

Минобрнауки России

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования

«Оренбургский государственный университет»

Кафедра биохимии и микробиологии

РАБОЧАЯ ПРОГРАММА

ДИСЦИПЛИНЫ

«Б.1.В.ОД.7 Основы строения и кинетики ферментов в биологических системах»

Уровень высшего образования

БАКАЛАВРИАТ

Направление подготовки

06.03.01 Биология

(код и наименование направления подготовки)

Биохимия

(наименование направленности (профиля) образовательной программы)

Тип образовательной программы

Программа академического бакалавриата

Квалификация

Бакалавр

Форма обучения

Очная

Год набора 2016

Рабочая программа рассмотрена и утверждена на заседании кафедры

Кафедра биохимии и микробиологии

наименование кафедры

протокол № 7 от "2" февраля 2016 г.

Заведующий кафедрой

Кафедра биохимии и микробиологии

наименование кафедры

подпись

Е.С. Барышева

расшифровка подписи

Исполнители:

Доцент кафедры БХМБ

должность

подпись

О.А. Науменко

расшифровка подписи

СОГЛАСОВАНО:

Председатель методической комиссии по направлению подготовки

06.03.01 Биология

код наименование

личная подпись

А.М. Русанов

расшифровка подписи

Заведующий отделом комплектования научной библиотеки

личная подпись

Н.Н. Грицай

расшифровка подписи

Уполномоченный по качеству факультета

личная подпись

Е.С. Барышева

расшифровка подписи

№ регистрации 58971

© Науменко О.А., 2016
© ОГУ, 2016

1 Цели и задачи освоения дисциплины

Цели освоения дисциплины:

- формирование представлений о ферментах, как биологических катализаторах;
- формирование представлений о кинетике и термодинамике ферментативных реакций;
- формирование представлений о молекулярных основах превращения энергии в живых системах.

Задачи:

- иметь представление о механизмах формирования пространственной структуры белка;
- знать функциональные группы ферментов, принципы пространственной организации молекулы фермента,
- классификацию ферментов;
- структуру и механизм действия ферментов отдельных групп,
- разные типы регуляции активности ферментов;
- уметь выделять белки для исследования;
- иметь навыки по приготовлению экстрактов, очистке белков методом центрифугирования и фильтрования, определению активности ферментов;
- иметь представление о законах классической термодинамики в биохимии;
- знать теорию энергетического сопряжения, богатые энергией соединения; теоретические основы кинетики ферментативных реакций и методы расчета параметров ферментативных реакций;
- уметь проводить расчеты термодинамических характеристик биохимических реакций;
- иметь навыки определения скорости ферментативных реакций в зависимости от заданных параметров реакции.
- формирование теоретических представлений о биологическом окислении и об окислительном фосфорилировании.

2 Место дисциплины в структуре образовательной программы

Дисциплина относится к обязательным дисциплинам (модулям) вариативной части блока 1 «Дисциплины (модули)»

Пререквизиты дисциплины: *Б.1.Б.20 Химические процессы в молекулярной биологии, Б.1.В.ОД.3 Основы бинарной номенклатуры в биологии*

Постреквизиты дисциплины: *Б.1.В.ОД.5 Методы исследования в биологии*

3 Требования к результатам обучения по дисциплине

Процесс изучения дисциплины направлен на формирование следующих результатов обучения

Планируемые результаты обучения по дисциплине, характеризующие этапы формирования компетенций	Формируемые компетенции
Знать: фундаментальные принципы строения и пространственной организации молекулы фермента, проблемы сворачивания полипептидной цепочки в нативную конформацию, ее важность для энзимологии; функциональные группы ферментов; классификацию ферментов; структуру и механизм действия ферментов отдельных групп, разные типы регуляции активности ферментов; кинетические параметры ферментативной реакции, дыхательные цепи переноса электронов, процессы окислительного фосфорилирования и биологического окисления, процессы образования энергии в живом организ-	ОПК-5 способностью применять знание принципов клеточной организации биологических объектов, биофизических и биохимических основ, мембранных процессов и молекулярных механизмов жизнедеятельности

