

Минобрнауки России

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования

«Оренбургский государственный университет»

Кафедра биохимии и микробиологии

РАБОЧАЯ ПРОГРАММА

ДИСЦИПЛИНЫ

«С.1.Б.32 Инженерная энзимология»

Уровень высшего образования

СПЕЦИАЛИТЕТ

Специальность

06.05.01 Биотехнология и биоинформатика
(код и наименование специальности)

Биотехнология

(наименование направленности (профиля)/специализации образовательной программы)

Квалификация

Биотехнолог и биоинформатик

Форма обучения

Очная

Год набора 2019

Рабочая программа рассмотрена и утверждена на заседании кафедры

Кафедра биохимии и микробиологии

наименование кафедры

протокол № 6 от " 22 " января 2019г.

Заведующий кафедрой

Кафедры биохимии и микробиологии

наименование кафедры

подпись

Е.С. Барышева

расшифровка подписи

Исполнители:

Доцент кафедры БХМБ

подпись

О.А. Науменко

СОГЛАСОВАНО:

Председатель методической комиссии по специальности

06.05.01 Биотехнология и биоинформатика

код специальности

подпись

Е.С. Барышева

расшифровка подписи

Заведующий отделом комплектования научной библиотеки

подпись

Н.Н. Грицай

расшифровка подписи

Уполномоченный по качеству факультета

подпись

Е.С. Барышева

расшифровка подписи

№ регистрации _____

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 фильтрации, 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 базовой части блока 1 «Дисциплины (модули)»

Пререквизиты дисциплины: *С.1.Б.13 Органическая химия, С.1.Б.23 Биохимия*

Постреквизиты дисциплины: *С.2.Б.П.3 Преддипломная практика*

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
<p>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 организме, особенности строения и функции ферментов в биологических системах.</p> <p>Уметь: формулировать задачи, связанные с выделением белка для исследования, проводить сбор и гомогенизацию биоматериала, уметь очищать белки методами диализа, гель- и ультрафильтрацией, уметь разделять</p>	ОПК-4 способностью порождать новые идеи, выявлять фундаментальные проблемы, формулировать задачи, связанные с реализацией профессиональных функций, использовать для их решения методы изученных наук

Планируемые результаты обучения по дисциплине, характеризующие этапы формирования компетенций	Формируемые компетенции
<p>белки путем осаждения, уметь проводить денатурацию балластных белков действием температуры, органических растворителей и путем изменения pH;</p> <p>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.</p>	

4 Структура и содержание дисциплины

4.1 Структура дисциплины

Общая трудоемкость дисциплины составляет 8 зачетных единиц (288 академических часов).

Вид работы	Трудоемкость, академических часов		
	6 семестр	7 семестр	всего
Общая трудоёмкость	144	144	288
Контактная работа:	50,25	51,25	101,5
Лекции (Л)	18	18	36
Практические занятия (ПЗ)	16	16	32
Лабораторные работы (ЛР)	16	16	32
Консультации		1	1
Промежуточная аттестация (зачет, экзамен)	0,25	0,25	0,5
Самостоятельная работа: - выполнение индивидуального творческого задания (ИТЗ); - самоподготовка (проработка и повторение лекционного материала и материала учебников и учебных пособий); - подготовка к лабораторным занятиям; - подготовка к рубежному контролю и т.п.)	93,75	92,75	186,5
Вид итогового контроля	зачет	экзамен	

Разделы дисциплины, изучаемые в 6 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	68	10	8	8	40
2	Общие вопросы кинетики и термодинамики ферментативных реакций	78	8	8	8	54
	Итого:	144	18	16	16	94

№ раздела	Наименование разделов	Количество часов				
		всего	аудиторная работа			внеауд. работа
			Л	ПЗ	ЛР	
3	Механизмы регуляции активности ферментов	64	8	8	8	40
4	Синтез и модификация белков и пептидов	80	10	8	8	54
	Итого:	144	18	16	16	94
	Всего:	288	36	32	32	188

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 (мономерные) 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 конъюгаты. 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-Ментена. 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 Синтез белков и пептидов

Химический синтез и химическая модификация белков и пептидов.

Понятия о защитных группах. Защитные группировки, используемые в пептидном синтезе.

NH₂- защитные и COOH- защитные группировки.

Защитные группировки для боковых цепей аминокислот.

