напрямку, отримання нових знань та/або здійснення інновацій.

РН03. Формулювати і перевіряти гіпотези; використовувати для обґрунтування висновків належні докази, зокрема, результати аналізу джерел літератури, експериментальних досліджень (опитувань, спостережень, експерименту) і математичного та/або комп'ютерного моделювання.

РН05. Знати праці провідних зарубіжних вчених, наукові школи та фундаментальні праці у галузі дослідження, формулювати мету власного наукового дослідження.

РН08. Планувати і виконувати експериментальні та/або теоретичні дослідження з біології та дотичних міждисциплінарних напрямів з використанням сучасного інструментарію, критично аналізувати результати власних досліджень і результати інших дослідників у контексті всього комплексу сучасних знань щодо досліджуваної проблеми.

РН11. Розробляти та реалізовувати наукові та/або інноваційні проекти, які дають можливість переосмислити наявне та створити нове цілісне знання та/або професійну практику і розв'язувати важливі теоретичні та практичні проблеми біології з дотриманням норм академічної етики і врахуванням соціальних, економічних, екологічних та правових аспектів.

11. Рекомендована література

Базова

1. Srinivasan, Bharath (27 September 2020). "Words of advice: teaching enzyme kinetics". *The FEBS Journal: febs.15537*. doi:10.1111/febs.15537. ISSN 1742-464X. PMID 32981225.
2. Fromm H.J., Hargrove M.S. (2012) Enzyme Kinetics. In: Essentials of Biochemistry. Springer, Berlin, Heidelberg.
3. Cleland WW, Cook P (2007). Enzyme kinetics and mechanism. New York: Garland Science. ISBN 978-0-8153-4140-6.
4. Келети Т. Основы ферментативной кинетики. М., Мир, 1990, 348 с.
5. Корниш-Боуден Э. Основы ферментативной кинетики. М., Мир, 1979, 280 с.

6. Березин И.В., Клёсов А.А. Практический курс химической и ферментативной кинетики. М., изд. МГУ, 1976, 320 с.

7. Костерін С.О., Карахім С.О. Біохімічна кінетика. Киев, «Наукова Думка», 2021, 400 с.

Допоміжна

1. Диксон М., Уэбб Э. Ферменты. Том 1, М., Мир. 1982

2. Костерін С.О. Коефіцієнт інгібування I_{50} та його використання у фізико-хімічній біології. Укр. біохім. ж. Т.71, №2, 1999, С. 100-103.

Електронні мережі

Animation of an enzyme assay — Shows effects of manipulating assay conditions

- MACiE — A database of enzyme reaction mechanisms
- ENZYME — Expaty enzyme nomenclature database
- ENZO — Web application for easy construction and quick testing of kinetic models of enzyme catalyzed reactions.
- ExCatDB — A database of enzyme catalytic mechanisms
- BRENDA — Comprehensive enzyme database, giving substrates, inhibitors and reaction diagrams
- SABIO-RK — A database of reaction kinetics
- Joseph Kraut's Research Group, University of California San Diego — Animations of several enzyme reaction mechanisms
- Symbolism and Terminology in Enzyme Kinetics — A comprehensive explanation of concepts and terminology in enzyme kinetics
- An introduction to enzyme kinetics — An accessible set of on-line tutorials on enzyme kinetics
- Enzyme kinetics animated tutorial— An animated tutorial with audio