Планируемые результаты обучения по дисциплине, характеризующие этапы формирования компетенций	Формируемые компетенции
ме, особенности строения и функции ферментов в биологических системах. Уметь: формулировать задачи, связанные с выделением белка для исследования, проводить сбор и гомогенизацию биоматериала, уметь очищать белки методами диализа, гельфильтрацией, уметь разделять белки путем осаждения, уметь проводить денатурацию балластных белков действием температуры, органических растворителей и путем изменения pH; Владеть профессиональными навыками по выделению белков из растительного и животного сырья для исследования, определению активности ферментов в биохимических реакциях, очистке белков методом центрифугирования и фильтрования, методами определения и расчета скорости ферментативной биохимической реакции.	
Знать: современные методы обработки, анализа и синтеза результатов лабораторных исследований ферментов Уметь: уметь применять современные методы обработки, анализа и синтеза данных лабораторных работ по исследованию ферментов в биологических процессах Владеть: современными методами обработки, анализа и синтеза информации, полученной в ходе лабораторных работ и курсовых работ по энзимологии и правилами составления отчетов по результатам работ.	ПК-4 способностью применять современные методы обработки, анализа и синтеза полевой, производственной и лабораторной биологической информации, правилами составления научно-технических проектов и отчетов

4 Структура и содержание дисциплины

4.1 Структура дисциплины

Общая трудоемкость дисциплины составляет 12 зачетных единиц (432 академических часов).

Вид работы	Трудоемкость, академических часов		
	5 семестр	6 семестр	всего
Общая трудоёмкость	252	180	432
Контактная работа:	70,5	51,25	121,75
Лекции (Л)	18	18	36
Практические занятия (ПЗ)	34	16	50
Лабораторные работы (ЛР)	16	16	32
Консультации	1	1	2
Индивидуальная работа и инновационные формы учебных занятий	1		1
Промежуточная аттестация (экзамен)	0,5	0,25	0,75
Самостоятельная работа:	181,5	128,75	310,25
- выполнение курсовой работы (КР);	+		
Самостоятельная работа:			
- выполнение курсовой работы (КР);	экзамен	экзамен	
- самостоятельное изучение разделов (Механизмы образования комплекса фермент-субстрат в растворителе (воде).			

Вид работы	Трудоемкость, академических часов		
	5 семестр	6 семестр	всего
Характеристика связей, возникающих при межмолекулярных взаимодействиях. Комплементарность между ферментом и субстратом. Катализ сериновыми протеазами. Структурные и термодинамические предпосылки механизма сближения и ориентации в ферментативном катализе. Теория индуцированного соответствия между ферментом и субстратом. Концепция деформации. Теория напряжения. Общий путь катаболизма. Механизм окислительного декарбоксилирования пирувата. Роль ферментных систем (монооксигеназы, диоксигеназы). Энергетическая роль общего пути катаболизма. Основные пути регуляции метаболизма. Роль витаминов в регуляции общего пути катаболизма. Фотосинтез); - подготовка к лабораторным занятиям; - подготовка к практическим занятиям;			

Разделы дисциплины, изучаемые в 5 семестре

№ раздела	Наименование разделов	Количество часов				
		всего	аудиторная работа			внеауд. работа
			Л	ПЗ	ЛР	
1	Общие принципы структурной организации белков и молекулярные механизмы их сворачивания в функционально активную конформацию	154	12	30	12	100
2	Общие вопросы кинетики и термодинамики ферментативных реакций	98	6	4	4	84
	Итого:	252	18	34	16	184

Разделы дисциплины, изучаемые в 6 семестре

№ раздела	Наименование разделов	Количество часов				
		всего	аудиторная работа			внеауд. работа
			Л	ПЗ	ЛР	
2	Общие вопросы кинетики и термодинамики ферментативных реакций	42	4	4	4	30
3	Механизмы регуляции активности ферментов	62	4	4	4	50
4	Ферментативная биоэнергетика	64	6	4	4	50
	Итого:	180	18	16	16	130
	Всего:	432	36	50	32	314

4.2 Содержание разделов дисциплины

Раздел 1 Общие принципы структурной организации белков и молекулярные механизмы их сворачивания в функционально активную конформацию

Введение в дисциплину «Энзимология». Определение энзимологии как науки. История открытия ферментов.

Номенклатура и классификация ферментов. Химическая природа и строение ферментов.

Простые (мономеры) и сложные ферменты (олигомеры).

