

Блю-904

БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по учебной работе
и образовательным инновациям

О.И. Чуприс

2019 г.

Регистрационный № УД- 6759 уч.



Энзимология

Учебная программа учреждения высшего образования
по учебной дисциплине для специальности:

1-31 01 02 Биохимия

2019 г.

Учебная программа составлена на основе ОСВО 1-31 01 02-2013, учебных планов УВО № G31-221/уч. 2018 г. и № G31з-224/уч. 2018 г., утвержденных 13.07.2018 г.

СОСТАВИТЕЛЬ:

Кукулянская Т.А., доцент кафедры биохимии Белорусского государственного университета, кандидат биологических наук, доцент.

РЕЦЕНЗЕНТЫ:

Гилеп И.Л., доцент кафедры физиологии и биохимии Белорусского государственного университета физической культуры, кандидат химических наук, доцент;

Руткевич С.А., доцент кафедры физиологии человека и животных Белорусского государственного университета, кандидат биологических наук, доцент

РЕКОМЕНДОВАНА К УТВЕРЖДЕНИЮ:

Кафедрой биохимии
(протокол № 18 от 12 апреля 2019 г.);

Научно-методическим Советом БГУ
(протокол № 4 от 22 апреля 2019 г.)

/ Зав. кафедрой биохимии,
доцент



И.В. Семак



ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Цели и задачи учебной дисциплины

Цель учебной дисциплины – сформировать у студентов представление о фундаментальной роли ферментов в обмене веществ и энергии, механизмах реализации наследственной информации и регуляции и интеграции процессов метаболизма в живых организмах.

Задачи учебной дисциплины:

- 1) изучить особенности биокаталитических процессов;
- 2) рассмотреть структурно-функциональную организацию ферментов и механизмы их действия;
- 3) изучить особенности внутриклеточной локализации и организации ферментов;
- 4) рассмотреть молекулярные механизмы регуляции активности ферментов *in vivo*.

Место учебной дисциплины в системе подготовки специалиста с высшим образованием.

Учебная дисциплина «Энзимология» относится к государственному компоненту учебного плана и входит в учебный модуль «Энзимология, функциональная и аналитическая биохимия».

Связи с другими учебными дисциплинами:

Дисциплина «Энзимология» тесно связана с другими учебными дисциплинами, включая учебные дисциплины компонента учреждения высшего образования и дисциплины специализации: «Метаболическая биохимия», «Структурная биохимия», «Функциональная биохимия», «Медицинская биохимия», «Генетика» и др.

Требования к компетенциям

Освоение учебной дисциплины «Энзимология» наряду с другими учебными дисциплинами модуля «Энзимология, функциональная и аналитическая биохимия» должно обеспечить формирование базовой профессиональной компетенции БПК-6 «Владеть основными методами выделения, очистки и определения активности ферментов; биохимическими методами исследования особенностей метаболических процессов в органах и тканях животного организма в соответствии с функциональной специализацией; методами аналитической биохимии, приемами статистической обработки и анализа получаемых количественных данных».

В результате освоения учебной дисциплины студент должен:

знать:

- принципы и особенности ферментативного катализа;
- классификацию, номенклатуру и структуру ферментов;

- механизмы действия и пути регуляции ферментативной активности;
- методы выделения, очистки и количественной оценки ферментов;
- теоретическую и практическую значимость энзимологии;
- новейшие достижения и перспективы развития энзимологии.

уметь:

- использовать знания энзимологии для объяснения особенностей протекания химических реакций в живых организмах как в норме, так и при возникновении патологии, связанной с изменением ферментативной активности;

- использовать современные методы получения ферментов из биологического материала, провести количественную оценку ферментного препарата;

- использовать энзиматические методы исследований в экспериментальной биохимии.

владеть:

- основными методическими приемами выделения и очистки ферментов;

- методами количественной оценки содержания ферментов в биологических образцах;

- основными методами определения ферментативной активности.

Структура учебной дисциплины

Дисциплина изучается в 3 семестре. Всего на изучение учебной дисциплины «Энзимология» отведено:

- для очной формы получения высшего образования – 108 часов, в том числе 46 аудиторных часов, из них: лекции – 28 часов, лабораторные занятия – 12 часов, управляемая самостоятельная работа – 6 часов.

- для заочной формы получения высшего образования – 108 часов, в том числе 12 аудиторных часов, из них: лекции – 10 часов, лабораторные занятия – 2 часа.

Трудоемкость учебной дисциплины составляет 3 зачетных единицы.

Форма текущей аттестации – экзамен.

СОДЕРЖАНИЕ УЧЕБНОГО МАТЕРИАЛА

Раздел 1. ВВЕДЕНИЕ

Тема 1.1. Энзимология как наука. Особенности биокаталитических процессов.

Энзимология, ее содержание и задачи. Взаимосвязь энзимологии с другими дисциплинами. История развития энзимологии. Ферменты как биологические катализаторы. Особенности ферментативного катализа.

Тема 1.2 Классификация и номенклатура ферментов.

Классификация ферментов и номенклатура, ее принципы. Современная международная номенклатура ЕС. Общая характеристика классов ферментов. Принципы деления на подклассы и подподклассы. Номенклатура ферментов.

Раздел 2. СТРУКТУРА ФЕРМЕНТОВ

Тема 2.1 Структурная организация ферментов.

