

РАБОЧАЯ ПРОГРАММА

**Дисциплины
(модуля)**

Прикладная энзимология

Разработчик (и):

Шокина Ю.В.

ФИО

профессор

должность

к.т.н., профессор

ученая степень,
звание

Утверждено на заседании кафедры

микробиологии и биохимии

наименование кафедры

протокол № 10 от 26.03.2024 г.

Заведующий кафедрой микробиологии и
биохимии



подпись

Макаревич Е.В.

ФИО

Пояснительная записка

Объем дисциплины 2 з.е.

1. Результаты обучения по дисциплине (модулю), соотнесенные с индикаторами достижения компетенций, установленными образовательной программой

Компетенции	Индикаторы достижения компетенций	Результаты обучения по дисциплине (модулю)
ПК-2 Способен определять и создавать необходимые условия для получения достоверной информации о значении показателей качества и безопасности продукции при испытаниях установленными методами и оценки соответствия этих показателей установленным требованиям, а также проводить работы по обеспечению контроля качества производства продукции и мониторингу системы производственного контроля	ИД-7 _{ПК2} Учитывает особенности ферментативных процессов, происходящих при производстве продукции пищевой промышленности	Знать: основные понятия, термины и определения в области изучаемой дисциплины; строение и физико-химические свойства ферментов; ферментативный катализ. Уметь: характеризовать строение ферментов, используя современные представления о строении высокомолекулярных соединений; самостоятельно применять знания о строении и биологических функциях основных классов биологических соединений, способах регуляции биохимических процессов, основных направлениях современной биотехнологии и прикладной биохимии с целью решения профессиональных задач. Владеть: методиками изучения биохимического состояния организма; соответствующей теоретической подготовкой для проведения лабораторного исследования; биохимическими методами анализа

2. Содержание дисциплины (модуля)

Тема 1. Наука энзимология. Краткие исторические сведения о развитии энзимологии. Значение энзимологии. Наука энзимология, ее содержание и задачи. Биологическая роль ферментов. Развитие учения о ферментах. А.Я. Данилевский и А.Н. Бах - основоположники отечественной биохимии, их роль в развитии энзимологии. Работы Э.Фишера, Р.Вильштеттера, Л. Михаэлиса, Д.Самнера, Д. Нортропа. Современное состояние и перспективы развития энзимологии. Значение энзимологических исследований для медицины, промышленности, сельского хозяйства, биотехнологии и физико-химической биологии. Эволюция биологических катализаторов. Биологические катализаторы белковой и небелковой природы. Рибозимы. Абзимы. Общие и специфические свойства ферментов.

Тема 2. Основные свойства ферментов, лежащие в основе методов исследования ферментов. Методы изучения ферментативных реакций: методы стационарной кинетики, методы предстационарной кинетики, аналитические методы Методы стационарной кинетики. Методы предстационарной кинетики. Аналитические методы. Физико-химические свойства ферментов. Относительная молекулярная масса. Растворимость, гидратация, амфотерность ферментов, их изоэлектрическая точка (ИЭТ). Термостабильность. Оптические свойства ферментов. Общие правила работы с ферментами. Способы гомогенизации объектов, компоненты среды гомогенизации, стабилизирующие ферменты. Экстракция: осаждение путем изменения температуры, рН, концентрации нейтральных солей (высаливание), органическими растворителями. Причины и степень обратимости осаждения. Хроматография

и электрофорез: теоретические принципы методов, виды. Контроль за ходом очистки ферментов, критерии чистоты ферментативного препарата. Хранение ферментных препаратов. Лиофильная сушка.

Тема 3. Природа ферментов. Ферменты-сложные белки. Форма и динамик молекулы белка. Фолдинг белка. Простые и сложные ферменты. Холофермент, апофермент, коферменты: кофакторы и простетические группы. Функции белковой и небелковой частей. Первичная, вторичная, третичная, четвертичная структуры ферментов и методы исследования этих уровней структурной организации. Сверхвторичная структура и домены. Роль четвертичной структуры в регуляции ферментативной активности. Фолдинг ферментов (принципы пространственной организации молекулы фермента, проблемы сворачивания полипептидной цепочки в нативную конформацию, ее важность для энзимологии; современные представления о механизмах формирования пространственной структуры белка; иерархический принцип сворачивания; промежуточные состояния в процессе организации нативной конформации; современное состояние знаний о белках теплового шока и структуре шаперонов).

