

Федеральное агентство научных организаций (ФАНО России)  
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
**ИНСТИТУТ БИОРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ**  
им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова  
Российской академии наук  
( ИБХ РАН )

СОГЛАСОВАНО:  
Ученый совет ИБХ РАН  
Протокол №10 от «22» октября 2014 г.

УТВЕРЖДАЮ:  
Директор ИБХ РАН

  
Ученый секретарь  
д.ф.-м.н. В.А.Олейников

  
академик В.Т.Иванов

«22» октября 2014 г.

«22» октября 2014 г.



## РАБОЧАЯ ПРОГРАММА

по дисциплине Б1.В.ОД.1.3

## СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ ПЕПТИДОВ И БЕЛКОВ

**Направление подготовки:** 06.06.01 Биологические науки

**Направленность (профиль) программы:**

03.01.06 Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)

**Уровень высшего образования:**

подготовка научно-педагогических кадров в аспирантуре

**Квалификация выпускника:** Исследователь. Преподаватель-исследователь.

**Форма обучения:** очная

Автор: д.х.н. Т.В.Овчинникова

Составители содержания отдельных разделов курса лекций:  
д.х.н. Т.В.Овчинникова (1,2,6,7), д.х.н. В.Т.Иванов (3,4,5), к.б.н. О.Ю.Белогурова-  
Овчинникова (8,9,10,11), д.х.н. Л.Д.Румш (12,13), к.х.н. М.Е.Попов (14),  
к.х.н. А.А.Белогуров (15)

Составители содержания отдельных разделов практикума:  
д.х.н. Т.В.Овчинникова (1), А.А.Тагаев (2), к.х.н. Н.М. Владимирова (3),  
к.х.н. Е.И.Финкина (4)

*Рабочая программа составлена на основании федерального государственного образовательного стандарта, разработанного для реализации основных профессиональных образовательных программ высшего образования – программ подготовки научно-педагогических кадров в аспирантуре по направлению подготовки кадров высшей квалификации 06.06.01 «Биологические науки».*

### Введение

Согласно Федеральному государственному образовательному стандарту высшего образования по направлению подготовки 06.06.01 Биологические науки (уровень подготовки кадров высшей квалификации), утвержденному приказом Минобрнауки РФ № 871 от 30 июля 2014 г., и учебному плану аспирантов, разработанного на основе этого стандарта, дисциплина «Структура и функции пептидов и белков» является обязательной учебной дисциплиной модуля вариативной части Блока 1 образовательной программы по направленности (профилю) 03.01.06 Биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Объём курса составляет 4 зачетных единицы или 144 академических часа, из них 34 академических часов лекций, 24 академических часов практических занятий (семинаров), 36 академических часов лабораторных работ и 46 академических часов самостоятельной внеаудиторной работы аспирантов, включая подготовку к дифференцированному зачету и 4 часа на контроль знаний.

### Требования к результатам освоения дисциплины

В рамках данной дисциплины углубляются и развиваются следующие компетенции:

#### **Универсальные компетенции:**

- способность к критическому анализу и оценке современных научных достижений, генерированию новых идей при решении исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях (УК-1);
- способность планировать и решать задачи собственного профессионального и личностного развития (УК-5).

#### **Общепрофессиональные компетенции:**

- способность самостоятельно осуществлять научно-исследовательскую деятельность в соответствующей профессиональной области с использованием современных методов исследования и информационно-коммуникационных технологий (ОПК-1);
- готовность к преподавательской деятельности по основным образовательным программам высшего образования (ОПК-2).

#### **Профессиональные компетенции:**

- способность к самостоятельному проведению научно-исследовательской работы и получению научных результатов, удовлетворяющих установленным требованиям к содержанию диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук по направленности (профилю) «Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)» (ПК-1);
- обладание представлениями о системе фундаментальных понятий и методологических аспектов биологии, форм и методов научного познания (ПК-2);

- способность приобретать новые знания с использованием современных научных методов и владение ими на уровне, необходимом для решения задач, возникающих при выполнении профессиональных функций (ПК-3);
- обладание опытом профессионального участия в научных дискуссиях, умение представлять полученные в исследованиях результаты в виде отчетов и научных публикаций (стендовые доклады, рефераты и статьи в периодической научной печати) (ПК-4);
- владение методами отбора материала, преподавания и основами управления процессом обучения фундаментальной биологии в школе и вузе (ПК-5).

В результате освоения дисциплины «Структура и функции пептидов и белков» обучающиеся должны знать:

- основные классы биологически активных пептидов;
- типы взаимодействий, определяющих пространственную структуру полипептидов;
- конфигурацию пептидной связи и принципы образования пептидной связи;
- современные возможности пептидного синтеза;
- химические и ферментативные методы расщепления полипептидной цепи белка;
- определение аминокислотной последовательности белка;
- принципы международной классификации ферментов;
- природу и характеристику видов взаимодействий в фермент-субстратных комплексах;
- методы критического анализа и оценки современных научных достижений, а также методы генерирования новых идей при решении исследовательских и практических задач, в том числе, в междисциплинарных областях;
- современные способы использования информационно-коммуникационных технологий;

уметь:

- проводить химические и ферментативные методы расщепления полипептидной цепи белка;
- определять аминокислотный состав и аминокислотную последовательность белка;
- использовать основные законы естественнонаучных дисциплин в профессиональной деятельности;
- выбирать необходимые методы и оборудование для проведения исследований;
- работать с научно-технической информацией;
- выделять и систематизировать основные идеи в научных текстах; критически оценивать любую поступающую информацию, вне зависимости от источника;
- при решении исследовательских и практических задач генерировать новые идеи;
- выбирать и применять в профессиональной деятельности экспериментальные методы исследования;

владеть:

- навыками выбора методов и средств решения задач исследования структуры и функций пептидов и белков;
- методами теоретического и экспериментального исследования структуры и функций пептидов и белков;
- навыками проведения химических и ферментативных методов расщепления полипептидной цепи белка;
- навыками определения аминокислотного состава и аминокислотной последовательности белка;
- навыками поиска (в том числе с использованием информационных систем и баз данных), обработки, анализа и систематизации информации;
- навыками критического анализа и оценки современных научных достижений.

## **I. Рабочая программа дисциплины**

### **1. Цели и задачи изучения дисциплины**

### **1.1. Краткое описание назначения дисциплины**

Белки – важнейший класс биологически активных веществ, играющих ключевую роль в клетке и присутствующих в любых формах живой материи, начиная от микроорганизмов и заканчивая высшими животными и человеком. Химии белка принадлежит ведущая роль в формировании у будущих исследователей и преподавателей научного мировоззрения и современного биолого-химического мышления, достаточной теоретической базы для успешного усвоения аспирантами общепрофессиональных и специальных дисциплин. В процессе изучения химии белка происходит ознакомление аспирантов с современной научной литературой, вырабатываются навыки практической работы с белково-пептидными веществами, а также умение решать конкретные профессионально ориентированные задачи в объёме, установленном ФГОС высшего образования по направлению подготовки 06.06.01 Биологические науки (уровень подготовки кадров высшей квалификации – подготовка научно-педагогических кадров в аспирантуре), утвержденном приказом Минобрнауки РФ №871 от 30 июля 2014 г.

**1.1. Цель курса:** ознакомление аспирантов с теоретическими основами и практическими методами современной химии белка. Курс охватывает практически весь комплекс вопросов, связанных со структурно-функциональным изучением белково-пептидных веществ как важнейших компонентов живой материи. Особое внимание уделено биологической роли и новейшим методам изучения строения пептидов и белков. Наряду с описанием основных методов определения первичной структуры в программу курса включены разделы, связанные с изучением пространственного строения белково-пептидных веществ. В отдельных разделах курса представлены общие принципы пептидного синтеза. В программе курса отражены современные достижения в области изучения структуры и функции пептидов и белков.

