

PROGRAMA ANALITICA A CURSULUI

ENZIMOLOGIE

Specializarea Biochimie tehnologica, anul de studii III
Semestrul 6, numar ore de curs 28, numar ore laborator 28
Anul universitar 2008/2009

1. *Obiectivele cursului:* Sa prezinte studentilor notiunile de baza legate de enzimologie, structura enzimelor, cinetica si termodinamica acestora, precum si rolul lor fiziologic. Un alt aspect il constituie intelegerea mecanismelor enzimaticice. Se are in vedere interactiunea permanenta cu studentii si implementarea unor metode noi de predare care sa atinga standardele internationale.
2. *Obiectivele laboratorului:* Lucrarile de laborator sunt complementare cu tematica cursului si au drept scop insusirea principalelor tehnici specifice din domeniul enzimologiei. Aceste lucrari sunt menite sa deschida orizonturile stiintifice al studentilor si sa-i pregateasca pentru profesiile ulterioare.
3. *Continutul de baza:* Introducere (scurt istoric in dezvoltarea enzimologiei). Metode de purificare a enzimelor. Strategii de purificare ale enzimelor (Alegera sursei-abundenta, studii comparative, localita la nivel subcelular). Metode de omogenizare (in functie de organism). Metode de separare (prin intermediul cromatografiei). Structura enzimelor. Determinarea masei moleculare relative (ultracentrifugarea, gel filtrarea, SDS-PAGE). Determinarea compozitie in aminoacizi (aminoacizii, legatura peptidica, analiza amestecurilor de aminoacizi, probleme care apar la analiza aminoacizilor). Determinarea structurii primare (clivarea proteolitica a lantului polipeptidic, separarea fragmentelor rezultate la proteoliza, analiza fragmentelor purificate, stabilirea structurii lantului polipeptidic \leftrightarrow calcularea M_r , determinarea arborelui genealogic; probleme care apar la determinarea secventei polipeptidice). Determinarea structurii secundare si terciare (cristalografia cu raze X, structura enzimei in solutie). Caracteristici ale structurilor adoptate de enzime (legatura amidica, α -helixul, structura β pliata, rolul legaturilor intramoleculare in stabilizarea structurii terciare). Structura cuaternara. Denaturarea si rearanjarea structurii enzimelor. Introducere in cinetica enzimatica (3 cursuri). Reactii enzimaticice cu un singur substrat. Reactii enzimaticice cu doua sau mai multe substraturi. Determinarea activitatii specifice a enzimelor. Determinarea vitezei catalitice si a intermediarilor catalitici prin metode spectrale (monitorizarea reactiilor rapide, fotoliza rapida, metode de relaxare, analiza datelor experimentale, utilizarea radioactivitatii). Energii de „legatura“ in cazul enzimelor si substraturilor. Interactii intre proteine. Mecanisme de actiune ale enzimelor. Aspecte clinice ale enzimologiei. Determinarea activitatii enzimelor in cazul diagnosticelor clinice (boli de ficat, inima, etc). Detectia si semnificatia deficientelor diferitelor enzime. Terapii in care sunt folosite enzimele.

4. *Sistemul de evaluare:* verificare prin colocviu, examen (lucrare scrisa, oral, proiecte, lucrari practice si apreciere prin note sau admis/respins – dupa caz)

Lucrare scrisa si oral

5. *Discipline care trebuie parcurse în prealabil:*

- obligatorii: Chimie organica (aminoacizi, nucleotide, heterocicli);
- recomandate: Biochimie generala, Biologie Moleculara si Genetica

6. *Bibliografie curs:*

1. Enzymes: A Practical Introduction to Structure, Mechanism, and Data Analysis (second edition), R. A. Copeland (2000).
2. Fundamental of Enzymology (second edition) – N. C. Price, L. Stevens (Oxford-1989).
3. Enzyme. Structure and Mechanism (second edition), A. Fersht (1984).
4. Enzyme Kinetics. The Steady-state Approach, Engel, P. C. (1977).
5. The enzymes (third edition), P. D. Boyer (1976).
6. Practical enzymology, H. Bisswanger (2004)
7. Enzyme Assays, Ed. J.-L. Reymond (Wiley-2006).

7. *Tematica lucrarilor de laborator:*

Pentru aceasta disciplina este prevazuta realizarea urmatoarelor lucrarilor practice de laborator:

- Prelucrarea statistica a datelor obtinute din experimente cu enzime. Folosirea bazelor de date pentru analiza unor enzime;
- Caracterizarea polifenol oxidazei din banane
- SDS-electroforeza metoda de cuantificare a puritatii enzimelor;
- Investigarea proprietatilor catalitice ale invertazei
- Determinarea activatii peroxidazei
- Tehnica Western blotting, utilizarea peroxidazei pentru identificarea proteinelor fixate pe membrane nitrocelulozice
- Referat in PowerPoint: descrierea unei enzime sau a unei clase de enzime

Bibliografie laborator

1. Cojocaru, D.C., Enzimologie, Ed. Gama, Iasi (1997).
2. Enzyme Assay. A practical Approach – R. Eisental, M. J. Danson, L. Stevens (Oxford)-1992.
3. Der Experimentator. Proteinbiochemie/Proteomics (5 Auflage)– Rehm, H. (2006).
4. Worthington Enzyme Manual – Worthington Biochemical Corporation (1972).
5. Sidney, P. C. and Nathan, O. K. Methods in Enzymology, vol. XXVI Enzyme structure (Part C) – 1972.
6. Practical Biochemistry for colleges, Ed. E. J. Wood (Pergamon Press-1998)

Titularul disciplinei:
Lect. dr. Robert Gradinaru