Тема 4. Строение ферментов. Активный центр фермента. Домены и формирование пространственной структуры белка. Домены, их структурные и функциональные характеристики; роль мультидоменной организации молекулы фермента в определении ее функциональных свойств, формирование активного центра на границе между доменами. Роль подвижности доменов в катализе, структурные основы реализации феномена индуцированного соответствия, регуляторные домены, домены, обеспечивающие связывание с мембранами. Активные центры ферментов, их топография. Методы выявления функциональных групп активных центров. Каталитический и сорбционный (якорный) подцентры (сайты) активного центра, их функции. Формирование активного центра. Аминокислоты, входящие в активный центр. Методы установления структуры активных центров. Особенности микросреды активного центра. Примеры строения активных центров ряда ферментов: химотрипсина, карбоксипептидазы А и др. Надмолекулярная организация ферментов. Мультиферментные комплексы. Мультиферментные конъюгаты (полифункциональные ферменты). Динамические ассоциаты. Метаболонны. Примеры. Взаимосвязь структуры и функции отдельных ферментов, и их комплексов.

Тема 5. Механизм действия ферментов. Кинетика ферментативных реакций. Механизм действия ферментов: энергия химической реакции. Уравнение Аррениуса. Энергетический барьер реакции и энергия активации не ферментативных и ферментативных реакций. Функция фермента. Отличительные свойства катализа, связанные с особенностями строения ферментов: сходство ферментов с не биологическими катализаторами; отличия ферментов от не биологических катализаторов. Этапы ферментативного катализа. Молекулярные механизмы ферментативного катализа: а). Кислотно-основной катализ. Аминокислоты, участвующие в кислотно-основном катализ. Механизм кислотно-основного катализа на примере алкогольдегидрогеназы печени; б). Ковалентный катализ. Механизм ковалентного катализа в активном центре химотрипсина. Кинетика ферментативных реакций: определение. Эффективность действия ферментов. Образование фермент-субстратных комплексов. Использование энергии связывания фермента с субстратом в катализе; природа сил, стабилизирующая различные конформационные состояния системы фермент-субстрат (водородные связи, гидрофобные взаимодействия и др.); типы катализа, используемые в ферментативных реакциях; функциональные группы ферментов. Зависимость скорости реакции от концентрации субстрата. Теория Михаэлиса-Ментен. Константы скоростей образования и распада фермент-субстратных комплексов (малые константы). Интегральные константы ферментативной реакции: максимальная скорость реакции, константа сродства и константа Михаэлиса. Уравнения ферментативной реакции Михаэлиса-Ментен и Холдейна-Бриггса. Численное значение константы Михаэлиса и ее практическое значение. Определение константы Михаэлиса и максимальной скорости реакции по методу Лайнуивера-Берка. Понятие ферментативной активности. Скорость ферментативной реакции как мера активности фермента. Способы выражения ферментативной активности: общая, удельная и молекулярная активность (число оборотов); единицы ферментативной активности.

Тема 6. Ферменты-"дирижеры". Факторы, определяющие активность ферментов.

Активаторы и ингибиторы Аллостерические ферменты: изменение конформации под действием эффекторов. Виды аллостерической регуляции: Два основных класса регуляторных ферментов: аллостерические и ферменты, регулируемые путём их ковалентной модификации. Аллостерический центр. Аллостерические эффекторы Гомотропная и гетеротропная аллостерическая регуляция. Ковалентная модификация ферментов: протеолиз и регуляция путём фосфорилирования - дефосфорилирования. Частичный протеолиз. Ингибирование ферментов. Ингибиторы. Определение. Специфические ингибиторы: Диизопропилфторфосфат (ДФФ). Какой процесс лежит в основе действия многих токсинов и ядов на организм. Рациональная химиотерапия. Избирательное ингибиторное действие на ферменты. Типы ингибирования: Несмотря на то что механизм действия большинства ингибиторов не выяснен, обратимое и необратимое ингибирование. Обратимое ингибирование: конкурентное и неконкурентное. Примеры. Конкурентное ингибирование Примеры. Метод конкурентного торможения в медицинской практике. Антиметаболиты как лекарственные препараты. Распределение ферментов в тканях и в клетке. Изоферменты и мультиферменты: особенности структурной организации, биологическая роль.