**1.2. Задачи курса:** рассмотрение и усвоение теоретических основ современной химии белка и практических методов структурно-функционального исследования пептидов и белков.

#### **1.3. Связь с другими дисциплинами**

Химия белка как наука о наиболее общих закономерностях в структуре и функции белково-пептидных молекул, а, следовательно, о наиболее общих законах живой природы, в той или иной степени имеет непосредственную связь практически со всеми дисциплинами, изучаемыми на протяжении всего времени овладения аспирантами образовательной программы аспирантов по направлению подготовки 06.06.01 Биологические науки. Курс «Структура и функции пептидов и белков» является базовым курсом при подготовке специалистов в области биохимии, молекулярной биологии и биотехнологии.

### **II. Требования к уровню освоения дисциплины**

В процессе изучения теоретической части курса «Структура и функции пептидов и белков» делается упор на химические основы функционирования белково-пептидных молекул в клетке. При этом везде, где это позволяет уровень химической подготовки аспирантов, рассматриваются химические формулы и реакции, структурные аспекты межмолекулярных взаимодействий, позволяющие устанавливать причинно-следственные связи при рассмотрении многообразных биологических функций белково-пептидных веществ. При выполнении лабораторных работ ставится цель освоения наиболее современных экспериментальных методов исследования пептидов и белков и анализа полученных результатов с точки зрения их соответствия фундаментальным принципам химии белка. Основным критерием качества выполнения этого вида учебной работы аспирантов как в учебных аудиториях, так и при выполнении домашних заданий является самостоятельность, для обеспечения которой применяются различные методические приёмы. При выполнении лабораторных работ необходимо самостоятельно выполнить все эксперименты и измерения, предусмотренные данной работой, оформить отчёт о проделанной работе и, если необходимо, произвести вычисления искомых величин и представить их обработку в виде графиков или числовых значений искомой величины с указанием абсолютной и относительной ошибки результата. Сдача отчёта о выполненных лабораторных работах производится в форме защиты, которая

может проводиться в устной или письменной форме ответов на контрольные вопросы по теории и о порядке выполнения работы или в тестовой форме на компьютерах. Аспиранты, не выполнившие план и не сдавшие отчёты по лабораторному практикуму, к итоговому зачету по предмету не допускаются. В течение семестра аспиранты должны прослушать лекции и посетить семинары по 16 темам, указанным в блок-схеме курса. По теоретической части курса аспиранты должны иметь конспекты прослушанных лекций, материалы проработки вопросов, вынесенных на самостоятельное изучение, а также оценки промежуточных контролей.

### III. Объем дисциплины и виды учебной работы

Форма обучения – ОЧНАЯ

Общий объем дисциплины: 4 зачетных единицы или 144 академических часа.

Всего часов	Аудиторные занятия (час), в том числе:			Самостоятельная Работа (час)	Контроль (час)
	лекции	практические занятия (семинары)	лабораторные работы		
144	34	24	36	46	4
	94				

#### Распределение аудиторных часов по темам и видам учебной работы

№	Наименование тем и разделов (с развернутым содержанием курса по каждой теме и разделу)	Аудиторные занятия (час), в том числе:	
		Лекции	Семинары
1	Аминокислоты	4	2
2	Основные этапы развития знаний о структуре и функциях пептидов и белков. Биологическая роль белков	2	-
3	Пептиды Биологическая роль пептидов	2	2
4	Химический синтез пептидов	2	2
5	Пространственная структура пептидов и белков Вторичная структура Третичная структура белков. Четвертичная структура белков.	2	2
6	Первичная структура белков	4	2
7	Химическая модификация белков	2	2
8	Функциональная значимость особенностей вторичной и третичной структуры глобулярных белков.	2	-
9	Фибриллярные белки. Прионы и амилоиды.	2	2
10	Биосинтез и сортировка белков в клетке. Шапероны и шаперонины.	2	2
11	Посттрансляционная модификация белков	2	2

12	Принципы структурной организации ферментов	2	2
13	Основные концепции и молекулярные механизмы ферментативного катализа.	2	2
14	Ферментативная кинетика. Молекулярное компьютерное моделирование в энзимологии	2	2
15	Протеолитическая деградация белка в клетке Каталитические антитела	2	-
	<b>Всего:</b>	34	24
	<b>Итого:</b>	58	

#### IV. Содержание курса

##### «СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ ПЕПТИДОВ И БЕЛКОВ»

###### Цели и задачи курса:

- 1) изучение теоретических основ структурной организации и биологической активности пептидов и белков, овладение фундаментальными понятиями и теориями классической и современной биоорганической химии;
- 2) овладение физико-химическими методами исследования белково-пептидных веществ, навыками и приемами практической работы с пептидами и белками;
- 3) ознакомление с современной научной аппаратурой, формирование навыков экспериментальной работы в области исследования структуры и функции пептидов и белков;
- 4) обучение умению выделить конкретное биолого-химическое содержание в прикладных задачах будущей специальности;
- 5) формирование научного понимания современных проблем биоорганической химии.

###### Раздел 1

###### Аминокислоты

Номенклатура, строение. Генетически кодируемые аминокислоты. Оптическая изомерия  $\alpha$ -аминокислот. Кислотно-основные характеристики. Химические свойства: реакции  $\alpha$ -амино- и  $\alpha$ -карбоксовой группы, функциональных групп боковых цепей. Методы синтеза аминокислот.

###### Раздел 2

###### Основные этапы развития знаний о структуре и функциях пептидов и белков. Биологическая роль белков

Ферменты. Белки-гормоны. Инсулин, гормон роста. Механизм действия белковых гормонов. Аденилатциклазная система. Защитные белки. Иммуноглобулины. Система комплемента. Медиаторы иммунного ответа: интерфероны, цитокины. Белки системы гемостаза. Двигательные белки. Актинмиозиновый комплекс. Белки бактериальной системы подвижности. Структурные белки. Коллаген, кератин, фиброин. Рецепторные белки. Зрительный родопсин, ацетилхолиновый рецептор постсинаптических мембран. Регуляторные белки. Транспортные белки. АТФазы. Цитохром *c*, гемоглобин, сывороточный альбумин. Белки-токсины микробного и растительного происхождения. Зоотоксины. Белково-пептидные антибиотики. Дефенсины. Запасные белки. Казеин, овальбумин, ферритин.

###### Раздел 3

###### Структура и функции пептидов

### **3.1. Структура пептидов**

Природа пептидной связи. Гомодетные и гетеродетные пептиды, депсипептиды. Линейные и циклические пептиды. Ионофоры.

### **3.2. Биологическая роль пептидов**

Пептидные гормоны и релизинг-факторы. Нейропептиды. Представление о пептидах нейротрансмиттерах, нейромодуляторах, коннекторах. Энкефалины и эндорфины. Окситоцин и вазопрессин. Гормоны желудочно-кишечного тракта, щитовидной железы, тимуса, тканевые гормоны. Иммуноактивные пептиды. Пептидные токсины и антибиотики. Пептиды как лекарственные средства.

## **Раздел 4**

### **Химический синтез пептидов**

Методы защиты функциональных групп. Создание пептидной связи: методы смешанных ангидридов, активированных эфиров, карбодиимидный и карбоксиангидридный методы конденсации. Проблема рацемизации. Представление о блочном и ступенчатом синтезе пептидов. Твердофазный синтез пептидов. Синтез циклических пептидов.

## **Раздел 5**

### **Пространственная структура пептидов и белков**

#### **5.1. Уровни структурной организации белков**

Понятие о вторичной, третичной и четвертичной структурах. Электронное строение и конфигурация пептидной связи. Углы  $\phi$ ,  $\psi$ ,  $\omega$ . Карты Рамачандрана. Типы взаимодействий, определяющие пространственную структуру полипептидов. Связь пространственной структуры белка с аминокислотной последовательностью. Роль молекулярных шаперонов.

