

Ramowy program przedmiotu

1. Nazwa przedmiotu: enzymologia
2. Przedmioty wprowadzające: biochemia

Kierunek: <i>biologia</i> Rodzaj studiów: stacjonarne, dzienne Specjalność:	
Wykłady (h) .15..... Ćwiczenia (h) .30..... Punkty ECTS ...3,5.....	Prowadzący (koordynator przedmiotu) dr hab.prof.SGGW Andrzej Paszkowski Nr przedmiotu Data opracowania programu:15.01.2008r

3. Założenia i cele przedmiotu: Głównym celem zajęć jest poszerzenie podstawowych wiadomości z enzymologii wyniesionych z kursu biochemii. Zakłada się również zapoznanie studentów z zasadami współcześnie stosowanych metod oczyszczania białek enzymatycznych oraz oznaczania ich aktywności.

4. Efekty kształcenia – nabyte umiejętności i kompetencje: przygotowanie absolwenta (teoretyczne i praktyczne) do pracy w nowoczesnym laboratorium enzymatycznym

5. Tematy wykładów/ćwiczeń (treści programowe):

1. Wstępne wiadomości o enzymach ich klasyfikacja oraz energia swobodna Gibbsa aktywacji reakcji enzymatycznej a szybkość tej reakcji	1 godz.
2. Kinetyka reakcji enzymatycznej: rząd reakcji, szybkość początkowa v_0 , założenia Michaelisa-Menten oraz Briggs-Haldane'a, wyznaczanie stałych K_m , V_{max} , k_{cat} i ich znaczenie, znaczenie stałej k_{cat}/K_m , kinetyka stanu prestacjonarnego.	2 godz.
3. Wpływ temperatury i pH na v_0 reakcji enzymatycznej: temperatura a energia aktywacji reakcji ; wpływ pH; wyznaczanie pK reszt aminokwasowych istotnych dla aktywności enzymu.	1 godz.
4. Inhibicja enzymów: nieodwracalna; odwracalna: kompetycyjna, mieszana, niekompetycyjna, akompetycyjna, substratem, częściowa, allosteryczna.	1 godz.
5. Mechanizmy reakcji enzymatycznych z udziałem dwóch substratów i ich badanie	1 godz.
6. Oddziaływanie enzymu z substratem i mechanizmy katalizy enzymatycznej: hipotezy Fischera, Koshlanda, Ogstona; rodzaje mechanizmów katalitycznych; mechanizm działania chymotrypsyny; analogi stanu przejściowego jako inhibitory.	3godz.
7. Regulacja aktywności enzymów regulatorowych: allosteria; odwracalne modyfikacje kowalencyjne.	2 godz.
8. Izolowanie i oczyszczanie enzymów: ekstrakcja; frakcjonowanie mieszaniny białek na podstawie różnic w rozpuszczalności; metody chromatograficzne; HPLC; elektroforeza białek; kryteria czystości preparatów.	3 godz.
9. Przegląd metod oznaczania aktywności enzymów oraz przykłady zastosowań enzymów w przemyśle farmaceutycznym i przetwórczym, w rolnictwie i medycynie	1 godz
razem wykładów	15godz

Program ćwiczeń

Ćwiczenia prowadzone są w grupach 16-to osobowych (6 x 5godz.=30 godz)

W czasie ćwiczeń studenci:

prowadzą rozkład skrobi przy pomocy immobilizowanej na chitynie glukoamylazy;

wstępnie oczyszczają roślinną dehydrogenazę glutaminianową i wyznaczają stopień oczyszczenia otrzymanego preparatu;

wstępnie oczyszczają drożdżową β -fruktofuranozydazę i badają jej właściwości kinetyczne (specyficzność substratową, optimum pH, termostabilność);

wykonują elektroforezę białek dwoma różnymi metodami: natywną (PAGE), połączoną ze sporządzeniem zymogramu oraz w warunkach denaturujących (SDS-PAGE).

6. Metody i pomoce dydaktyczne: wykłady w auli wyposażonej w środki audiowizualne; ćwiczenia laboratoryjne w czterech 16-to osobowych salach ćwiczeń: wyposażonych w drobny sprzęt laboratoryjny (pipety automatyczne, łaźnie wodne, wytrząsarki, cieplarki, mieszadła magnetyczne, homogenizatory, 8 fotometrów (λ 340-800 nm); ponadto w Katedrze Biochemii w dyspozycji studentów są: 2 spektrofotometry (Pye-Unicam; λ 190-800 nm i Beckman DU 640; λ 190-800 nm), 7 aparatów do elektroforezy analitycznej w żelu poliakryloamidowym (Mini-Protean II firmy Bio-Rad, HPLC (Waters) z kolumnami do chromatografii: jonowymiennej, sita molekularnego, powinowactwa; ultrawirówka (Sorvall Pro 80), 4 wirówki szybkoobrotowe (2 x MPW350R, Sigma 3K30, MPW6K15), wirówka próżniowa do suszenia preparatów, zestawy do chromatografii niskociśnieniowej.

7. Forma zaliczenia przedmiotu: pisemny egzamin

8. Autorzy programu ramowego, Wydział/Katedra:

dr hab. prof. SGGW Andrzej Paszkowski, Wydział Rolnictwa i Biologii, Katedra Biochemii

9. Literatura (podstawowa i uzupełniająca):

podstawowa

1. Bartoszewicz, K., Niziołek, S., Paszkowski, A., Ćwiczenia z enzymologii i technik biochemicznych, Wyd. SGGW, Warszawa 2003.

2. Berg J.M., Tymoczko J.L., Stryer, L., Biochemia, Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 2005.

3. Witwicki J., Ardelt W., Elementy enzymologii, Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 1989..

uzupełniająca

1. Palmer, T., Understanding enzymes, Ellis Horwood Ltd., Chichester 1981.

2. Price, N.C., Stevens, L., Fundamentals of enzymology, Oxford Univ. Press Inc, New York 1999.

3. Voet, D., Voet, J., Biochemistry, J. Wiley and Sons, Inc., New York 2004.

Informacja o przedmiocie w języku angielskim:

1. Subject name: Enzymology.....

2. Lecture topics/practices topic

Lectures (15hrs):

1. Gibbs Free Energy of Activation and Initial Velocity of Reaction

2. Kinetics of Enzyme Catalyzed Reaction

3. Effect of pH and Temperature on v_0 of Enzymatic Reaction

4. Enzyme Inhibition

5. Mechanisms of Bisubstrate Enzymatic Reactions

6. Catalytic Mechanisms Employed by Enzymes

7. Regulatory Enzymes

8. Extraction and Purification of Enzymes

9. Enzyme Assay and Examples of Enzyme Application in Medicine and Industry

Laboratory classes (30hrs):

1. Degradation of Starch by Glucoamylase Immobilized on Chitin.

2. Purification of Glutamate Dehydrogenase from Roots of Wheat Seedlings

3. Purification of β -fructofuranosidase from Yeast and Studies of its Kinetic Properties

4. Determination of Molecular Mass of Proteins Using SDS-polyacrylamide

Gel Electrophoresis Method

5. Preparation of Zymogram of Amylolytic Activities of Wheat Seedlings

3. Pass conditions: written examination


dr hab. Andrzej Paszkowski, prof. SGGW