Тема 7. Кофакторы и коферменты Ферменты. Термины -"холофермент", "апофермент", "кофермент", "кофактор". Кофакторы: ионами металлов. Роль металлов в присоединении субстрата в активном центре фермента. Ионы металлов - стабилизаторы молекулы субстрата. Как представить схематично роль кофактора при взаимодействии фермента и субстрата. Ионы металла - стабилизаторы активного центра фермента. Роль металлов в стабилизации третичной и четвертичной структуры фермента. Роль металлов в ферментативном катализе: Участие в электрофильном катализе. Участие в окислительно-восстановительных реакциях. Роль металлов в регуляции активности ферментов. Коферменты. Локализация кофермента в активном центре фермента. Какими связями может быть связан кофермент с белковой частью молекулы фермента. Примеры коферментов, которые связываются ковалентными и нековалентными связями. Примеры соединений-коферментов. Мультисубстратные реакции. Механизм ферментативной реакции, типа "пинг-понг".

Тема 8. Регуляция активности ферментов. Определение активности ферментов Механизмы регуляции синтеза и каталитической активности ферментов. Характеристика активности ферментов в клетке. Способы регуляции активности ферментов: регуляция временем его синтеза и распада. Изменение количества фермента. Ограниченный (частичный) протеолиз проферментов. Регуляция активности ферментов путем ассоциации-диссоциации протомеров. Белок-белковое взаимодействие или регуляция путем ассоциации-диссоциации субъединиц в олигомерном ферменте. Основы количественного определения активности ферментов: Общие методы определения активности ферментов. Спектрофотометрические методы. Методы флюоресценции - спектрофлюорометрические методы. Колориметрические (фотометрические) методы. Фотометрические методы. Метод Фолина и Чиокальто. Манометрические методы. Другие методы: поляриметрия, вискозиметрия, потенцио- и кондуктометрические измерения и т.п. Методы определения активности протеолитических ферментов: Определение пепсина по Ансону и Мирскому. Определение протеолитических ферментов по Муру и Штейну. Микрометод определения активности протеиназ А.П.Алексеевко.

Тема 9. Прикладная энзимология. Имобилизованные ферменты. Модифицированные и рекомбинантные ферменты. Производство ферментных препаратов. Источники получения ферментных препаратов. Классификация и номенклатура ферментных препаратов. Источники получения ферментных препаратов. Способы выражения активности ферментных препаратов. Технология выделения ферментных препаратов из сырья растительного и животного происхождения. Технология получения ферментных препаратов из культур микроорганизмов. Получение товарных форм ферментных препаратов. Применение ферментов и ферментных препаратов в пищевой промышленности. Применение ферментных препаратов в молочной промышленности. Применение ферментных препаратов в хлебопечении. Применение пектолитических ферментных препаратов в виноделии.

3. Перечень учебно-методического обеспечения дисциплины (модуля)

- мультимедийные презентационные материалы по дисциплине (модулю) представлены в электронном курсе в ЭИОС МАУ;
- методические указания к выполнению лабораторных представлены в электронном курсе в ЭИОС МАУ;
- методические материалы для обучающихся по освоению дисциплины (модуля) представлены на официальном сайте МАУ в разделе «Информация по образовательным программам, в том числе адаптированным».

4. Фонд оценочных средств по дисциплине (модулю)

Является отдельным компонентом образовательной программы, разработан в форме отдельного документа, представлен на официальном сайте МАУ в разделе «Информация по образовательным программам, в том числе адаптированным». ФОС включает в себя:

- перечень компетенций с указанием этапов их формирования в процессе освоения дисциплины (модуля);
- задания текущего контроля;
- задания промежуточной аттестации;
- задания внутренней оценки качества образования.