#### **5.2. Вторичная структура пептидов и белков**

$\alpha$ -Спираль,  $3_{10}$ -спираль, параллельная и антипараллельная  $\beta$ -структуры,  $\beta$ -изгиб, другие типы регулярных структур полипептидной цепи. Сверхвторичная структура белков. Понятие о доменах.

#### **5.3. Третичная структура белков**

Использование рентгеноструктурного анализа и ЯМР-спектроскопии для изучения пространственного строения белков. Денатурация и ренатурация.

#### **5.4. Четвертичная структура белков**

Примеры субъединичных структур. Методы исследования четвертичной структуры.

## **Раздел 6**

### **Первичная структура белков**

Общая стратегия определения аминокислотной последовательности. Анализ аминокислотного состава. Определение N- и C-концевых аминокислотных остатков. Фрагментация полипептидной цепи. Ферментативные методы гидролиза. Ограниченный протеолиз. Химические методы расщепления полипептидной цепи по остаткам метионина, триптофана, цистеина и по связям Asn-Gly, Asp-Pro. Последовательная деградация пептидов по методу Эдмана с идентификацией фенилтиогидантоинов и дансиламинокислот. Автоматическое секвенирование белков. Использование масс-спектрометрии для анализа структуры и идентификации белков. Понятие о протеомике. Анализ расположения сульфгидрильных групп и дисульфидных связей. Сложные белки: глико-, липо-, нуклео-, хромо-, фосфо- и металлопротеины.

## **Раздел 7**

### **Химическая модификация белков**

Задачи, решаемые с помощью химической модификации. Специфическая модификация  $\alpha$ - и  $\epsilon$ -аминогрупп и карбоксильных групп в белках. Модификация остатков гистидина, метионина, тирозина, триптофана, цистеина. Бифункциональные реагенты. Введение флуоресцентных,

спиновых и фотоаффинных меток. Методы идентификации модифицированных аминокислотных остатков. Биоспецифическая модификация белков.

## Раздел 8

### Функциональная значимость особенностей вторичной и третичной структуры глобулярных белков

Особенности пространственной структуры глобулярных белков как основа их функционального разнообразия. Понятие структурных мотивов глобулярных белков: кальций-связывающий мотив (EF-рука),  $\beta$ -шпильки, греческий ключ,  $\beta$ - $\alpha$ - $\beta$ -мотив и др. Доменная организация белков; классы доменных структур:  $\alpha$ -спиральные домены,  $\beta$ -структурные домены,  $\alpha/\beta$ -домены,  $\alpha+\beta$ -домены. Характерные белковые представители доменных классов и их функции.

## Раздел 9

### Фибриллярные белки. Прионы и амилоиды

Особенности структуры фибриллярных белков. Структура  $\alpha$ -кератина,  $\beta$ -фиброина шелка, коллагена. Белки внеклеточного матрикса. Структура мышечных фибрилл, актин-миозиновый комплекс. Структура амилоидных фибрилл. Прионные заболевания. Болезнь Альцгеймера и бета-амилоидные фибриллы.

## Раздел 10

### Биосинтез и сортировка белков в клетке. Шапероны и шаперонины

Общая схема биосинтеза белка. Информационная РНК, ее структура, функциональные участки. Понятие генетического кода. Транспортная РНК. Первичная, вторичная, третичная структура РНК, роль модифицированных нуклеотидов. Аминоацилирование тРНК, аминоацил-тРНК-синтетазы, их структура и механизм действия. Прокариотический и эукариотический типы рибосом. Стадии трансляции: инициация, элонгация и терминация. Роль сигнальных пептидов при сортировке белков. Импорт белков в клеточные органеллы: ядро, митохондрии, эндоплазматический ретикулум, аппарат Гольджи, пероксисомы, хлоропласты. Роль шаперонов и шаперонинов. Hsp70 шапероны. Структура GroEL/GroES системы.

## Раздел 11

### Посттрансляционная модификация белков

Неферментативная посттрансляционная модификация. Ферментативная посттрансляционная модификация с расщеплением полипептидной цепи. Ковалентная посттрансляционная модификация  $\alpha$ -амино- и  $\alpha$ -карбоксильных групп. Метилирование, гидроксильное, введение дополнительной карбоксильной группы, фосфорилирование, гликозилирование, АДФ-рибозилирование, пренилирование, сульфатирование и убиквитинилирование белков. Время жизни белков в клетке.

## Раздел 12

### Ферменты

#### 12.1. Принципы структурной организации ферментов

Основные различия ферментативного и химического катализа. Гипотеза Э. Фишера. Понятия о специфичности и эффективности ферментативного катализа. Установление белковой природы ферментов. Открытие рибозимов. Подходы к классификации ферментов: классификация международного биохимического союза (EC) и классификация протеолитических ферментов MEROPS. Основные принципы структурной организации ферментов; уникальность феномена биокатализа; специфичность и эффективность. Особенности строения активных центров ферментов; субстрат-связывающий и каталитические участки активного центра; каталитические остатки и коферменты; подвижность групп активного центра. Межатомные взаимодействия в фермент-субстратных комплексах.

#### 12.2. Основные концепции биокатализа



Представление о способах понижения ферментом активационного барьера химической реакции. Диаграмма зависимости энергии системы от координаты реакции. Концепции биокатализа. Гипотетические концепции напряжения и деформации. Основные положения и характерные черты. Концепция индуцированного соответствия Д. Кошланда. Основные постулаты и понятия, динамическая комплементарность фермента и субстрата, факторы катализа. Концепция стабилизации переходного состояния. Отличие от концепций дестабилизации основного состояния, экспериментальные подтверждения, примеры.

### **Раздел 13**

#### **Молекулярные механизмы ферментативного катализа**

Типы катализа протеиназами. Классификация протеиназ по типу катализа и строению активного центра. Молекулярный механизм действия сериновых протеиназ. Понятие о ковалентном типе катализа. Стереохимические особенности отдельных стадий каталитической реакции. Ацилфермент при катализе протеиназами. Строение, получение, реакция транспептидации. Молекулярный механизм действия аспартатных протеиназ. Понятие об общем катализе. Стереохимические особенности стадий каталитической реакции под действием пепсина. Молекулярный механизм действия лизоцима. Стереохимические особенности стадий каталитической реакции под действием лизоцима. Молекулярный механизм действия аспаратаминотрансферазы.

### **Раздел 14**

#### **Ферментативная кинетика**

##### **14.1. Кинетика ферментативных реакций**

Основные кинетические кривые. Стадии ферментативной реакции. Понятие начальной скорости. Принцип стационарности. Зависимость начальной скорости реакции от концентрации субстрата в кинетике Михаэлиса. Фермент-субстратный комплекс. Форма кинетической кривой. Кинетика Михаэлиса-Ментен. Основное уравнение для начальной скорости реакции. Физический смысл констант. Линеаризация основного уравнения. Практическая значимость. Примеры. Ингибирование. Типы ингибирования. Влияние ингибиторов на форму кинетических кривых. Примеры ковалентных и нековалентных ингибиторов протеиназ. Структурные формулы ингибиторов и принципы ингибирования.

##### **14.2. Молекулярное компьютерное моделирование в энзимологии**

Теоретические подходы к моделированию фермент-субстратных комплексов. Механические и квантовые молекулярные модели. Расчетное и графическое программное обеспечение. Оценка стереохимической продуктивности фермент-субстратных комплексов. Моделирование по гомологии.

### **Раздел 15**

#### **Деградация белка**

##### **15.1. Протеолитическая деградация белка в клетке**

Лизосомный и протеасомный пути деградации белков в клетке. Мультикаталитические протеиназные комплексы. Строение и механизм работы 26S протеасомы. Убиквитин и его роль в протеолитической деградации. Убиквитин-подобные белки. Неканонические сигналы протеасомной деградации. Лекарственные средства на основе ингибиторов протеасомы.