Номенклатура ферментов, объединенных в 6 основных классов согласно их функциональным характеристикам.

Правила техники безопасности в биохимической лаборатории. Методы подготовки исследуемых образцов для биохимических исследований.

Структура белковой молекулы. Первичная, вторичная и супервторичная структура белка. Типы комбинаций элементов вторичной структуры для образования различных мотивов.

Третичная структура белка фермента, как основа его функционирования.

Понятие о доменах и активном центре фермента.

Структура олигомерных ферментов. Понятие об изоферментах.

Надмолекулярная организация ферментов.

Мультиферментные комплексы, мультиферментные ансамбли (метаболоны), мультиферментные коньюгаты. Их структурная и функциональная характеристика.

Кофакторы в составе сложных ферментов

Кофакторы. Природа кофакторов. Понятие о коферментах. Роль кофакторов в работе ферментов.

Механизм взаимодействия кофактора с субстратом.

Принципы пространственной организации белковой молекулы. Характеристика сил, стабилизирующих третичную структуру белка.

Термодинамика формирования третичной структуры белка. Роль водородных, гидрофобных, Ван-дер-Ваальсовых, электростатических и дисульфидных связей в стабилизации нативной глобулы. Значение растворителя – воды в образовании третичной структуры белка.

Выделение белков из растительного и животного сырья для исследования, по гомогенизации биоматериала, по приготовлению экстрактов, очистке белков методом центрифугирования и фильтрования, методы определения активности ферментов.

Механизм формирования пространственной структуры белка. Парадокс Левинталя. Стадии сворачивания белка. Иерархический принцип сворачивания. Промежуточные состояния в процессе организации нативной конформации;

Роль ферментов пептидил-пролил-цис/трансизомеразы и протеиндисульфид-изомеразы в регуляции скорости сворачивания белка.

Механизм защиты частично свернутого белка от неспецифической агрегации. Роль белков «теплового шока» (гистонов) в регуляции сворачивания белка. Шапероны и шаперонины. Классификация и функциональная роль шаперонинов hsp 10, hsp 60 в синтезе белка. Роль hsp 70 в процессе сворачивания белка.

Доменная организация молекулы белка-фермента. Структурная и функциональная характеристика доменов

Активный центр фермента и его роль в ферментативном катализе. Структура активного центра фермента. Формирование активного центра фермента Локализация активного центра фермента. Физико-химические свойства среды активного центра молекулы белка-фермента.

Раздел 2 Общие вопросы кинетики и термодинамики ферментативных реакций

Законы классической термодинамики в биохимии. Первый, второй и третий законы термодинамики. Понятие открытой. Закрытой и изолированной термодинамической системы. Термодинамический процесс и его характеристики. Энтальпия и энтропия. Понятие свободной энергии (энергии Гиббса).

Химическая кинетика. Определение порядка и скорости реакции

Влияние концентрации субстрата на кинетику двухстадийной ферментативной реакции. Константа Михаэлиса.

Ограничения кинетики Михаэлиса-Ментен.

Влияние обратимых эффекторов на кинетику ферментативной реакции.

Кинетический анализ двухстадийных ферментативных реакций, не подчиняющихся уравнению Михаэлиса-Ментен. Ингибирование избытком субстрата. Активация субстратом.

Раздел 3 Механизмы регуляции активности ферментов

Виды механизмов регуляции. Интенсивные и экстенсивные.

Необратимая ковалентная модификация (ограниченный протеолиз).

Активаторы и ингибиторы. Обратимая ковалентная модификация. Виды ингибирования. Конкурентное, бесконкурентное, смешанное ингибирование. Регуляция активности ферментов без ковалентного связывания. Аллостерический, диссоциативный и абсорбционный механизмы.

Раздел 4 Ферментативная биоэнергетика

Пути потребления кислорода (биологическое окисление). Понятие редокс-потенциала. Уравнение Нернста. Пути использования кислорода в окислительных процессах. Понятие тканевого дыхания, его стадии и расчёт дыхательного коэффициента.

Компоненты дыхательной цепи. Типы окисления субстратов. Понятия полной и укороченной дыхательной цепи. Типы переноса электронов. Ферменты цепи переноса электронов.

Организация цепи переноса электронов. Катализаторы переноса электронов от одной части цепи к другой. Отличия полной от укороченной ЦПЭ.