Структурная организация ферментов. Одно- и двухкомпонентные ферменты. Принципы пространственной организации апофермента. Участие белков теплового шока в процессе формирования нативной конформации полипептида. Мультидоменная организация ферментов. Формирование активного центра ферментов. Конформационная подвижность белков. Силы, участвующие в формировании трехмерной структуры активного центра.

Тема 2.2 Структура и функции кофакторов ферментов.

Кофакторы: коферменты и простетические группы, их важнейшие типы и представители. Коферменты – переносчики атомов водорода и электронов: никотинамидные коферменты, флавиновые коферменты, липоевая кислота, глутатион, убихинон. Коферменты – переносчики химических групп: нуклеозидфосфаты, кофермент ацетилирования, тетрагидрофолиевая кислота, пиридоксальные коферменты. Коферменты синтеза, изомеризации и расщепления углерод-углеродных связей: производные тиамина, биотин, кобамидные коферменты.

Роль металлов в каталитическом действии ферментов. Ферменты для действия которых требуется железо, медь, цинк, марганец, кобальт, селен и другие.

Раздел 3. ПРИНЦИПЫ И МЕХАНИЗМЫ ФЕРМЕНТАТИВНОГО КАТАЛИЗА

Тема 3.1 Механизмы формирования фермент субстратного комплекса

Отличия ферментативного катализа от неферментативного. Взаимодействие фермента с субстратом. Основное и переходное состояния.

Энергия активации. Соотношение между величиной энергии активации и константой скорости реакции. Образование фермент-субстратного комплекса и его роль в катализе. Взаимодействия между функциональными группами фермента и субстрата и конформационные изменения, способствующие стабилизации переходного состояния.

Тема 3.2 Молекулярные механизмы, обеспечивающие высокую каталитическую активность ферментов. Теории ферментативного катализа.

Типы ферментативного катализа и причины высокой каталитической активности ферментов. Ускорение реакции за счет эффектов сближения и ориентации, ковалентного катализа, внутримолекулярного кислотно-основного катализа, эффекта конформационного соответствия. Теории ферментативного катализа: теория конформационного соответствия фермента и субстрата, теория индуцированного конформационного соответствия; теория напряжения, теория преимущественного связывания переходных состояний. Полифункциональный характер химических механизмов ферментативного катализа.

Тема 3.3 Кислотно-основный и ковалентный катализ.

Кислотно-основной катализ (специфический и обобщенный). Внутримолекулярный кислотно-основной катализ. Структура и каталитический механизм карбоксипептидазы А. Каталитический механизм пепсина: активация при отщеплении про-пептида. Структура и механизм катализа триозофосфатизомеразы.

Ковалентный катализ. Нуклеофильный катализ. Механизм каталитического действия сериновых протеаз. Химотрипсин: механизм активации и характеристика стадий катализа. Электрофильный катализ. Механизм электрофильного катализа аминотрансфераз с участием пиридоксаль-5-фосфата и пируватдегидрогеназы в присутствии тиаминпирофосфата. Катализ ионами металлов. Сочетание элементов электрофильного и нуклеофильного катализа.

Особенности биокатализа полифункциональными ферментами (НО-синтаза, цитохром P450 и др.). Принципы и особенности функционирования, организации и регуляции мультиферментных комплексов.

Раздел 4. ПУТИ И МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ

Тема 4.1 Экстенсивная и интенсивная регуляция активности ферментов.

Уровни регуляции ферментативной активности. Регуляция путём изменения количества ферментов и путём изменения их каталитической активности. Регуляция биосинтеза ферментов. Индукция и репрессия ферментов.

Тема 4.2 Основные механизмы регуляции активности ферментов.

Активация проферментов. Ограниченный протеолиз. Механизм активации панкреатических протеолитических ферментов. Каскад активации проферментов. Каскад активации протеолитических факторов свертывания крови. Ковалентная модификация ферментов. Белок-белковые взаимодействия.

Гормональный контроль ферментативной активности. Роль вторичных посредников в активации протеинкиназ.

Тема 4.3 Аллостерическая регуляция активности ферментов.

Аллостерическая регуляция активности ферментов. Механизмы аллостерических взаимодействий. Регуляторные домены. Кооперативное поведение ферментов.

Тема 4.4 Влияние различных факторов на активность ферментов.

Влияние на активность ферментов различных факторов. Зависимость активности ферментов от рН, температуры, катионов и анионов. Активаторы и ингибиторы ферментов. Действие конкурентных ингибиторов.

Раздел 5. МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ ФЕРМЕНТОВ

Тема 5.1 Организация ферментов в клетках и тканях

Организация ферментов в клетках и тканях. Внутриклеточная локализация ферментов. Ферменты, связанные с мембранами. Мультиферментные системы и принципы их организации. Ферменты – маркеры субклеточных фракций. Тканевая и органная специфичность в распределении ферментов. Использование ферментов-маркеров в медицине и научных исследованиях.

Тема 5.2 Выделение ферментов из биологического материала.

Методы определения активности ферментов.

Выделение и очистка ферментов. Методы выделения, очистки и разделения ферментов. Критерии чистоты ферментных препаратов.

Методы определения ферментативной активности (химические, поляриметрические, хроматографические, манометрические, спектрофотометрические, флуоресцентные, полярографические, радиометрические). Количественная характеристика ферментов.

Раздел 6. ПРАКТИЧЕСКОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФЕРМЕНТОВ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ ЭНЗИМОЛОГИИ

Тема 6.1 Применение ферментов. Перспективы энзимологии

Медицинская энзимология: энзимопатология, энзимодиагностика и энзимотерапия. Применение ферментов в промышленности и сельском хозяйстве. Имобилизованные ферменты. Использование иммобилизованных ферментов в промышленности, медицине и фармакологии. Ферментные электроды и биосенсоры.

Перспективные направления развития современной энзимологии. Химерные ферменты. Моделирование и конструирование 3D-структур ферментов и активных центров. Разработка структурной классификации ферментов. Каталитические антитела – абзимы. Получение и практическое использование абзимов в биотехнологии и медицине.

УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКАЯ КАРТА УЧЕБНОЙ ДИСЦИПЛИНЫ

Дневная форма получения образования

Номер раздела, темы	Название раздела, темы	Количество аудиторных часов					Количество часов УСР	Форма контроля знаний
		Лекции	Практические занятия	Семинарские занятия	Лабораторные занятия	Иное		
1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	Введение.	4						
1.1	Энзимология как наука. Особенности биокаталитических процессов.							
1.2	Классификация и номенклатура ферментов.							
2	Структура ферментов	4					2	контрольная работа
2.1	Структурная организация ферментов.							
2.2	Структура и функции кофакторов ферментов.							
3	Принципы и механизмы ферментативного катализа	8						
3.1	Механизмы формирования фермент субстратного комплекса							
3.2	Молекулярные механизмы, обеспечивающие высокую каталитическую активность ферментов. Теории ферментативного катализа.						2	контрольная работа
3.3	Кислотно-основный и ковалентный катализ							
4	Пути и механизмы регуляции активности ферментов	6						
4.1	Экстенсивная и интенсивная регуляция активности ферментов.						2	контрольная работа

4.2	Основные механизмы регуляции активности ферментов.							
4.3	Аллостерическая регуляция активности ферментов. Влияние различных факторов на активность ферментов.				4			тест
5	Методы изучения ферментов	4						
5.1	Организация ферментов в клетках и тканях.							
5.2	Выделение ферментов из биологического материала. Методы определения активности ферментов.				8			тест
6	Практическое использование ферментов и перспективы развития энзимологии	2						эссе или реферат
6.1	Применение ферментов. Перспективы энзимологии.							

УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКАЯ КАРТА УЧЕБНОЙ ДИСЦИПЛИНЫ
Заочная форма получения образования

Номер раздела, темы	Название раздела, темы	Количество аудиторных часов					Количество часов УСР	Форма контроля знаний
		Лекции	Практические занятия	Семинарские занятия	Лабораторные занятия	Иное		
1	2	3	4	5	6	7	8	9
2	Структура ферментов	2						
2.1	Структурная организация ферментов.							
2.2	Структура и функции кофакторов ферментов.							
3	Принципы и механизмы ферментативного катализа	4						
3.1	Механизмы формирования фермент субстратного комплекса							
3.2	Молекулярные механизмы, обеспечивающие высокую каталитическую активность ферментов. Теории ферментативного катализа.							
3.3	Кислотно-основный и ковалентный катализ							
4	Пути и механизмы регуляции активности ферментов	4						
4.1	Экстенсивная и интенсивная регуляция активности ферментов.							
4.2	Основные механизмы регуляции активности ферментов. Аллостерическая регуляция активности ферментов.							
4.3	Влияние различных факторов на активность ферментов.							

5	Методы изучения ферментов							
5.1	Организация ферментов в клетках и тканях.							
5.2	Выделение ферментов из биологического материала. Методы определения активности ферментов.				2			тест

ИНФОРМАЦИОННО-МЕТОДИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

Перечень основной литературы

1. *Безбородов А.М* Ферментативные процессы в биотехнологии / А.М. Безбородов., Н.А. Загустина., В.О. Попов. - М.: Наука, 2008.
2. *Варфоломеев С.Д.* Химическая энзимология / С. Д. Варфоломеев. - М.: Академия/Academia, 2005.
3. *Нельсон Д.* Основы биохимии Ленинджера (в 3-х томах) / Д. Нельсон, М.Кокс. / Пер. с англ. О.В. Ефременковой. - М.: Лаборатория знаний, 2017.
4. *Плакунов В.Н.* Основы энзимологии / В.Н. Плакунов. - М.: Логос, 2001.
5. *Полыганина Г.В.* Определение активности ферментов / Г.В. Полыганина, В.С. Чередниченко, Л.В. Римарева. - М.: ДеЛи принт, 2003.
6. Энзимология. Практикум к лабораторным занятиям, задания для самостоятельной работы и контроля знаний студентов / авт.- сост. Кукулянская Т.А.– Минск:БГУ, 2008.
7. Энзимология [Электронный ресурс] : пособие / сост. : О. И. Губич, Т. А. Кукулянская. – Минск : БГУ, 2013.