##### **15.2. Каталитические антитела**

Искусственные и природные каталитические антитела. Формирование активного центра каталитических антител. Методики получения и направленной эволюции каталитических антител. Причины возникновения природных каталитических антител. Физиологическая значимость каталитических антител при аутоиммунных заболеваниях человека.

## **V. Практические занятия**

Практические занятия по курсу «Структура и функции пептидов и белков» призваны заложить фундамент, на котором будущий выпускник аспирантуры будет самостоятельно проводить научные исследования и осуществлять разработку технической документации в рамках прикладных проектов. В связи с этим на практических занятиях предполагается проработать темы теоретического курса в учебных аудиториях под руководством преподавателя. Учебные аудитории оборудованы мультимедийной техникой для демонстрации иллюстративного материала в форме презентаций, подготовленных преподавателем или аспирантами при выполнении домашних заданий. Как правило, практические занятия по теме проводятся после прослушанной на эту тему лекции. Преподаватель может предложить аспирантам подготовить рефераты по выбранной теме или научной статье и сделать устные сообщения на практическом занятии. В ходе контроля за выполнением задания на занятиях в учебном классе преподаватель выступает в роли консультанта. По окончании каждого семестра проводится итоговое собеседование, на котором решается вопрос об окончательной оценке по этому виду занятий. Аспирант, не выполнивший план практических занятий, к экзамену не допускается.

## **VI. Лабораторные работы (лабораторный практикум)**

Лабораторный практикум как составная часть учебного процесса по дисциплине «Структура и функции пептидов и белков» обеспечивает прочную связь познавательной и профессиональной направленности учебного процесса. Относительная доля времени, отводимого на этот вид учебных занятий, имеет тенденцию к увеличению и составляет не менее 1/3 от общего числа часов аудиторных занятий. В ходе лабораторного практикума достигаются следующие цели:

- 1) подготовка к работе в научной лаборатории путем освоения правил охраны труда и техники безопасности;
- 2) ознакомление с принципами действия и устройством приборов и измерительного оборудования и овладение приемами получения биологических и химических характеристик исследуемых объектов, а также измерений физических величин;
- 3) приобретение навыков экспериментальной работы и ознакомление с методами статистической обработки полученных данных;
- 4) наглядное подтверждение теоретических положений, излагаемых в лекционном курсе, способствующее более глубокому пониманию и усвоению основных положений курса.

Выполнение аспирантом программы лабораторного практикума создает базу для подготовки выпускника аспирантуры к решению профессиональных задач и самостоятельным научным исследованиям. Лабораторный практикум проводится на современном оборудовании в лабораторных помещениях, специализированных по разделам программы курса. Лабораторный практикум проводится в соответствии с расписанием занятий и графиками выполнения лабораторных работ. Перечень лабораторных работ приведен ниже:

### **Лабораторная работа №1**

**Методы выделения и очистки белков. Обессоливание. Диализ. Концентрирование. Центрифугирование. Ультрафильтрация**

**Составитель программы: А.А.Тагаев**

#### **1. Пояснительная записка**

**1.1. Целью** лабораторной работы является освоение теоретических основ методов выделения и очистки белков и получение навыков практического применения этих методов в экспериментальной работе.

**1.2. Задачи** лабораторной работы: выработать у аспирантов практические навыки работы с лабораторным оборудованием, центрифугами, ячейками для ультрафильтрации, патронами для твердофазной экстракции (ТФЭ) и умение корректно оформить результаты экспериментальной работы в виде письменного отчёта.

### 1.3. Трудоемкость выполнения: 5 часов.

Всего часов	Аудиторные занятия (час), в том числе:			Самостоятельная работа (час)
	лекции	практические занятия (семинары)	лабораторные работы	
9	-	-	5	4
	5			

### 1.4. Распределение аудиторных часов курса по темам и видам работ:

№	Наименование тем и разделов	Аудиторные занятия (час), в том числе:		
		лекции	практические занятия (семинары)	лабораторные работы
1	Особенности разделения белковых препаратов. Освоение методов подготовки биологического сырья, способов гомогенизации клеток, получения бесклеточного экстракта.	-	-	1
2	Понятие о дифференциальном, зонально-скоростном и равновесном (изоопническом) центрифугировании. Ознакомление с принципом работы ультрацентрифуги (Beckman J2-21, США).	-	-	1
3	Разделение белков путем осаждения. Высаливание как метод фракционирования белков.	-	-	1
4	Ультрафильтрация, обессоливание и концентрирование белковых растворов. Различные типы ячеек для ультрафильтрации, подбор фильтров.	-	-	1
5	Твердофазная экстракция, типы сорбентов, особенности работы на патроне ТФЭ. Подготовка пробы и концентрирование белковых растворов с помощью ТФЭ.	-	-	1
	<b>Всего:</b>	-	-	5
	<b>Итого:</b>	5		

### 2. Перечень тем лабораторных занятий:

- 2.1. Этапы выделения белков и пептидов. Подготовка биологического сырья. Методы гомогенизации.
- 2.2. Центрифугирование как метод разделения и очистки биополимеров. Методы центрифугирования. Выбор оптимальных параметров процесса для решения поставленных задач. Центрифуги и роторы: принципы работы и техника безопасности при работе с оборудованием.
- 2.3. Методы разделения белков и пептидов, основанные на различиях в растворимости. Экстракция, осаждение, высаливание.
- 2.4. Подготовка пробы и концентрирование белковых растворов. Лиофилизация, ультрафильтрация, твердофазная экстракция.

3. **Форма промежуточного контроля** и оценки знаний по разделу практикума – зачет.

#### 4. Вопросы для контроля знаний

1. Теория седиментации. Константа и коэффициент седиментации.
2. Методы центрифугирования: скоростная седиментация и изопикнические методы.
3. Очистка биополимеров осаждением. Высаливание белков.
4. Принцип твердофазной экстракции. Особенности работы на патроне ТФЭ.

### Лабораторная работа №2 Хроматографические методы выделения и очистки белков

Составитель программы: А.А.Тагаев

#### 1. Пояснительная записка

**1.1. Целью** лабораторной работы является освоение теоретических основ хроматографических методов выделения и очистки белков и получение навыков практического применения этих методов в экспериментальной работе.

**1.2. Задачи** лабораторной работы: выработать у аспирантов практические навыки работы с лабораторным оборудованием, хроматографами, детекторами, коллекторами фракций, насосами, хроматографическими колонками, инжекторами, микрошприцами, автоматическими пипетками и умение корректно оформить результаты экспериментальной работы в виде письменного отчёта.