Окислительное фосфорилирование. Определение. Механизм. Стадии. Гипотезы окислительного фосфорилирования.

Цикл трикарбоновых кислот. История открытия. Последовательность реакций и характеристика ферментов. Биологическое значение и регуляция цикла трикарбоновых кислот.

Общий путь катаболизма. Механизм окислительного декарбоксилирования пирувата. Роль ферментных систем (монооксигеназы, диоксигеназы). Энергетическая роль общего пути катаболизма. Основные пути регуляции метаболизма. Роль витаминов в регуляции общего пути катаболизма.

Фотосинтез, определение. Фотосинтезирующие структуры. Фазы фотосинтеза. Реакция и механизм световой стадии фотосинтеза. Электрон-транспортные цепи, образование протонного потенциала и механизм фотосинтетического фосфорилирования. Общая характеристика реакций темновой стадии фотосинтеза. Цикл Кальвина.

Количественная оценка окислительного фосфорилирования. Дыхательный контроль и нарушения клеточного дыхания. Разобщение дыхания и окислительного фосфорилирования.

4.3 Лабораторные работы

№ ЛР	№ раздела	Наименование лабораторных работ	Кол-во часов
1	1	Правила техники безопасности в биохимической лаборатории.	2
2	1	Методы подготовки исследуемых образцов для биохимических исследований.	2
3	1	Реакции осаждения белков - ферментов	2
4	1	Методы выделения белков (фльтрации, диализа, центрифугирования)	2
5	1	Определение активности каталазы	4
6	1	Определение активности пероксидазы	4
7	3	Влияние активаторов и ингибиторов на активность амилазы	2
8	2	Влияние температуры на активность амилазы	2
9	3	Влияние pH среды на активность амилазы	2
10	4	Количественное определение АТФ-азы в мышечной ткани	2
11	4	Обнаружение НАД в дрожжах.	2
12	4	Обнаружение цитохромоксидазы в мышцах.	2
12	4	Сукцинатдегидрогеназа мышц и конкурентное торможение её активности.	2
14	4	Обнаружение каталазы крови.	2
		Итого:	32

4.4 Практические занятия

№ занятия	№ раздела	Тема	Кол-во часов
1	1	Номенклатура и классификация ферментов, объединенных в 6 основных классов согласно их функциональным характеристикам.	2
2	1	Простые (мономеры) и сложные ферменты (олигомеры). Строение.	2
3	1	Структура олигомерных ферментов. Понятие об изоферментах.	2
4	1	Кофакторы в составе сложных ферментов Кофакторы. Природа кофакторов. Понятие о коферментах. Роль кофакторов в работе ферментов. Механизм взаимодействия кофактора с субстратом.	2
5	1	Надмолекулярная организация ферментов. Мультиферментные комплексы, мультиферментные ансамбли (метаболоны), мультиферментные конъюгаты. Их структурная и функциональная характеристика.	2
6	1	Структура белковой молекулы. Первичная, вторичная и супервторичная структура белка. Типы комбинаций элементов вторичной структуры для образования различных мотивов. Третичная структура белка фермента, как основа его функционирования.	2
7	1	Принципы пространственной организации белковой молекулы. Характеристика связей, стабилизирующих третичную структуру белка. Термодинамика формирования третичной структуры белка. Роль водородных, гидрофобных, Ван-дер-Ваальсовых, электростатических и дисульфидных связей в стабилизации нативной глобулы. Значение растворителя – воды в образовании третичной структуры белка.	2
8	1	Механизм формирования пространственной структуры белка. Парадокс Левинтала. Стадии сворачивания белка. Иерархический принцип сворачивания. Промежуточные состояния в процессе организации нативной конформации;	2
9	1	Роль ферментов пептидил-пролил-цис/трансизомеразы и протеиндисульфид-изомеразы в регуляции скорости сворачивания белка. Механизм защиты частично свернутого белка от неспецифической агрегации. Роль белков «теплового шока» (гистонов) в регуляции сворачивания белка. Шапероны и шаперонины. Классификация и функциональная роль шаперонинов hsp 10, hsp 60 в синтезе белка. Роль hsp 70 в процессе сворачивания белка.	2
10	1	Активный центр фермента и его роль в ферментативном катализе. Структура активного центра фермента. Формирование активного центра фермента Локализация активного центра фермента. Физико-химические свойства среды активного центра молекулы белка-фермента.	2
11-12	2	Механизмы образования комплекса фермент-субстрат в	4