5. Перечень основной и дополнительной учебной литературы (печатные издания, электронные учебные издания и (или) ресурсы электронно-библиотечных систем)

Основная литература:

1. Воронова, Т. Д. Ферменты: строение, свойства и применение : учебное пособие / Т. Д. Воронова, Н. А. Погорелова. — Омск: Омский ГАУ, 2021. — 134 с. — ISBN 978-5-89764-778-1. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/202247>.
2. Овчинникова, С. И. Практикум по энзимологии: учебное пособие / С. И. Овчинникова, О. В. Михнюк, Е. Б. Шкуратова. — Мурманск: МГТУ, 2016. — 104 с. — ISBN 978-5-86185-881-6. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/142596>.
3. Шлейкин, А. Г. Прикладная энзимология: учебное пособие : [16+] / А. Г. Шлейкин, Н. Н. Скворцова, А. Н. Бландов; Университет ИТМО. — Санкт-Петербург: Университет ИТМО, 2019. — 163 с.: ил. — Режим доступа: по подписке. — URL: <https://biblioclub.ru/index.php?page=book&id=564022>. — Библиогр.: с. 156 - 157. — Текст : электронный.

Дополнительная литература:

4. Емельянов, В. В. Биохимия: учебное пособие / В. В. Емельянов, Н. Е. Максимова, Н. Н. Мочульская; Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б. Н. Ельцина. — Екатеринбург: Издательство Уральского университета, 2016. — 134 с.: схем., табл., ил. — Режим доступа: по подписке. — URL: <https://biblioclub.ru/index.php?page=book&id=689897>.
5. Конструирование биореакторов будущего пищевых технологий (научно-прикладные аспекты) : учебник для вузов / С. Т. Антипов, С. А. Бредихин, А. И. Ключников [и др.] ; Под редакцией В. А. Панфилова. — Санкт-Петербург: Лань, 2022. — 524 с. — ISBN 978-5-8114-9350-0. — Текст: электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/221213>.
6. Северин, Е. С. Биохимия : учебник / под ред. Е. С. Северина. - 5-е изд. , испр. и доп. - Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2016. - 768 с. - ISBN 978-5-9704-3762-9. - Текст: электронный // ЭБС "Консультант студента": [сайт]. - URL: <https://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970437629.html>.

6. Профессиональные базы данных и информационные справочные системы

- 1) Государственная система правовой информации - официальный интернет-портал правовой информации- URL: <http://pravo.gov.ru>
- 2) Информационная система «Единое окно доступа к образовательным ресурсам»_- URL: <http://window.edu.ru>
- 3) Справочно-правовая система. Консультант Плюс - URL: <http://www.consultant.ru/>

7. Перечень лицензионного и свободно распространяемого программного обеспечения, в том числе отечественного производства

- 1) *Офисный пакет Microsoft Office 2007*
- 2) *Система оптического распознавания текста ABBYY FineReader*

8. Обеспечение освоения дисциплины лиц с инвалидностью и ОВЗ

Обучающиеся из числа инвалидов и лиц с ОВЗ обеспечиваются печатными и (или) электронными образовательными ресурсами в формах, адаптированных к ограничениям их здоровья.

9. Материально-техническое обеспечение дисциплины (модуля) представлено в приложении к ОПОП «Материально-технические условия реализации образовательной программы» и включает:

- учебные аудитории для проведения учебных занятий, предусмотренных программой магистратуры, оснащенные оборудованием и техническими средствами обучения;
- помещения для самостоятельной работы обучающихся, оснащенные компьютерной техникой с возможностью подключения к сети «Интернет» и обеспечением доступа к электронной информационно-образовательной среде МАУ;

Допускается замена оборудования его виртуальными аналогами.

10. Распределение трудоемкости по видам учебной деятельности

Таблица 1 - Распределение трудоемкости

Вид учебной деятельности	Распределение трудоемкости дисциплины (модуля) по формам обучения			
	Очная			
	Семестр			Всего часов
	6			
Лекции	12			12
Лабораторные работы	16			16
Самостоятельная работа	44			44
Подготовка к промежуточной аттестации	-			-
Всего часов по дисциплине / из них в форме практической подготовки	72			72
Экзамен	-			-
Зачет/зачет с оценкой	+/-			+/-

Перечень лабораторных работ по формам обучения

№ п\п	Темы лабораторных работ
1	2
Очная форма	
1	Обнаружение действия отдельных ферментов.
2	Физико-химические свойства ферментов. Специфичность действия. Влияние pH, температуры на активность ферментов.
3	Количественное определение активности пепсина по методу Пятницкого.
4	Фотоколориметрический метод определения активности трипсина.
5	Определение активности трипсина методом формольного титрования.
6	Определение активности амилазы методом Вольгемута.
7	Количественное определение активности липазы.
8	Определение активности фермента внутренней митохондриальной мембраны – сукцинатдегидрогеназы.