Методы создания пептидной связи:

Хлорангидридный, азидный, карбодимидный, карбоксиангидридный методы. Синтез полиаминокислот.

Методы определения аминокислотной последовательности.

Качественный и количественный анализ белково-пептидных комплексов.

Роль N- фенилметионил- РНК в биосинтезе белка.

Приготовление клеточного экстракта. Выделение РНК.

Приготовление олигомеров. Определение концевых аминокислот.

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
4-5	1	Методы выделения белков (гель -фильтрации, диализа, центрифугирования)	4
6-7	1	Определение активности каталазы	4
8	1	Определение активности пероксидазы	2
9	2	Влияние активаторов и ингибиторов на активность амилазы	2
10	2	Влияние температуры на активность амилазы	2
11	2	Влияние РН среды на активность амилазы	2
12	3	Количественное определение АТФ-азы в мышечной ткани	2
13	3	Обнаружение НАД в дрожжах.	2
14	4	Обнаружение цитохромоксидазы в мышцах.	2
15	4	Сукцинатдегидрогеназа мышц и конкурентное торможение её активности.	2
16	4	Обнаружение каталазы крови.	2
		Итого:	32

4.4 Практические занятия (семинары)

№ занятия	№ раздела	Тема	Кол-во часов
1	1	Номенклатура и классификация ферментов, объединенных в 6 основных классов согласно их функциональным характеристикам. Простые (мономерные) и сложные ферменты (олигомеры). Строение. Структура олигомерных ферментов. Понятие об изоферментах.	2
2	1	Кофакторы в составе сложных ферментов Кофакторы. Природа кофакторов. Понятие о коферментах. Роль кофакторов в работе ферментов. Механизм взаимодействия кофактора с субстратом.	2
3	1	Надмолекулярная организация ферментов. Мультиферментные комплексы, мультиферментные ансамбли (метаболоны), мультиферментные конъюгаты. Их структурная и функциональная характеристика.	2
4	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
5	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
6	1	Механизм формирования пространственной структуры белка. Парадокс Левинтала. Стадии сворачивания белка. Иерархический принцип сворачивания. Промежуточные состояния в процессе организа-	2

№ занятия	№ раздела	Тема	Кол-во часов
		ции нативной конформации;	
7	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
8	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
9	3	Виды механизмов регуляции активности ферментов. Интенсивные и экстенсивные. Активаторы и ингибиторы. Обратимая ковалентная модификация. Виды ингибирования. Конкурентное, бесконкурентное, смешанное ингибирование.	2
10	3	Необратимая ковалентная модификация ферментов (ограниченный протеолиз).	2
11	3	Аллостерический механизм регуляции активности ферментов без ковалентной модификации.	2
12	3	Диссоциативный механизм регуляции активности ферментов без ковалентной модификации.	2
13	3	Адсорбционный механизм регуляции активности ферментов без ковалентной модификации.	2
14	2	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).	2
15	2	Химическая кинетика. Определение порядка и скорости реакции	2
16	4	Синтез белков и пептидов	2
		Итого:	32

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. -362 с. -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. Кушнарцева; 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. Науменко; 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

Молекулярная биология: журнал. – М.: АРСМИ. – ISSN 0026-8984, 2005-2007, 2009 гг.

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.

2. ГАРАНТ Платформа F1 [Электронный ресурс]: справочно-правовая система. / Разработчик ООО НПП «ГАРАНТ-Сервис», 119992, Москва, Воробьевы горы, МГУ, [1990–2016]. – Режим доступа в сети ОГУ для установки системы: [\\fileserv1\GarantClient\garant.exe](http://fileserv1\GarantClient\garant.exe)

3. КонсультантПлюс [Электронный ресурс]: электронное периодическое издание справочная правовая система. / Разработчик ЗАО «Консультант Плюс», [1992–2016]. – Режим доступа к системе в сети ОГУ для установки системы: [\\fileserv1\!CONSULT\cons.exe](http://fileserv1\!CONSULT\cons.exe)

4. Законодательство России [Электронный ресурс]: информационно-правовая система. – Режим доступа: <http://pravo.fso.gov.ru/ips/>, в локальной сети ОГУ.

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 ELM1 (v-4.5л)

Весы OHAUS PA 64c

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 СНОЛ, рабочая камера из МКРВ, одноступенчатый регулятор автономная вытяжка).

Установка автоматическая для разложения по КБЕЛЬДАЛЮ LK-500.