Перечень дополнительной литературы

1. Биохимия./ Под ред. Северина Е.С// М.: ГЭОТАР – МЕД, 2011.
2. Биохимические основы жизнедеятельности человека / Под ред. Филипповича Ю.Б., Коничева А.С.// М.: ВЛАДОС, 2005.
3. *Белясова Н.А.* Биохимия и молекулярная биология /Н.А.Белясова. Минск : Книжный дом, 2004.
4. *Брухман Э.Э.* Прикладная биохимия / Э.Э. Брухман. М: Наука. 1981.
5. *Галимова М.Х.* Ферментативная кинетика: справочник по механизмам реакций / М.Х. Галимова. - М.: КомКнига, 2007.*Диксон М.* Ферменты / М. Диксон, Э. Уэбб. - М.:Мир, 1982.
6. *Досон Р.* Справочник биохимика / Р. Досон, Д. Эллиот, У. Эллиот, К. Джонс. М.: Мир, 1991.
7. *Кнорре Д.Г.* Биологическая химия / Д.Г. Кнорре, С.Д. Мызина. М.: Высш. школа, 2000.
8. *Кольман Я.* Наглядная биохимия / Я. Кольман, К.-Г. Рем, Юрген В. / Пер. с англ. Т. В.Мосоловой – М : Лаборатория знаний, 2019.
9. *Комов В.П., Шведова В.Н.* Биохимия: учебник для академического бакалавриата / В.П. Комов, В.Н. Шведова. – 4-е изд. - М.: Издательство Юрайт, 2014.
- 10.*Коничев А.С.* Биохимия и молекулярная биология. Словарь терминов / А.С. Коничев, Г.А.Севастьянова. М.: Дрофа, 2008.
- 11.Практикум по биохимии / Под ред. С.Е. Северина и Г.А. Соловьевой. М.: МГУ, 1989.

12. *Ферш Э.* Структура и механизм действия ферментов / Э.Ферш. - М.:Мир, 1980.
13. *Цыганов А.Р.* Биохимия / А.Р. Цыганов, И.В. Сучкова, И.В. Ковалева. М.: ИВЦ Минфина, 2007.
14. *Шамин А.Н.* История биологической химии. Формирование биохимии / А.Н. Шамин. М.: КомКнига, 2006.
15. *Элиот В.* Биохимия и молекулярная биология / В. Элиот, Д. Элиот. М.: МАИК Наука/Интерпериодика, 2002.
16. *Champe P.* Biochemistry / P. Champe., R. Harvey, D. Ferrier. Lippencott, 2004.
17. *Methods in Enzymology.* – Elsevier, Vol. 1 – 446.
18. www.chem.qmul.ac.uk/iubmb - Биохимическая классификация и номенклатура ферментов на сайте Международного союза биохимии и молекулярной биологии
19. www.molbiol.ru – сайт практической молекулярной биологии.
20. www.swissprot.com – свободный доступ к международной базе данных по первичным и 3D структурам ферментов.

Перечень рекомендуемых средств диагностики и методика формирования итоговой оценки

Дневная форма получения образования

В качестве текущей аттестации предусмотрен экзамен. При формировании итоговой оценки используется рейтинговая система, дающая возможность проследить динамику процесса достижения целей обучения.

Формами текущего контроля по учебной дисциплине «Биохимия» являются:

- устные ответы на лабораторных занятиях;
- качество выполнения лабораторных работ, правильность оформления отчетной документации;
- тестовый контроль;
- письменные контрольные работы;
- защита эссе, реферата (право выбора одной из предлагаемых форм отчетности предоставляется студенту).

Формирование оценки за текущую успеваемость:

- выполнение контрольных работ (по 10 балльной системе) по каждой из двух тем УСП – 50 %;
- устные ответы по методикам проведения лабораторных работ, тестовый контроль теоретических знаний по теме лабораторного занятия, качество выполнения лабораторных работ, правильность оформления отчетной документации (по 10 балльной системе) – 50 %.

Рейтинговая оценка по дисциплине формируется исходя из 40 % за текущую аттестацию и 60 % – за экзамен, при условии получения экзаменационной оценки не ниже 4 баллов.

Заочная форма получения образования

Формами текущего контроля по учебной дисциплине «Энзимология» является:

- тестовый контроль;
- качество выполнения лабораторных работ, правильность оформления отчетной документации.

Студент допускается к сдаче экзамена по учебной дисциплине «Энзимология» в случае отработки всех лабораторных занятий, получения положительных оценок по текущей успеваемости.

В случае пропуска лекции без уважительной причины студент должен подготовить реферат (конспект лекции) по теме пропущенного занятия объемом не менее 5 страниц рукописного текста с обязательным указанием списка использованной литературы (не менее 3 источников).

Примерный перечень заданий для управляемой самостоятельной работы студентов

Темы 2.1-2.2. Структура ферментов – 2 часа.

Форма контроля – контрольная работа (решение задач, проведение расчетов, выполнение упражнений).

Тема 3.2. Молекулярные механизмы, обеспечивающие высокую каталитическую активность ферментов – 2 часа

Форма контроля – контрольная работа (решение задач, проведение расчетов, выполнение упражнений).

Темы 4.1-4.3. Экстенсивная и интенсивная регуляция активности ферментов. Основные механизмы регуляции ферментов – 2 часа.

Форма контроля – контрольная работа (решение задач, проведение расчетов, выполнение упражнений).

Задания разного уровня сложности, формирующие как достаточные знания по изученному учебному материалу на уровне узнавания, так и компетенции на уровне воспроизведения полученных знаний, и компетенции на уровне применения полученных знаний.

Примеры тестов, вопросов и ситуационных задач

Примеры вопросов, тестов, упражнений, ситуационных и расчетных задач для подготовки к контрольным и УСП приведены в пособии Тесты, упражнения, задачи по биохимии: учебное пособие / Т.А.Кукулянская [и др.] – Мн.: Издательский центр БГУ, 2014.

