

ПРОГРАММА

спецкурса «Химия биополимеров»

Лектор – к.х.н. Е.Л. Черноловская. (24 часа).

1.1 Естественно-научная дисциплина, вузовская.

1.2 Цели и задачи курса.

Дисциплина «Химия биополимеров» предназначена для ознакомления студентов с химическими свойствами биополимеров: белков, нуклеиновых кислот, липидов, стероидов и углеводов.

Основной целью освоения дисциплины является получения знаний о свойствах биополимеров и применении химических методов для исследования структуры и функций данных биополимеров.

Для достижения поставленной цели выделяются задачи курса:

1. Изучение химических свойств биополимеров
2. Изучение химических методов определения состава и последовательности
3. Изучение химических методов исследования пространственной и функциональной структуры биополимеров.
4. Изучение методов высокоспецифичной модификации биополимеров и их применение для исследования структуры и функций биополимеров.

Требования к уровню освоения содержания курса.

По окончании изучения указанной дисциплины студент должен

- иметь представление о структуре и химических свойствах белков, нуклеиновых кислот, стероидов, липидов и углеводов.
- знать основные методы определения первичной последовательности в биополимере
- уметь применить химические методы исследования структуры и функции биополимеров

1.4. Формы контроля.

Итоговый контроль. Для контроля усвоения дисциплины учебным планом предусмотрен экзамен.

Текущий контроль. В течении семестра принимаются 2 коллоквиума.

2. Содержание дисциплины.

2.1. Новизна курса

В курсе рассмотрены новейшие методы исследования структуры биополимеров и химические подходы к исследованию структурных основ их функционирования. Большая часть материалов курса не описано в учебниках и излагается по материалам оригинальных статей и обзоров в научных журналах.

2.2. Тематический план курса

Наименование разделов и тем	Количество часов				
	Лекции	Семинары	Лаб.Работы	Самостоятельная работа	Всего часов
Химия белков	8	-	-	4	12
Химия нуклеиновых кислот	12	-	-	4	16
Химия углеводов, липидов и стероидов	4	-	-	4	8
Итого по курсу	24	-	-	12	36

2.3. Содержание отдельных разделов и тем.

Предмет изучения и задачи курса “Химия биополимеров”. Классификация биополимеров: белки, нуклеиновые кислоты, углеводы, липиды, стероиды). Основные функциональные группы, встречающиеся в разных биополимерах. Понятие о первичной структуре биополимеров и основных принципах ее определения, вторичный, третичный и четвертичный уровни организации биополимеров; надмолекулярные комплексы.

Химия белков. Особенности строения белков. Аминокислоты, входящие в состав белков, их классификация и номенклатура. Реакции аминокислот по α -амино и α -карбоксильной группам; химические реакции протекающие с участием боковых радикалов аминокислот, использование этих реакции при исследовании структуры белков. Специфические реакции аминокислот. Методы введения радиоактивной метки в аминокислоты, пептиды и белки.

Пептидная связь: строение, стабильность, условия гидролиза пептидных связей в кислоте, в щелочных условиях, гидролиз пептидных связей под действием ферментов (специфический и неспецифический гидролиз пептидных связей ферментами): трипсин, химотрипсин, термолизин, пепсин, протеиназа К. Расщепление белков под действием химических агентов: бромциана, N-бром сукцинимид, 2-нитро-5-тиоцианатобензойной кислоты.

Первичная структура белков и методы ее определения. Фрагментация белков белков и пептидов по специфическим участкам. Разделение смеси пептидов. Определение аминокислотного состава: кислотный гидролиз пептидов, принцип разделения аминокислот, принцип разделения производных аминокислот, используемый в аминокислотном анализаторе. Метод перекрывающихся блоков и метод ограниченного гидролиз основные подходы к определению исходной структуры белка и их структуры фрагментов.