**1.3. Трудоемкость выполнения:** 5 часов.

Всего часов	Аудиторные занятия (час), в том числе:			Самостоятельная работа (час)
	лекции	практические занятия (семинары)	лабораторные работы	
9	-	-	5	4
	-	-	5	
	5			

#### 1.4. Распределение аудиторных часов курса по темам и видам работ

№	Наименование тем и разделов	Аудиторные занятия (час), в том числе:		
		лекции	практические занятия (семинары)	лабораторные работы
1	Устройство и основные принципы работы хроматографов высокого давления. Техника безопасности при работе на хроматографах высокого давления и при приготовлении элюирующих растворов.	-	-	1
2	Основные принципы разделения белков и пептидов различными хроматографическими методами.	-	-	1
3	Теоретические основы разделения белков методами гель-фильтрации, ионообменной и адсорбционной хроматографии. Представление о материалах матриц сорбентов.	-	-	1

	Требования, предъявляемые к сорбентам при разделении белков и пептидов. Оптимизация условий фракционирования белков. Неспецифические взаимодействия.			
4	Теоретические основы высокоэффективной жидкостной хроматографии при высоком (HPLC) или умеренном (FPLC) давлении. Представление об эффективности и селективности.	-	-	1
5	Разделение антибиотиков-пептаи-болов методом обращенно-фазовой HPLC. Анализ полученных результатов.	-	-	1
	<b>Всего:</b>	-	-	5
	<b>Итого:</b>	5		

## 2. Перечень тем лабораторных занятий

1. Техника безопасности в лаборатории при работе на хроматографах высокого давления.
2. Теоретические основы разделения белков методами гель-фильтрации, ионообменной и адсорбционной хроматографии. Представление о материалах матриц сорбентов. Требования, предъявляемые к сорбентам при разделении белков и пептидов. Оптимизация условий фракционирования белков. Неспецифические взаимодействия.
3. Теоретические основы высокоэффективной жидкостной хроматографии при высоком (HPLC) или умеренном (FPLC) давлении. Представление об эффективности и селективности, коэффициенте распределения и коэффициенте разрешения. Освоение жидкостного хроматографа высокого давления (System Gold, Beckman, США / HPLC System 302, Gilson, Франция).
3. **Форма промежуточного контроля** и оценки знаний по разделу практикума – зачет.

## 4. Вопросы для контроля знаний

1. Качественная характеристика вещества при хроматографии.
2. Как определяется объём неподвижной фазы?
3. Почему подбирают такие условия хроматографического разделения, при которых коэффициент ёмкости лежит в диапазоне от 1,5 до 4?
4. Почему уменьшение размера частицы сорбента приводит к улучшению разделения компонентов смеси?
5. Что такое «теоретическая тарелка»?
6. Как коэффициент диффузии вещества влияет на высоту теоретической тарелки?
7. Почему необходимо дегазировать элюирующие растворы при проведении ВЭЖХ?
8. В чём различие между сильными и слабыми ионообменниками?
9. Почему аффинная хроматография не является хроматографическим процессом?
10. Почему попавшие на кожу реактивы необходимо смывать проточной холодной водой?

## Работа №3

### Электрофорез и электроблоттинг белков

Составитель программы: к.х.н. Н.М.Владимирова

## 1. Пояснительная записка

**1.1. Целью** лабораторной работы является освоение теоретических основ электрофоретических методов выделения и анализа белков и получение навыков практического применения этих методов в экспериментальной работе.

**1.2. Задачи** лабораторной работы: выработать у аспирантов практические навыки работы с лабораторным оборудованием для проведения электрофореза и элетроблоттинга и умение корректно оформить результаты экспериментальной работы в виде письменного отчёта.

**1.3. Трудоемкость выполнения:** 6 часов.

Всего часов	Аудиторные занятия (час), в том числе:			Самостоятельная работа (час)
	лекции	практические занятия (семинары)	лабораторные работы	
9				3
	-	-	6	
	6			

**1.4. Распределение аудиторных часов курса по темам и видам работ:**

№	Наименование тем и разделов	Аудиторные занятия (час), в том числе:		
		лекции	практические занятия (семинары)	лабораторные работы
1	Представление о принципах электрофоретического разделения белков в различных типах полиакриламидного геля (ПААГ): однородного, ступенчатого, градиентного. Теоретические основы полимеризации гелей, выбор оптимального геля для конкретной научной задачи.	-	-	1
2	Приготовление рабочих растворов для заливки пластин, электролитического разделения, элетроблоттинга. Заливка пластин. Приготовление растворов красителей.	-	-	1
3	Разделение белков по методу Лэммли в денатурирующих условиях ПААГ-электрофореза в присутствии SDS. Детектирование белков на геле.	-	-	1
4	Электроперенос (элетроблоттинг) белков из ПААГ на мембраны иммобиллона. Проявление белков на мембранах различными методами.	-	-	1
5	Представление о различных типах мембран и оценка возможности их применения для структурного анализа и детекции белков. Детекция белков на гелях и мембранах.	-	-	1
6	Расчет молекулярных масс белков на основании анализа их электрофоретической подвижности. Оформление результатов экспериментов в рабочем журнале.	-	-	1
<b>Всего:</b>		-	-	6
<b>Итого:</b>		6		

## 2. Перечень тем лабораторных занятий

1. Техника безопасности в лаборатории при работе на хроматографах высокого давления.
2. Представление о принципах электрофоретического разделения белков в различных типах полиакриламидного геля (ПААГ): однородного, ступенчатого, градиентного. Теоретические основы полимеризации гелей. Выбор оптимального состава геля для решения конкретной научной задачи.
3. Приготовление рабочих растворов для заливки пластин, электролитического разделения, электроблоттинга. Заливка пластин. Приготовление растворов красителей.
4. Разделение белков по методу Лэммли в денатурирующих условиях ПААГ-электрофореза в присутствии SDS. Детектирование белков в геле.
5. Электроперенос (электроблоттинг) белков из ПААГ на мембраны иммобиллона. Представление о различных типах мембран и оценка возможности их применения для структурного анализа и детекции белков. Детекция белков на гелях и мембранах. Методы проявления белков на инертных мембранах.
6. Расчет молекулярных масс белков на основании анализа их электрофоретических подвижностей.
7. Оформление результатов экспериментов в рабочем журнале.

3. **Форма промежуточного контроля** и оценки знаний по разделу практикума – зачет.

## 4. Вопросы для контроля знаний

1. Теоретические основы процесса полимеризации гелей.
2. Выбор оптимальных условий для полимеризации гелей различного типа.
3. Электрофорез по методу Лэммли. Особенности метода.
4. Выбор оптимальных условий обработки образцов белка для электрофоретического анализа.
5. Теоретические основы электропереноса белков на различные мембраны.
6. Типы и свойства мембран. Представление о различных типах мембран и оценка возможности их применения для структурного анализа белков.
7. Детекция белков на мембранах.
8. Определение молекулярной массы белков на основе данных электрофоретического анализа.

## Работа №4

### Изоэлектрофокусирование. Двумерный электрофорез белков

Составители программы: к.х.н. Е.И.Финкина, к.х.н. Д.Н.Мельникова

#### 1. Пояснительная записка

**1.1. Целью** лабораторной работы является изучение теоретических основ электрофоретических методов разделения белков, получение практических навыков проведения аналитического изоэлектрофокусирования белков и двумерного электрофореза, приобретение умения определять изоэлектрические точки белков, анализировать и корректно оформлять полученные экспериментальные данные.

**1.2. Задачи лабораторной работы:** выработать у аспирантов практические навыки работы с микропипетками и микрошприцами, водоструйным вакуумным насосом, системой для заливки полиакриламидных гелей (LKB), прибором для проведения горизонтального электрофореза и изоэлектрофокусирования Multiphor II (LKB), источником питания 2197 (LKB), системой охлаждения 2219 Multitemp II (LKB); ознакомить аспирантов с принципами работы приборов Tube Cell (Bio-Rad), Rotofor (Bio-Rad), Prep Cell (Bio-Rad), Protean II Multi-Cell (Bio-Rad) и PhastSystem (Pharmacia).