1. Установить соответствие:

<i>Ферменты</i>	<i>Катализируемая реакция</i>
1. Карбоксипептидаза	а) Гидролитически отщепляет N-концевую аминокислоту в пептиде
2. Протеиназа	
3. Аминопептидаза	б) Гидролизует пептидные связи

	в) Гидролитически отщепляет С-концевую аминокислоту в пептиде
--	---

2. Установить соответствие:

<i>Ферменты</i>	<i>Катализируемая реакция</i>
1. Каталаза 2. Цитохром С 3. Пероксидаза	а) Переносит электроны в дыхательной цепи б) Расщепляет H_2O_2 в) Катализирует окисление за счет H_2O_2

3. Установить соответствие:

<i>Ферменты</i>	<i>Катализируемая реакция</i>
1. Амилаза 2. Сахараза 3. Гликогенфосфорилаза	а) Катализирует расщепление $\alpha(1\rightarrow4)$ -связи между остатками глюкопиранозы с образованием глюкозо-1-фосфата б) Катализирует гидролитическое расщепление $\alpha(1\rightarrow4)$ -связи между остатками глюкопиранозы в) Катализирует расщепление $(1\rightarrow2)$ -связи между остатками α -D-глюкопиранозы и β -D-фруктофуранозы

4. Простые ферменты состоят из:

- а) аминокислот и углеводов
- б) аминокислот
- в) аминокислот и небелковых компонентов

5. Активный центр простых ферментов формируется из:

- а) одной аминокислоты
- б) остатков нескольких аминокислот
- в) остатков нескольких аминокислот и небелковых компонентов
- г) небелковых компонентов

6. Активный центр сложных ферментов формируется из:

- а) одной аминокислоты
- б) остатков нескольких аминокислот
- в) остатков нескольких аминокислот и небелковых компонентов
- г) небелковых компонентов

7. Сходными чертами между ферментами и неферментативными

- катализаторами являются:
- а) катализ только энергетически возможных реакций
 - б) взаимодействие с одним из компонентов реакционной среды
 - в) неизменность направления реакции
 - г) обратимость каталитической реакции
8. Скорость ферментативной реакции зависит от:
- а) концентрации кофермента
 - б) концентрации фермента
 - в) концентрации субстрата
 - г) молекулярной массы субстрата
9. К коферментам относятся:
- а) пируват
 - б) НАД⁺
 - в) гем
 - г) витамин В₁
 - д) тирозин
10. Класс ферментов указывает на:
- а) конформацию фермента
 - б) тип кофермента
 - в) тип химической реакции, катализируемой данным ферментом
 - г) строение активного центра фермента
11. Конкурентными ингибиторами ферментов являются:
- а) металлы
 - б) аминокислоты
 - в) вещества, по структуре подобные субстрату
 - г) вещества, по структуре подобные активному центру фермента
 - д) полипептиды
12. Конкурентные ингибиторы являются:
- а) обратимыми
 - б) необратимыми
 - в) обратимыми в определенных условиях
13. В состав фермента, катализирующего окислительное декарбоксилирование пировиноградной кислоты, входит:
- а) биотин
 - б) глутатион

- в) пиридоксин
- г) НАД⁺
- д) фолиевая

14. Аллостерическими эффекторами ферментов являются:
- а) дипептиды
 - б) коферменты
 - в) продукты превращения субстрата
 - г) углеводы
 - д) липиды
15. Ингибиторами аллостерического фермента происходит в результате действия
- а) субстрата
 - б) положительного эффектора
 - в) отрицательного эффектора
 - г) кофермента
16. Аллостерические ферменты могут иметь
- а) только один аллостерический центр
 - б) несколько аллостерических центров
 - в) в процессе ферментативной реакции число аллостерических центров может меняться
17. Мультиферментные комплексы представляют собой:
- а) совокупность ферментов одного класса
 - б) ферменты, катализирующие сходные реакции
 - в) полиферментные системы, выполняющие определенную функцию
 - г) ферменты, ассоциированные с клеточной мембраной
18. При взаимодействии фермента с субстратом конформационные изменения характерны для:
- а) фермента
 - б) субстрата
 - в) фермента и субстрата
19. В результате взаимодействия фермента с субстратом энергия активации соответствующей ферментативной реакции:
- а) увеличивается
 - б) уменьшается
 - в) не изменяется
20. В результате иммобилизации ферментов на нерастворимых носителях появляется возможность:

- а) увеличить активность ферментов
 - б) получить продукт реакции, не загрязненный ферментным белком
 - в) уменьшить время протекания ферментативной реакции
21. К какому классу относятся ферменты, катализирующие окислительно-восстановительные реакции, лежащие в основе биологического окисления?
- а) гидролазы
 - б) оксидоредуктазы
 - в) лигазы
 - г) лиазы
22. Оксидазы:
- а) ускоряют перенос протонов (электронов) на промежуточный субстрат, но не на кислород
 - б) катализируют перенос только электронов
 - в) катализируют перенос только протонов
 - г) катализируют перенос протонов (электронов) непосредственно на кислород
23. Гидролазы – это ферменты, катализирующие:
- а) окислительно-восстановительные реакции
 - б) реакции внутри и межмолекулярного переноса атомов, групп атомов или радикалов
 - в) расщепление внутримолекулярных связей
 - г) обратимые реакции отщепления различных групп от субстратов не гидролитическим путем
24. К какому классу относятся ферменты, катализирующие синтез органических веществ из двух исходных молекул с использованием энергии распада АТФ?
- а) гидролазы
 - б) лиазы
 - в) лигазы
 - г) оксидоредуктазы
25. Удельная активность фермента это:
- а) число молекул субстрата, подвергающихся превращению одной молекулой фермента в минуту
 - б) число единиц активности фермента, приходящихся на 1 мг белка
 - в) количество фермента, способное вызывать превращение 1 моля субстрата в продукт в 1 секунду
26. Молекулярная активность фермента это:

