

# Программа вступительного экзамена в аспирантуру по физической химии и ферментативному катализу

## I. Термодинамика

1. Основные понятия феноменологической термодинамики. Термодинамические свойства системы. Интенсивные и экстенсивные величины. Функции состояния и уравнения состояния.
2. Первый закон термодинамики. Внутренняя энергия, энтальпия. Теплоемкости. Закон Гесса, Уравнение Кирхгофа.
3. Второй закон термодинамики. Обратимые и необратимые процессы.
4. Неравенство Клаузиуса. Энергия Гельмгольца. Термодинамические потенциалы и характеристические функции. Фундаментальное уравнение Гиббса и Уравнение Гиббса-Гельмгольца.
5. Третий закон термодинамики, теорема Нернста, постулат Планка. Стандартные термодинамические функции вещества.
6. Критерии термодинамического равновесия систем и самопроизвольности протекания процессов. Фазовые и химические равновесия.
7. Растворы. Парциальные термодинамические величины. Химический потенциал. Уравнение Гиббса-Дюгема. Летучесть и активность. Закон действующих масс и константа равновесия. Уравнения изотермы, изобары и изохоры химической реакции.
8. Гетерогенные системы. Правило фаз Гиббса. Уравнение Клайперона -Клаузиуса. Диаграммы состояния. Химические реакции в гетерогенных системах.
9. Термодинамика поверхностных явлений. Адсорбция. Изотермы адсорбции Гиббса и Лэнгмюра.
10. Термодинамика электрохимических систем. Электрохимический потенциал и условия равновесия. ЭДС электрохимического элемента, электродный потенциал, уравнение Нернста.

## II. Химическая кинетика и катализ

1. Основные понятия феноменологической кинетики: простые и сложные реакции, молекулярность и скорость реакции. Кинетический закон действия масс, константа скорости.
2. Способы определения скорости реакции. Кинетические уравнения для простых реакций. Порядок реакции способ его определения.
3. Сложные химические реакции. Квазистационарное приближение, метод Боденштейна. Кинетические уравнения для обратимых, последовательных и параллельных реакций. Цепные реакции.
4. Зависимость скорости реакции от температуры. Уравнение Аррениуса, энергия активации, способы ее определения.
5. Теория активных столкновений, расчет константы скорости бимолекулярной реакции. Мономолекулярные реакции, схема Линдемана.

6. Теория активированного комплекса. Поверхность потенциальной энергии. Расчет констант скорости.
7. Феноменология катализа. Теория промежуточных соединений. Принцип энергетического соответствия. Катализ и равновесие.
8. Механизм кислотно-основного гомогенного катализа. Влияние растворителя. Кинетика гомогенно-каталитических реакций. Роль процессов переноса.

### **III. Ферментативная кинетика**

1. Кинетика двухстадийных ферментативных реакций. Метод стационарных концентраций. Реакции в квазиравновесном режиме.
2. Ингибирование ферментативных реакций. Типы ингибирования. Методы обработки экспериментальных данных.
3. Активация двухстадийной ферментативной реакции. Анализ кинетических данных.
4. Субстратное ингибирование (полное и неполное) ферментативных реакций.
5. Кинетические особенности ферментативных реакций в условиях избытка субстрата, избытка фермента, сравнимых по величине концентраций субстрата и фермента.
6. Методы двухкомпонентного ингибирования ферментативных реакций.
7. Стационарная кинетика трехстадийных ферментативных реакций. Основные методы определения констант скоростей промежуточных реакций
8. Интегральные формы уравнений ферментативной кинетики. Основные методы обработки полной кинетической кривой.
9. Ингибирование фермента продуктом реакции.
10. Предстационарная кинетика двухстадийной ферментативной реакции.
11. Предстационарная кинетика трехстадийной ферментативной реакции. Определение концентрации активных центров фермента.
12. pH-Зависимость двухстадийной реакции. Ионизация фермента или субстрата.
13. pH-Зависимость трехстадийной реакции.
14. Определение концентрации активных центров фермента из кинетических данных.
15. Влияние температуры на кинетику ферментативных реакций. Энтальпия и энтропия активации.
16. Применение метода Диксона к анализу нетривиальных типов ингибирования. Кинетический метод двухкомпонентного обратимого ингибирования ферментативных реакций.
17. Смешанные типы ингибирования и активации. Определение констант ингибирования и активации из кинетических данных.
18. Полное и неполное ингибирование фермента субстратом. Кинетический анализ субстратного ингибирования.
19. Нахождение значений  $pK_a$  по кривым зависимостей ферментативных реакций. Анализ несимметричных колоколообразных кривых pH-зависимости.

20. Методы определения кинетических параметров ферментативной реакции с использованием полной кинетической кривой. Инактивация фермента в ходе реакции, влияние субстрата на скорость инактивации субстрата.