№ занятия	№ раздела	Тема	Кол-во часов
		растворителе (воде). Характеристика связей, возникающих при межмолекулярных взаимодействиях.	
13-14	2	Комплементарность между ферментом и субстратом.	4
15-16	2	Катализ сериновыми протеазами. Структурные и термодинамические предпосылки механизма сближения и ориентации в ферментативном катализе.	4
17	2	Теория индуцированного соответствия между ферментом и субстратом. Концепция деформации. Теория напряжения	2
18-19	3	Виды механизмов регуляции активности ферментов. Интенсивные и экстенсивные. Активаторы и ингибиторы. Обратимая ковалентная модификация. Виды ингибирования. Конкурентное, бесконкурентное, смешанное ингибирование.	4
20	3	Необратимая ковалентная модификация ферментов (ограниченный протеолиз).	2
21	3	Аллостерический механизм регуляции активности ферментов без ковалентной модификации.	2
22	3	Диссоциативный механизм регуляции активности ферментов без ковалентной модификации.	2
23	3	Адсорбционный механизм регуляции активности ферментов без ковалентной модификации.	2
24	4	Законы классической термодинамики в биохимии. Первый, второй и третий законы термодинамики. Понятие открытой. Закрытой и изолированной термодинамической системы. Термодинамический процесс и его характеристики. Энтальпия и энтропия. Понятие свободной энергии (энергии Гиббса).	4
25	4	Химическая кинетика. Определение порядка и скорости реакции	2
		Итого:	50

4.5 Курсовая работа (5 семестр)

1. Биологическое значение ферментов рестриктаз
2. Биологическое значение ферментов цикла трикарбоновых кислот
3. Биологическое значение ферментов внутренней мембраны митохондрий животной клетки
4. Биологическое значение ферментов тилакоида растительной клетки
5. Биологическое значение ферментов аминотрансфераз
6. Биологическое значение ферментов антиоксидантной системы растений
7. Биологическое значение ферментов антиоксидантной системы животных
8. Биологическое значение ферментов гликолиза
9. Биологическое значение АТФ-синтазы
10. Биологическое значение ферментов системы свертывания крови
11. Биологическое значение сериновых протеаз
12. Биологическое значение ферментов рестриктаз
13. Биологическое значение ферментов цикла трикарбоновых кислот
14. Биологическое значение ферментов внутренней мембраны митохондрий животной клетки

5 Учебно-методическое обеспечение дисциплины

5.1 Основная литература

1. Биохимия [Текст] : учеб. для студентов мед. вузов / под ред. Е. С. Северина. - 5-е изд. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2009. - 766 с. : ил. - Прил.: с. 735-760. - ISBN 978-5-9704-1195-7.
2. Биохимия [Электронный ресурс] : электронное гиперссылочное учебное пособие / А. В. Дудко, А. Д. Стрекаловская, Е. С. Хайруллина; М-во образования и науки Рос. Федерации, Федер. гос. бюджет. образоват. учреждение высш. проф. образования "Оренбург. гос. ун-т". - Электрон. текстовые дан. (1 файл: 245 Mb). - Оренбург : ОГУ, 2015. -Архиватор 7-Zip http://ufer.osu.ru/index.php?option=com_uferdbsearch&view=uferdbsearch&action=details&ufer_id=1081
3. Теоретические основы биохимии [Электронный ресурс] : учеб. пособие / Е. С. Барышева, О. В. Баранова, Т. В. Гамбург; М-во образования и науки Рос. Федерации, Гос. образоват. учреждение высш. проф. образования "Оренбург. гос. ун-т". - Электрон. текстовые дан. (1 файл: Kb). - Оренбург : ГОУ ОГУ, 2011. -Adobe Acrobat Reader 5.0. Издание на др. носителе [Текст] . - № гос. регистрации 0321102524. http://artlib.osu.ru/web/books/metod_all/11_20110615.pdf