- а) число молекул субстрата, подвергающихся превращению одной молекулой фермента в минуту
- б) количество фермента, способное вызывать превращение 1 моля субстрата в продукт в 1 секунду
- в) число каталов на 1 г активного белка

Задача 1. Локализация ферментов.

Был получен гомогенат в 0,25 М сахарозе из 50 г печени крысы. С использованием метода дифференциального центрифугирования были получены субклеточные фракции, в которых определили содержание белка и активность глюкозо-6-фосфатазы. Глюкозо-6-фосфатазную активность определяли по накоплению фосфата неорганического при инкубировании реакционной среды, содержащей глюкозо-6-фосфат и исследуемую фракцию (ферментный препарат). Полученные данные приведены в таблице:

Таблица

Фракционирование гомогената печени крыс

Параметры	Фракция				
	гомогенат	ядра	митохондрии	микросомы	цитозоль
Общий объем, мл	50	10	10	5	75
Содержание белка, мг/мл	24	35	49	31	2,2
Объем, взятый для определения активности фосфатазы, мл	0,5	0,5	0,5	0,05	1,0
Изменение содержания неорганического фосфата за 5 мин, мкг	23	7,5	19	18	2

Определите удельную активность глюкозо-6-фосфатазы (в мкг фосфата неорганического, образовавшегося за 1 мин, приходящиеся на 1 мг белка) в гомогенате и субклеточных фракциях, количество глюкозо-6-фосфатазы и белка общее и в каждой фракции. Какие выводы о локализации фермента в клетке можно сделать на основании полученных результатов? В какой степени происходит инактивация глюкозо-6-фосфатазы при фракционировании?

Задача 2. Зависимость активности амилазы слюны от pH.

Для изучения механизма активации амилазы слюны анионами была исследована активность фермента в присутствии 0,04 М NaCl и NaBr и без

них при различных значениях рН. Данные об активности амилазы приведены в таблице.

Таблица

Влияние анионов на активность амилазы слюны

рН	Активность амилазы, усл.ед.		
	Без анионов	0,04 М NaCl	0,04 М NaBr
5,0	25	30	29
5,3	32	40	38
5,5	40	50	42
6,0	42	75	60
6,5	38	100	80
7,0	22	110	81
7,5	0,8	85	65
8,0	-	60	49
8,5	-	34	29
9,0	-	16	8

Постройте зависимость активности фермента от рН в присутствии активаторов и без них. Как активаторы влияют на рН оптимум действия амилазы? Чем можно объяснить различную степень влияния анионов Cl⁻ и Br⁻ на активность амилазы? Какие функциональные группы важны для функционирования амилазы (положительно или отрицательно заряженные)?

Задача 3. Активация фосфатазы.

Было изучено влияние различных концентраций сульфата магния на активность фосфатазы. Активность фермента оценивали по количеству фосфата неорганического, образующегося при инкубации в течение 10 мин при 37°C реакционной среды объемом 2 мл, содержащей фермент, различные концентрации MgSO₄ и субстрата. Результаты определения приведены в таблице.

Таблица

Влияние MgSO₄ на активность фосфатазы

MgSO ₄ , мМ	субстрат, 2,5 мМ	субстрат, 5,0 мМ	субстрат, 10 мМ	субстрат, 25 мМ
	Фосфат неорганический, мкмоль			
0,5	0,25	0,62	1,06	1,38
1,0	0,56	0,98	1,24	1,65
2,0	0,72	1,27	1,49	2,12
5,0	0,91	1,38	1,73	2,53

Как зависит скорость реакции от концентрации сульфата магния в реакционной среде? Какие предположения на основании полученных

результатов и их обработке можно сделать о характере взаимодействия $MgSO_4$ и фосфатазы?

Задача 4. Выделение и очистка аминоксидазы.

Было проведено выделение аминоксидаз, способных окислять различные моно- и диамины (например, гистамин и кадаверин). Очистка и выделение ферментов включала следующие стадии:

1. Получение водно-солевого экстракта
2. Осаждение из водно-солевого экстракта
3. Переосаждение сульфатом аммония
4. Хроматография на ДЭАЭ-целлюлозе
5. Хроматография на фосфоцеллюлозе
6. Концентрирование препарата и гель-фильтрация
7. Повторная гель-фильтрация

На всех стадиях выделения и очистки проводили измерение содержания белка и активности аминоксидаз с двумя субстратами – кадаверином и гистамином. Данные об этих показателях приведены в таблице.