#### **IV. Принципы ферментативного катализа**

1. Белки как биокатализаторы. Типы гомогенного катализа. Сближение и ориентация, кислотно-основной, электрофильный и нуклеофильный. Сравнение ферментов с органическими катализаторами гомогенного типа (эффективность действия, специфичность и стереоспецифичность, регуляторные свойства ферментов). Аминокислоты, их кислотно-основные свойства, полярность, гидрофобность и гидрофильность (параметр Ганша).
2. Механизм сорбции молекул и ионов на активном центре. Водородная связь, электростатические взаимодействия, гидрофобные взаимодействия. Комплексы с переносом заряда и оценка их вклада в сорбцию субстрата на ферменте, конформационные изменения в структуре белка и лиганда, сопровождающие сорбцию. Оценка свободной энергии сорбции (экстракционная и экстракционно-конформационная модели).
3. Свободная энергия сорбции субстрата на ферменте как источник ускорения химической реакции. Профили “свободная энергия – координата реакции”. Оценка масштабов величины свободной энергии сближения реагентов. Сравнение скорости и свободной энергии ферментативной и неферментативной реакции. Модель “ключ-замок”. Специфическое, продуктивное и непродуктивное связывание субстрата и фермента. Механизм сближения и ориентации в ферментативном катализе. Теория напряжения (или деформации) и индуцированного соответствия (Кошланд).
4. Химические механизмы ферментативных реакций. Стабилизация переходного состояния общим кислотно-основным катализом. Примеры кислотно-основного катализа различными функциональными группами в белках (карбоксыльная группа, аминогруппа, амидная группа, имидазол, гидроксильная группа). Механизмы эстафетной передачи заряда и “push-pull”. Промежуточные ковалентные соединения в ферментативном катализе. Эффекты микросреды активного центра. Влияние растворителя на реакции нуклеофильного замещения. Внутренняя реакционная способность функциональных групп в белках.
5. Роль ионов металлов в ферментативном катализе. Взаимосвязь координационного числа, геометрии комплекса, примеры комплексов металлов с различной геометрией в биологических системах. Устойчивость комплексов, влияние на нее заряда и размера иона, “жесткости” и “мягкости” центрального атома и лиганда, основности лиганда, хелатного и макроциклического эффектов. Комплексообразование ионов металлов с белками. Механизмы взаимодействия фермента, иона металла и лиганда. Химические механизмы участия ионов металлов в ферментативном катализе. Окислительно-восстановительные реакции с участием ионов металлов и их роль в биологических процессах.

## VI. Структура активных центров и механизмы действия ферментов

1. Классы ферментов. Номер фермента. Примеры катализируемых реакций.
2. Основные функциональные группы активных центров ферментов. Примеры.
3. Связывание субстрата в активном центре фермента. Основные группы активного центра участвующие в связывании. Основные типы и примеры взаимодействий фермента и субстрата.
4. Кофакторы, коферменты и простетические группы ферментов. Коферменты. Окислительно-восстановительные коферменты. NAD, FAD, кобаламины и кобаламиды (витамин B<sub>12</sub>), аскорбиновая кислота, ферридокин, (структура и механизм действия. Коферменты, не обладающие окислительно-восстановительными свойствами, тиаминпирофосфат, пиридоксальфосфат, тетрагидрофолиевая кислота, биотин, кофермент А (структура и механизм действия. Примеры.
5. Роль ионов металлов в катализе. Примеры.
6. Гидролазы. Особенности структуры активного центра и механизм действия  $\alpha$ -химотрипсина.
7. Гидролазы. Особенности строения активных центров и, сходные черты и различия в катализе  $\alpha$ -химотрипсином, трипсином и эластазой.
8.  $\alpha$ -Химотрипсин. Особенности взаимодействий в фермент-субстратном комплексе и переходном состоянии.
9. Клеточная стенка бактерий и гликозидазы. Лизоцим. Группы активного центра. Особенности механизма действия.
10. Кислые протеазы на примере пепсина. Особенности строения активного центра и механизма действия.
11. Тиоловые протеазы на примере папаина, особенности строения активного центра и механизма действия.
12. Особенности строения активного центра карбоксипептидазы А, альтернативные механизмы действия фермент.
13. Рибонуклеаза: основные группы активного центра, типы катализа.
14. Специфичность ферментов групповая, абсолютная, стереоспецифичность. Примеры.
15. Гем-содержащие белки и ферменты. Особенности строения. Основные окислительные состояния железа гема.
16. Гем-содержащие белки и ферменты. Гемоглобин и миоглобин, особенности строения и функции.
17. Гем-содержащие ферменты на примере пероксидаз особенности структуры, механизм расщепления пероксида водорода в активном центра.
18. Ионы металлов в катализе. Карбоангидразы: особенности строения активного центра (рН-зависимости рК групп, участвующих в катализе), механизм действия.
19. NAD<sup>+</sup>-зависимые ферменты, особенности строения кофермента, перенос гидрид-иона. Пример катализируемой ферментом реакции с участием NAD<sup>+</sup>(NADH).
20. Структура активного центра и механизм действия алкогольдегидрогензы.

21. Особенности взаимодействия с субстратом и механизм действия лактатдегидрогеназы.
22. Флавопротеины. Особенности строения FMN и FAD, Участие в катализе глутатионпероксидазой.
23. Тиаминпироофат: особенности строения, участие в катализе на примере пируватдекарбоксилазы.
24. Пиридоксальфосфат: особенности строения, участие в катализе на примере рацемазы аминокислот.
25. Пиридоксальфосфат: особенности строения, образование и роль оснований Шиффа (на примере реакции, катализируемой аминотрансферазой).