5.2 Дополнительная литература

1. Владимирова, Е. Г. Техническая биохимия [Электронный ресурс] : метод. указания к лаб. практикуму / Е. Г. Владимирова, Е. В. Бибарцева, О. П. Кушнарева; М-во образования и науки Рос. Федерации, Федер. гос. бюджет. образоват. учреждение высш. проф. образования "Оренбург. гос. ун-т", Каф. профилакти. медицины. - Электрон. текстовые дан. (1 файл: Kb). - Оренбург : ОГУ, 2013. - Adobe Acrobat Reader 6.0
2. Рогожин, В. В. Практикум по биологической химии : учеб.-метод. пособие / В. В. Рогожин . - СПб. : Лань, 2006. - 256 с. : ил.. - Библиогр. в конце гл. - ISBN 5-8114-0679-7.
3. Соколова, О. Я. Биохимические основы биологических процессов [Электронный ресурс] : лабораторный практикум: учебное пособие для студентов, обучающихся по программам высшего профессионального образования по направлению подготовки 020400.62 Биология, профиль подготовки "Биохимия" / О. Я. Соколова, Е. В. Бибарцева, О. А. Наumenко; М-во образования и науки Рос. Федерации, Федер. гос. бюджет. образоват. учреждение высш. проф. образования "Оренбург. гос. ун-т". - Электрон. текстовые дан. (1 файл: 11315 Kb). - Оренбург : ОГУ, 2014. -Adobe Acrobat Reader 6.0 - ISBN 978-5-7410-1267-3.

5.3 Периодические издания

1. Молекулярная биология: журнал. – М.: АРСМИ. – ISSN 0026-8984, 2005-2007, 2009 гг.
2. Биотехнология : журнал. - М. : АРЗИ. – ISSN 0234-2758, 2008-2010, 2013 гг.

5.4 Интернет-ресурсы

1. Онлайн-версия научно-популярного проекта «Элементы», целью которого является популяризация науки. Режим доступа: <http://elementy.ru/>
2. Научно-популярный сайт, посвящённый молекулярным основам современной биологии и практическим применениям научных достижений в медицине и биотехнологии. Режим доступа: <http://biomolecula.ru/>
3. Научно-популярный журнал «Мембрана» – площадка для обмена информацией о технологиях, которые меняют жизнь, посвященная победам науки, достижениям техники, прорывам в дизайне, открытиям в медицине, успехам в бизнесе. Режим доступа: <http://www.membrana.ru/>
4. https://lectoriy.mipt.ru/course/Cell_biophysics - Московский физико-технический институт, Курс «Биофизика клетки»;

5.5 Программное обеспечение, профессиональные базы данных и информационные справочные системы современных информационных технологий

1. Лицензионное программное обеспечение: ОС Microsoft Windows, офисный пакет Microsoft Office и инструментальное ПО Microsoft Power Point.

6 Материально-техническое обеспечение дисциплины

Учебная аудитория для проведения лекционных и практических занятий, групповых и индивидуальных консультаций, текущего контроля и промежуточной аттестации №2305, оснащенная:

- комплектами ученической мебели;
- мультимедийный проектор;
- доской;
- экраном;
- компьютером с подключения к сети «Интернет» и обеспечением доступа в электронную информационно-образовательную среду ОГУ.

Помещения для лабораторных работ и курсовых работ (ауд. № 2311 «Биохимическая лаборатория»), оснащенные комплектами ученической мебели, компьютерами с подключением к сети «Интернет» и обеспечением доступа в электронную информационно-образовательную среду ОГУ.

Оборудование ауд. № 2311 «Биохимическая лаборатория»:

Баня водяная TW-2 ELMi (v-4.5л)

Весы OHAUS PA 64с

РН-метр "эксперт-рн" (термодатчик ТДС-3, электрод ЭСК-10601/7)

Спектрофотометр ПЭ-5400ВИ

Термостат ТС-80

Шкаф вытяжной с подводом воды ШВ-УК-1кг

Микроскоп "МИКРОМЕД-1"

Микроскоп медицинский МИКМЕД-5

Мешалка магнитная MS-3000 BIOSAN

Шейкер-миди OS-20 универсальный, включая блок питания 230 VAS EURO PLUG, BIOSAN

Печь муфельная ЭКПС 10 (тип ЧОЛ, рабочая камера из МКРВ, одноступенчатый регулятор автономная вытяжка).

Установка автоматическая для разложения по КЪЕЛЬДАЛЮ LK-500.