Таблица

Активность аминоксидаз на различных стадиях очистки

№ п/п	Фракция	Объем, мл	Содержание белка, мг/мл	Активность фермента, Е/мл	
				с кадаверином	с гистамином
1.	Водно-солевой экстракт	9620	12,0	4,90	4,84
2.	Раствор осадка после осаждения $(NH_4)_2SO_4$	3000	17,8	12,0	6,80
3.	Раствор после переосаждения	223	47,6	970	155,0
4.	Элюат после хроматографии на ДЭАЭ-целлюлозе	344	11,1	358	78,2
5.	Элюат после хроматографии на фосфоцеллюлозе	400	1,06	105	22,0
6.	Элюат после концентрации и гель-фильтрации	130	1,16	361	76,0
7.	Элюат после гель-фильтрации	345	0,24	52,0	12,0

Найдите удельную активность и количество аминоксидаз на каждой стадии очистки, а также соотношение активностей моноаминоксидазы и диаминоксидазы. На основании полученных данных сделайте вывод о субстратной специфичности очищенного препарата и исходного гомогената.

Задача 5. Механизм действия липазы.

Панкреатическая липаза катализирует гидролиз триацилглицеринов до диацилглицеринов и моноацилглицеринов в кишечном тракте. Диэтил-п-нитрофенилфосфат инактивирует фермент с выделением стехиометрического количества п-нитрофенола. Фосфат присоединяется к остатку серина в последовательности Leu-Ser-Gly-His. Изучение зависимости активности фермента от pH свидетельствует об участии в акте катализа функциональной группы с pH 5,8. Каким может быть механизм действия липазы?

Перечень тем рефератов (эссе)

1. Перспективы развития энзимологии.
2. Этапы развития энзимологии.
3. Рибозимы – катализаторы небелковой природы: разнообразие, структурные особенности и механизм действия
4. Использование ферментов в сельском хозяйстве и промышленности.
5. Ферменты в медицине: энзимопатологии, энзимодиагностика и энзимотерапия.
6. Ферменты как маркеры субклеточных фракций.
7. Методы выделения и очистки ферментов.
8. Методы определения ферментативной активности.
9. Методы определения аминокислот в активном центре ферментов и установления их роли в каталитическом действии.
10. Использование генноинженерных методов для определения аминокислот в активном центре фермента. Направленный мутагенез.
11. Структура, механизм действия и регуляция активности ферментов.
12. Активация и механизм действия пищеварительных протеолитических ферментов.
13. Каскад активации факторов свертывания крови.
14. Источники ферментов. Нахождение ферментов в природных объектах, локализация ферментов в клетке.
15. Биосинтез ферментов. Посттрансляционная модификация. Сборка ферментов.
16. Стабильность ферментов. Денатурация и инактивация ферментов. Принципы стабилизации ферментов.
17. Химическая модификация ферментов. Виды ферментных препаратов.
18. Прикладная энзимология, основные направления развития и области практического использования ферментов.

19. Имобилизованные ферменты. Методы иммобилизации. Свойства иммобилизованных ферментов.
20. Применение ферментов в химическом синтезе.
21. Иммуноферментный анализ.
22. Биосенсоры.
23. Инженерия биокатализаторов и биокаталитических систем.

Примерная тематика лабораторных занятий (очная форма получения образования)

Лабораторное занятие № 1. Выделение и очистка алкогольдегидрогеназы из пекарских дрожжей. Определение удельной активности фермента на всех этапах получения ферментного препарата.

Лабораторное занятие № 2. Изучение субстратной специфичности алкогольдегидрогеназы. Исследование влияния температуры и рН среды на активность фермента.

Лабораторное занятие № 3. Определение удельной активности аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы. Исследование влияния активаторов и ингибиторов на ее активность

Примерная тематика лабораторных занятий (заочная форма получения образования)

Лабораторное занятие № 1. Определение удельной активности аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы. Исследование влияния активаторов и ингибиторов на ее активность

Описание инновационных подходов и методов к преподаванию учебной дисциплины

При организации образовательного процесса используется **практико-ориентированный подход**, который предполагает:

- освоение содержания образования через решения практических задач;
- приобретение навыков эффективного выполнения разных видов профессиональной деятельности;
- ориентацию на генерирование идей, реализацию групповых студенческих проектов, развитие предпринимательской культуры;
- использованию процедур, способов оценивания, фиксирующих сформированность профессиональных компетенций.

Методические рекомендации по организации самостоятельной работы обучающихся

Для организации самостоятельной работы студентов по учебной дисциплине «Энзимология» использовать современные информационные ресурсы: разместить на образовательном портале комплекс учебных и учебно-методических материалов (учебно-программные материалы, учебное издание для теоретического изучения дисциплины, методические указания к лабораторным занятиям, материалы текущего контроля и текущей аттестации, позволяющие определить соответствие учебной деятельности обучающихся требованиям образовательных стандартов высшего образования и учебно-программной документации, в т.ч. вопросы для подготовки к экзамену, задания, тесты, вопросы для самоконтроля, тематику рефератов и др., список рекомендуемой литературы, информационных ресурсов и др.).

При изучении дисциплины до сведения студентов вначале семестра доводится информация, которая включает: методы и формы контроля знаний и правила начисления баллов. Для активации работы студентов в семестре используется:

- организация непрерывного текущего контроля качества знаний студентов в течение всего срока изучения дисциплины, стимулирование работы студентов в течение семестра на основе использования накопительной рейтинговой системы;

- повышение значимости самостоятельной и индивидуальной работы путем разработки и выдачи студентам индивидуальных вариантов заданий, возможность получить консультацию и индивидуальную помощь при их выполнении;

- внесение элементов состязательности в обучение путем предоставления студентам возможности в любой момент времени получить информацию о рейтинге;

- возможность повысить оценку текущей успеваемости путем внесения в реферативную работу или презентацию дополнений, а также исправления замечаний, сделанных преподавателем,

- дифференцированный подход к оценке знаний студентов, стимулирование высокого рейтинга по дисциплине.