**1.3. Трудоемкость выполнения:** 6 часов.

Всего часов	Аудиторные занятия (час), в том числе:			Самостоятельная работа (час)
	лекции	практические занятия (семинары)	лабораторные работы	
9				3
	-	-	6	
		6		

#### 1.4. Распределение аудиторных часов курса по темам и видам работ

№	Наименование тем и разделов	Аудиторные занятия (час), в том числе:		
		лекции	практические занятия (семинары)	лабораторные работы
1	Электрофоретические методы разделения белков. Понятие об изоэлектрической точке и поведении белков в растворах с различными значениями рН. Создание иммобилизованного и неиммобилизованного градиента рН. Структура и свойства амфолитов. Приготовление полиакриламидных гелей для изоэлектрофокусирования.	-	-	0,5
2	Приготовление и нанесение белковых образцов на пластины для изоэлектрофокусирования. Аналитическое изоэлектрофокусирование на приборе Multiphor II (LKB) и его применение.	-	-	1
3	Основные типы детергентов, используемых при изоэлектрофокусировании, и требования, предъявляемые к их качеству. Отрицательные явления, имеющие место при проведении изоэлектрофокусирования. Методы окрашивания и фиксации белков при изоэлектрофокусировании.	-	-	0,5
4	Построение калибровочного графика с помощью смеси белков-стандартов изоэлектрических точек и определение изоэлектрических точек белков. Изоэлектрофокусирование в трубочках на приборе Tube Cell (Bio-Rad). Препаративное изоэлектрофокусирование в растворе на приборе Rotofor (Bio-Rad) и его применение.	-	-	1
5	Основные виды полиакриламидных гелей для электрофореза белков, их преимущества и недостатки. Получение полиакриламидных гелей с градиентом пористости. Препаративный электрофорез на приборе Prep Cell (Bio-Rad), особенности его проведения и применения.	-	-	0,5



6	Двумерный электрофорез как метод разделения сложных белковых смесей. Приготовление двумерных электрофоретических карт по методу О'Фарелла.	-	-	1
7	Особенности приготовления образца для второго направления двумерного электрофореза. Горизонтальный электрофореза на приборе Multiphor II (LKB) для разделения белков во втором направлении при двумерном электрофорезе белков. Окрашивание и фиксация белков.	-	-	1
8	Анализ 2D-карт. Применение двумерного электрофореза в протеомных исследованиях. Использование прибора Protean II Multi-Cell (Bio-Rad) для проведения двумерного электрофореза. Высокоскоростные изоэлектрофокусирование и электрофорез на приборе PhastSystem (Pharmacia).	-	-	0,5
	<b>Всего:</b>	-	-	6
	<b>Итого:</b>	6		

## 2. Перечень тем лабораторных занятий

1. Понятие об изоэлектрической точке белка и ее значении. Влияние различных факторов на конформацию белка и его изоэлектрическую точку. Основные правила работы с белковыми образцами.
2. Формирование иммобилизованного и неиммобилизованного градиентов рН. Свойства амфолинов и иммобилинов. Оптимизация градиента рН для разделения сложных белковых смесей.
3. Изоэлектрофокусирование в нативных условиях как метод определения изоэлектрических точек белков и разделения белковых смесей. Построение калибровочного графика распределения градиента рН при помощи смеси белков-стандартов изоэлектрических точек.
4. Методы окрашивания и фиксации белковых зон, полученных после изоэлектрофокусирования.
5. Особенности проведения изоэлектрофокусирования в денатурирующих условиях, область применения метода. Детергенты, используемые при изоэлектрофокусировании, и требования к их качеству.
6. Виды полиакриламидных гелей, их преимущества и недостатки. Получение гелей с градиентом пористости. Электрофорез белков в градиентных полиакриламидных гелях.
7. Двумерный электрофорез белков, его преимущества и область применения. Особенности приготовления белковых образцов для проведения разделения в первом и втором направлениях.
8. Анализ двумерных карт. Определение эффективности разделения белковых смесей и оптимизация условий проведения двумерного электрофореза.

3. **Форма промежуточного контроля** и оценки знаний по разделу практикума – зачет.

## 4. Вопросы для контроля знаний

1. Структура и свойства амфолинов для изоэлектрофокусирования. Создание различных видов градиентов рН. Преимущества иммобилизованного градиента рН.

2. Изоэлектрофокусирование в нативных и денатурирующих условиях. Детергенты, используемые для изоэлектрофокусирования белков.
3. Применение аналитического и препаративного изоэлектрофокусирования.
4. Отрицательные явления, имеющие место при изоэлектрофокусировании белков.
5. Полиакриламидные гели различной пористости для проведения электрофореза белков, их получение, использование, преимущества и недостатки.
6. Использование аналитического и препаративного электрофореза белков.
7. Области применения двумерного электрофореза белков, преимущества метода.
8. Расшифровка 2D-карт. Статистический анализ карт и идентификация маркерных белков.

Из представленного выше списка лабораторных работ составляются графики выполнения практикума, соответствующего разделам теоретического курса, который изучается параллельно в том же семестре. Группа аспирантов разделяется на подгруппы по 4-5 учащихся в каждой. Каждая подгруппа за семестр должна выполнить все четыре лабораторные работы. В начале семестра на первом лабораторном занятии проводится вступительное занятие, на котором решаются организационные вопросы и проводится инструктаж аспирантов по технике безопасности, что фиксируется в журнале лабораторных работ. Лабораторные работы каждым аспирантом выполняются в составе подгруппы, при этом каждый аспирант самостоятельно ведёт протокол работы. Разработанные в Учебно-научном центре методические указания к каждой лабораторной работе предоставляются аспирантам в печатном виде. После выполнения экспериментальных работ и измерений аспирант обязан представить их результаты преподавателю, ведущему лабораторные занятия, и получить его подпись. Порядок последующей обработки этих результатов и получения окончательного итога, выносимого на защиту каждой работы, описаны в методических указаниях к этой работе. Для получения зачета по каждой лабораторной работе аспирант обязан иметь протокол выполнения этой работы, надлежащим образом оформленный в рабочем журнале аспиранта, и предъявить его преподавателю для получения отметки в дневнике выполнения лабораторных работ. Для защиты выполненных лабораторных работ в расписании занятий предусматриваются отдельные часы. Защита работ может проводиться устно или путем тестирования по специально разработанному педагогическому обеспечению. Пропущенные по любой причине лабораторные работы должны быть отработаны. Для этого предусмотрены дополнительные занятия, которые назначаются преподавателем, работающим с подгруппой. Аспирант, не выполнивший и не защитивший предусмотренные графиком лабораторные работы, к экзамену по дисциплине не допускается.

### **VII. Контрольные работы и методическое обеспечение их проведения**

Учебный план, разработанный в соответствии с ФГОС высшего образования по направлению подготовки 06.06.01 Биологические науки (уровень подготовки кадров высшей квалификации), утвержденному приказом Минобрнауки РФ № 871 от 30 июля 2014 г., предусматривает промежуточный контроль знаний в форме проведения контрольных работ по дисциплине «Структура и функции пептидов и белков» с выставлением оценок в пятибалльной системе. Оценки по контрольным работам напрямую влияют на оценку итоговых аттестаций. Контрольные работы будут проводиться на практических занятиях (семинарах) в течение 45 минут по всем темам. Существенной стороной такой методики контроля текущей учебной работы аспирантов является анализ результатов каждой контрольной работы с разбором допущенных ошибок и указанием правильных ответов.

### **VIII. Самостоятельная работа**

В современных условиях широкого доступа к учебной и справочной информации вопрос о самостоятельной работе ставится как вопрос о самостоятельной проработке не только учебных пособий, но и оригинальных научных статей по тематике курса. В процессе освоения предмета предусмотрено самостоятельное изучение отдельных вопросов лекционного курса с

представлением конспекта проработанного материала. Виды самостоятельной работы аспирантов:

- 1) проработка лекционного материала, соответствующих разделов курса по учебникам;
- 2) подготовка к контрольной работе;
- 3) проработка методических указаний к лабораторным работам в процессе подготовки к их выполнению и защите;
- 4) подготовка реферата по выбранной преподавателем теме или оригинальной научной статье;
- 5) подготовка презентации и устного сообщения по выбранной преподавателем теме или оригинальной статье.

### **IX. Требования к знаниям и умениям аспирантов**

Аспиранты на качественно новом уровне, по сравнению со студенческим курсом, должны усвоить основные понятия и законы биоорганической химии, фундаментальные закономерности структурно-функциональной организации пептидов и белков. Аспиранты учатся применять усвоенные знания на лабораторных занятиях лабораторных и непосредственно в исследовательской лаборатории.

### **X. Итоговая проверка знаний**

#### **10.1. Форма итоговой проверки и оценки знаний – дифференцированный зачет.**

#### **10.2. Вопросы для дифференцированного зачета**

1. Основные классы биологически активных пептидов. Пептиды как лекарственные средства.
2. Пептидные гормоны гипофиза, гипоталамуса, кишечно-желудочного тракта, щитовидной железы.
3. Пептидные антибиотики и пептиды - регуляторы иммунитета.
4. Гомодетные и гетеродетные пептиды, депсипептиды. Циклические пептиды, ионофоры. Нерибосомальный синтез пептидов.
5. Типы взаимодействий, определяющих пространственную структуру полипептидов. Элементы вторичной и третичной структур белка.
6. Конфигурация пептидной связи. Углы  $\phi$ ,  $\psi$  и  $\omega$ . Карты Рамачандрана.
7. Принципы образования пептидной связи. Понятие о защитных и активирующих группах. Твёрдофазный синтез белков.
8. Образование пептидной связи: методы смешанных ангидридов и активированных эфиров, карбодиимидный и карбоксиангидридный методы конденсации.
9. Понятие о защите и активации  $\alpha$ -NH<sub>2</sub>-группы. Специфическая модификация  $\alpha$ - и  $\epsilon$ -аминогрупп в белках: гуанидирование, взаимодействие с имидоэфирами, карбамирование.
10. Защита и активация карбоксильной группы. Химическая модификация карбоксильных групп белка.
11. Особенности синтеза циклических пептидов. Современные возможности пептидного синтеза. Проблема рацемизации при синтезе пептидов.
12. Анализ аминокислотного состава белка. Определение N- и C-концевых аминокислот белка.
13. Химический метод расщепления полипептидной цепи белка по остатку Met.
14. Химический метод расщепления полипептидной цепи белка по остатку Trp.
15. Расщепление полипептидной цепи белка по связям Asp-Pro.
16. Расщепление полипептидной цепи белка по связям Asn-Gly.
17. Ферментативные методы гидролиза пептидных связей. Изменение специфичности действия трипсина с помощью химической модификации остатков Lys, Arg и Cys гидролизуемого белка.
18. Дегградация пептидов по методу Эдмана. Дансильный метод Эдмана.
19. Определение аминокислотной последовательности белка с помощью жидкофазного, твердофазного и газофазного секвенаторов.
20. Использование методов масс-спектрометрии при определении первичной структуры белка.
21. Химическая модификация остатков Trp и Tyr в белках.
22. Химическая модификация остатков Cys в белке.

23. Химическая модификация  $\alpha$ - и  $\epsilon$ -аминогрупп в белках.
24. Химическая модификация карбоксильных групп, остатков His и Met в белках.
25. Биоспецифическая модификация белков.
26. Кросс-сшивающие реагенты, их классификация. Задачи, решаемые с помощью этих реагентов.
27. Фотоактивируемые кросс-сшивающие реагенты.
28. Посттрансляционная модификация белков с расщеплением полипептидного остова белка-предшественника.
29. Посттрансляционные модификации  $\alpha$ -NH<sub>2</sub> группы белков.
30. Посттрансляционные модификации  $\alpha$ -COOH группы белков.
31. N- и O-гликозилирование белков, гликопротеины и протеогликаны.
32. Неферментативные посттрансляционные модификации белков.
33. Посттрансляционная модификация белков, образование остатков Gla и N-концевое ацетилирование белков.
34. Посттрансляционное гидроксилирование.
35. Убиквитинирование и сумоилирование белков.
36. Пренилирование белков. Другие типы липопротеинов.
37. Проблемы, связанные с анализом посттрансляционно модифицированных аминокислотных остатков в белках.
38. Шапероны и шаперонины.
39. Шапероны семейств Hsp100 и Hsp70.
40. Шаперонины про- и эукариот.
41. Время жизни белков в цитозоле клетки. Шапероны Hsp90.
42. Импорт белков в ядро клетки.
43. Импорт белков в митохондрии.
44. Импорт белка в эндоплазматический ретикулум.
45. Сортинг белков в эукариотической клетке. Сигнальные пептиды. Везикулярный импорт.
46. Принципы международной классификации ферментов. Шесть основных классов ферментов. Примеры. Классификация протеаз MEROPS.
47. Основные отличия ферментативного и химического катализа. Гипотеза Э. Фишера; Понятия специфичности и эффективности ферментативного катализа.
48. Основные представления о способах понижения ферментом активационного барьера химической реакции. Диаграмма зависимости энергии системы от координаты реакции; Ключевые имена и гипотезы.
49. Гипотетические концепции напряжения и деформации. Названия, даты, основные положения и характерные черты.
50. Концепция индуцированного соответствия Д. Кошланда. Основные постулаты и понятия; динамическая комплементарность фермента и субстрата; факторы катализа.
51. Основные черты концепции стабилизации переходного состояния. Принципиальное отличие от концепций дестабилизации основного состояния, экспериментальные подтверждения; примеры.
52. Основные кинетические кривые. Временные стадии ферментативной реакции. Понятие начальной скорости. Принцип стационарности.
53. Основные кинетические кривые. Зависимость начальной скорости реакции от концентрации субстрата в кинетике Михаэлиса. Фермент-субстратный комплекс. Форма кинетической кривой.
54. Кинетика Михаэлиса-Ментен. Основное уравнение для начальной скорости реакции. Вывод уравнения, физический смысл констант.
55. Кинетика Михаэлиса-Ментен. Линеаризация основного уравнения. Практическая необходимость. Примеры.
56. Ингибирование. Типы ингибирования. Влияние на вид кинетических кривых.

57. Ингибирование. Примеры ковалентных ингибиторов протеиназ. Структурные формулы, принципы ингибирования.
58. Фермент – белковая система. Уникальность феномена биокатализа; специфичность и эффективность.
59. Основные особенности строения активных центров ферментов. связывание субстрата; каталитические остатки; подвижность групп активного центра. Примеры.
60. Межатомные взаимодействия в фермент-субстратных комплексах. Природа и характеристика видов взаимодействий; зависимость видов взаимодействий от расстояния между атомами и молекулярного окружения.
61. Типы катализа протеиназами. Классификация протеиназ по типу катализа и строению активного центра.
62. Молекулярный механизм действия трипсина. Понятие о ковалентном типе катализа. Стереохимические особенности отдельных стадий каталитической реакции.
63. Ацилфермент при катализе протеиназами. Строение, получение, реакция транспептидации.
64. Молекулярный механизм действия пепсина. Понятие об обще-основном катализе. Стереохимические особенности стадий каталитической реакции.
65. Молекулярный механизм действия лизоцима. Стереохимические особенности стадий каталитической реакции.
66. Молекулярный механизм действия аспаратаминотрансферазы.
67. Каталитические антитела. Основные понятия, получение, использование.
68. Ферменты в биотехнологии. Расщепление гибридных белков, амидирование.
69. Протеолитическая деградация белка в клетке. Лизосомный и протеасомный путь. Роль убиквитина.