Примерный перечень вопросов к экзамену

1. Энзимология – наука о ферментах. Особенности ферментативного катализа
2. Ферменты как биологические катализаторы. Рибозимы.
3. Принципы классификации ферментов. Общая характеристика классов ферментов. Номенклатура ферментов
4. Оксидоредуктазы. Общая характеристика класса. Примеры.

5. Гидролазы. Общая характеристика класса. Примеры.
6. Трансферазы. Общая характеристика класса. Примеры.
7. Синтазы (лиазы). Общая характеристика класса. Примеры.
8. Изомеразы. Общая характеристика класса. Примеры.
9. Синтетазы (лигазы). Общая характеристика класса. Примеры.
10. Синтазы и синтетазы. Сравнительная характеристика классов.
11. Структурная организация ферментов. Одно- и двухкомпонентные ферменты.
12. Кофакторы: коферменты и простетические группы, их важнейшие типы и представители.
13. Кофакторы оксидоредуктаз. Характеристика основных представителей.
14. Кофакторы трансфераз. Характеристика основных представителей.
15. Кофакторы синтеза и изомеризации. Характеристика основных представителей.
16. Роль металлов в каталитическом действии ферментов. Примеры металлоферментов и ферментов, активируемых металлами.
17. Принципы пространственной организации апофермента.
18. Структурная организация активного центра ферментов.
19. Взаимодействие фермента с субстратом. Основное и переходное состояния.
20. Образование фермент-субстратного комплекса и его роль в катализе. Многоточечное связывание субстрата
21. Типы ферментативного катализа и причины высокой каталитической активности ферментов.
22. Эффекты сближения и ориентации. Эффект конформационного соответствия.
23. Теория конформационного соответствия фермента и субстрата и теория индуцированного конформационного соответствия.
24. Кислотно-основной катализ (специфический и обобщенный). Внутримолекулярный кислотно-основной катализ.
25. Структура и каталитический механизм карбоксипептидазы А.
26. Ковалентный катализ. Нуклеофильный катализ.
27. Механизм каталитического действия сериновых протеаз. Химотрипсин: механизм активации и характеристика стадий катализа.
28. Принципы и особенности функционирования, организации и регуляции мультиферментных комплексов.
29. Уровни регуляции ферментативной активности.
30. Экстенсивный и интенсивный пути регуляция активности ферментов
31. Регуляция активности ферментов на уровне транскрипции. Индукция и репрессия ферментов.
32. Активация проферментов. Ограниченный протеолиз. Примеры.
33. Аллостерическая регуляция активности ферментов. Механизмы аллостерических взаимодействий.

34. Аллостерическая регуляция активности ферментов и реализация принципа обратной связи.
35. Ковалентная модификация ферментов.
36. Регуляция активности ферментов путем белок-белковых взаимодействий.
37. Взаимопревращение активных и неактивных форм ферментов.
38. Гормональный контроль ферментативной активности.
39. Роль вторичных посредников в активации протеинкиназ.
40. Регуляция активности гликогенфосфорилазы.
41. Влияние на активность ферментов внешних факторов. Активаторы и ингибиторы ферментов.
42. Организация ферментов в клетках и тканях.
43. Внутриклеточная организация ферментов. Ферменты – маркеры субклеточных фракций.
44. Мультиферментные системы и принципы их организации.
45. Выделение и очистка ферментов. Методы выделения, очистки и разделения ферментов.
46. Методы выделения, очистки и разделения ферментов. Критерии чистоты ферментных препаратов.
47. Методы определения ферментативной активности.
48. Количественная характеристика ферментов.
49. Медицинская энзимология: энзимопатология, энзимодиагностика и энзимотерапия.
50. Применение ферментов в промышленности и сельском хозяйстве. Имобилизованные ферменты.

ПРОТОКОЛ СОГЛАСОВАНИЯ УЧЕБНОЙ ПРОГРАММЫ УВО

Название учебной дисциплины, с которой требуется согласование	Название кафедры	Предложения об изменениях в содержании учебной программы учреждения высшего образования по учебной дисциплине	Решение, принятое кафедрой, разработавшей учебную программу (с указанием даты и номера протокола)
Функциональная биохимия	Биохимии	Отсутствуют	Утвердить согласование без внесения изменений протокол № 18 от 12 апреля 2019 г.
Медицинская биохимия	Биохимии	Отсутствуют	Утвердить согласование без внесения изменений протокол № 18 от 12 апреля 2019 г.
Генетика	Генетики	Отсутствуют	Утвердить согласование без внесения изменений протокол № 18 от 12 апреля 2019 г.

**ДОПОЛНЕНИЯ И ИЗМЕНЕНИЯ К УЧЕБНОЙ ПРОГРАММЕ ПО
ИЗУЧАЕМОЙ УЧЕБНОЙ ДИСЦИПЛИНЕ**

на ____ / ____ учебный год

№ п/п	Дополнения и изменения	Основание

Учебная программа пересмотрена и одобрена на заседании кафедры
_____ (протокол № ____ от _____ 201_ г.)

Заведующий кафедрой

УТВЕРЖДАЮ
Декан факультета