## **XI. Учебно-методическое обеспечение дисциплины**

### **11.1. Рекомендуемая литература для освоения теоретического курса**

#### **Основная литература**

1. Ю.А.Овчинников. Биоорганическая химия. М., Просвещение, 1987.
2. Д.Г.Кнорре, Т.С.Годовикова, С.Д.Мызина, О.С.Фёдорова. Биоорганическая химия. Новосибирск, РИЦ НГУ, 2011.
3. Д.Нельсон, М.Кокс. Основы биохимии Ленинджера. Т.1-3. М., Бином, 2011.
4. И.В.Шугалей, А.В.Гарабаджиу, И.В.Целинский. Химия белка. Санкт-Петербург, Проспект Науки, 2011.
5. Н.А.Тюкавкина, Ю.И.Бауков. Биоорганическая химия. М., Дрофа, 2010.
6. В.М.Степанов. Молекулярная биология. Структура и функции белков. М., Высшая школа, 1996.
7. Проблема белка. Т.1. Химическое строение белка. Ред. В.М.Липкин.М., Наука, 1995.
8. Проблема белка. Т.2. Пространственное строение белка. Ред. Т.И.Соркина. М., Наука, 1996.
9. Белки и пептиды. Т.1. Ред. В.Т.Иванов, В.М.Липкин. М., Наука, 1995.
10. А.В. Финкельштейн, О.Б. Птицын. Физика белка: курс лекций с цветными и стереоскопическими иллюстрациями и задачами. 4-е изд. М., Книжный дом «Университет», 2012.
11. С.Д.Варфоломеев. Химическая энзимология. Москва. Изд. центр «Академия». 2005.
12. В.К.Антонов. Химия протеолиза. М., Наука, 1991.
13. М.Диксон, Э.Уэбб. Ферменты. М., Мир, 1982.

#### **Дополнительная литература**

1. A.Kessel, N. Ben-Tal. Introduction to Proteins: Structure, Function, and Motion. CRC Press, 2010.
2. J.M.Berg, J.L.Tymoczko, L.Stryer. Biochemistry. The 5<sup>th</sup> edition, W.H. Freeman & Company, 2002.
3. Metzler D.E. Biochemistry. The chemical reactions of living cells. The 2<sup>nd</sup> edition. V.1 – 2. Harcourt/Academic Press, London, 2001.

4. A. Fersht. Structure and Mechanism in Protein Science. W.H.Freeman & Co., 1999.
5. C. Branden, J. Tooze. Introduction to protein structure. 2<sup>nd</sup> ed. Garland Publishing, New York, USA, 1998.
6. A.M. Lesk. Introduction to protein architecture. Oxford University Press, Oxford, UK, 2001.
7. T.E.Creighton. Proteins. Structure and Molecular Properties. W.H.Freeman & Co., 1997.
8. T.E.Creighton. Protein Function. IRL Press, 1997.
9. G.C.Howard, W.E.Brown. Modern Protein Chemistry. CRC Press, 2002.
10. G.Walsh. Proteins: Biochemistry and Biotechnology . Wiley, 2001.
11. D.Whitford. Proteins: Structure and Function. Wiley, 2005.
12. J.Kyte. Structure in Protein Chemistry. Garland Publishing, 1995.
13. J.Kyte. Mechanism in Protein Chemistry. Garland Publishing, 1995.
14. Protein Sequencing Protocols. Ed. J.Smith. Humana Press, 1997.
15. Mass Spectrometry of Proteins and Peptides. Ed. R.Chapman. Humana Press, 2000.
16. Proteins LabFax. Ed. N.C.Price. Academic Press, 1996.
17. Protein Purification Protocols. Ed. S.Doonan. Humana Press, 1996.
18. Techniques in Protein Chemistry VI. Ed. J.W.Crabb. Academic Press, 1995.
19. David Blow. So do we understand how enzymes work? Structure (2000), 8: R77-R81.
20. N.S. Andreeva, L.D. Rumsh. Analysis of crystal structures of aspartic proteinases: On the role of amino acid residues adjacent to the catalytic site of pepsin-like enzymes. Protein Science (2001), 10:2439–2450.
21. N.D. Rawlings, D.P. Tolle, A.J. Barrett. MEROPS: the peptidase database. Nucleic Acids Research (2004), 32:D160-D164.
22. M.H. Glickman, N. Adir. The Proteasome and the Delicate Balance between Destruction and Rescue. PLoS Biology (2004), 8:25-27.
23. D.J. Vocadlo, G.J. Davies, R. Laine, S.G. Withers. Catalysis by hen egg-white lysozyme proceeds via a covalent intermediate. Nature. (2001), 412: 835-838.
24. H.Hayashia, H. Mizuguchia, I. Miyaharab, M.M. Islama, H. Ikushiroa, Y.Nakajimab, K.Hirotsub, H.Kagamiyamaa Strain and catalysis in aspartate aminotransferase. Biochimica et Biophysica Acta. (2003), 1647:103–109.

## 11.2. Рекомендуемая литература для подготовки к лабораторным работам

### Основная литература

1. Х. Биссвангер. Практическая энзимология. М., Бином, 2010.
2. В.Д.Ягодский. Адсорбция. М., Бином, 2015.
3. Гиндуллина Т.М. Хроматографические методы анализа: учебно-методическое пособие / Т.М. Гиндуллина, Н.М. Дубова - Томск: Изд-во Томского политехнического университета, 2010. - 80 с.
4. П.Садек. Растворители для ВЭЖХ. М., Бином, 2006.
5. К.Геккелер, Х.Экштайн. Аналитические и препаративные лабораторные методы. М., Химия, 1994.
6. В.Л.Воейков, П.Д.Решетов, И.Р.Набиев, С.В.Сычев, А.С.Арсеньев, В.Ф.Быстров, В.В.Демин, Б.В.Розынов. Физико-химические методы исследования биополимеров и низкомолекулярных биорегуляторов. М., Наука, 1992.
7. Практическая химия белка. Под ред. А. Дарбре. М., Мир, 1989.
8. П. Схунмакерс. Оптимизация селективности в хроматографии. М., Мир, 1989.
9. Ригетти П. Изоэлектрическое фокусирование. Теория, методы и применение. М., Мир, 1986.
10. Остерман Л.А. Исследование биологических макромолекул электрофокусированием, иммуноэлектрофорезом и радиоизотопными методами. М., Наука, 1983.
11. Остерман Л.А. Хроматография белков и нуклеиновых кислот. М., Наука, 1985.
12. Остерман Л.А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот. Электрофорез и ультрацентрифугирование. М., Наука, 1981.

13. Р. Скоупс. Методы очистки белков. М., Мир, 1985.

#### Дополнительная литература

1. Е. Д. Козаренко и др. Ионообменная хроматография аминокислот. М., Наука, 1981
2. Х. Энгельгард. Жидкостная хроматография при высоких давлениях. М., Мир, 1980.
3. Лабораторное руководство по хроматографическим и смежным методам. Под ред. О. Микеш, М., Мир, 1982.
4. Laemmli U.K. (1970) Nature, 227, 680-685.
5. Weber W. and Osborn M. (1969) J. Biol. Chem., 344, 4406-4412.
6. Smejkal G.B., Lazarev A. (Eds.) Separation methods in proteomics. New York: CRC Press, 2005.
7. Говорун В.М., Арчаков А.И. Протеомные технологии в современной биомедицинской науке. Биохимия. 2002. Т.67. №10. С.1341-1359.
8. Падкина М.В., Залуцкая Ж.М., Лапина Т.В., Самбук Е.В., Ермилова Е.В. Протеомика микроорганизмов и растений. Принципы, технологии и практическое использование. СПб.: ТЕССА, 2012.
9. Westermeier R., Naven T., Höpker H. Proteomics in practice: a guide to successful experimental design. Wiley, 2008.
10. Hames B.D. (Ed.) Gel Electrophoresis of proteins: a practical approach. Oxford University Press, 1998.
11. Kurien B.T., Scofield R.H. (Eds.) Protein electrophoresis. Methods and protocols. Humana Press, 2012.
12. Cutler P. (Ed.) Protein purification protocols. Humana Press, 2004.
13. Friedman D.B., Hoving S., Westermeier R. Isoelectric focusing and two-dimensional gel electrophoresis. Methods Enzymol. 2009. V.463. P.515-540.