Вторичная структура белков: дисульфидные мостики, β -складки и α -спирали; понятие о структурном домене, субъединице, функциональном центре, самоорганизации пространственной структуры. Денатурация белков.

Исследование структуры белков и комплексов белков с другими биополимерами методом химической модификации. Подходы к локализации модифицированных остатков. Открытые и скрытые остатки аминокислот в белках. Метод футпринта. Использование бифункциональных химических реагентов. Аффинная модификация белков: требования предъявляемые к аффинным реагентам, критерии аффинной модификации, применение аффинных реагентов.

Химия нуклеиновых кислот. Основные компоненты нуклеиновых кислот - нуклеотиды, нуклеозиды, номенклатура, строение, конформация рибозы и дезоксирибозы. N-гликозидная связь: строение, конформация, стабильность, условия гидролиза N-гликозидной связи в РНК и ДНК, апуринизация ДНК. Фосфодиэфирная связь: строение, устойчивость, гидролиз фосфодиэфирных связей: различия между РНК и ДНК, гидролиз действием кислоты, гидролиз в щелочных условиях, гидролиз под действием химических реагентов, влияние 2'- гидроксильной группы на стабильность фосфодиэфирной связи в РНК. Ферментативный гидролиз РНК и ДНК.

Реакционные центры гетероциклических оснований, распределение электронной плотности, локализация присоединения и отщепления протонов в нуклеозидах и нуклеотидах. Кислотно-основные свойства оснований. Реакции гетероциклических оснований с электрофильными и нуклеофильными реагентами. Реакции присоединения по C5-C6 двойной связи в пиримидинах. Реакции с участием экзоциклической аминогруппы. Реакции с участием рибозы и дезоксирибозы. Реакции с участием фосфата. Методы введения радиоизотопных меток в РНК и ДНК.

Определение первичной структуры РНК и ДНК: метод Максама-Гилберта, метод Петти-Гилберт, метод Сэнгера. Определение вторичной структуры нуклеиновых кислот. Использование химических реакций гетероциклических оснований для определения пространственной структуры нуклеиновых кислот.

Изучение структуры РНК: понятие о пробинге структуры РНК химическими и ферментативными зондами. Вторичная структура РНК, элементы вторичной структуры (шпильки, внутренние и апикальные петли, мисматчи, выпяченные основания), термодинамика и принципы расчета вторичной структуры РНК, сопоставление с

экспериментальными данными. Метод химического и ферментативного футпринта, изучение комплексов РНК с различными низко и высокомолекулярными лигандами.

Строение двойной спирали ДНК. В и Z-форма спирали ДНК, различие реакционной способности оснований в В и в Z формах ДНК. Использование химической модификации и ферментативных реакций для изучения структуры ДНК.

Исследование структуры и функции РНК или ДНК в составе специфических комплексов методом химической модификации: используемые реагенты, условия сохранения нативного комплекса НК-лиганд в процессе химической реакции, защита оснований от модификации, методы определения модифицированных оснований. Олигонуклеотидных пробинг

Высокоспецифичная модификация нуклеиновых кислот. Понятие о сайт-направленной модификации, модификация нуклеиновых кислот в составе дуплекса, в составе триплекса, используемые условия. Критерии специфичности, последовательность олигонуклеотидного адреса, используемые реакционноспособные группы, методы введения реакционноспособных групп в состав олигонуклеотида.

Углеводы. Строение, химический свойства, методы определения структуры.

Липиды и стероиды. Строение, химический свойства, методы определения структуры.

2.4. Перечень примерных контрольных вопросов и заданий для самостоятельной работы.

Вопросы 1 коллоквиума:

Вариант 1

1. Критерии аффинности реагентов
2. Реакция с фенилизотилцианатом, механизм и где применяется
3. Реакция с бромцианом

Вариант 2

1. Взаимодействия, стабилизирующие пространственную структуру белка. Понятие о денатурирующих агентах.
2. Реакция аргинина с пентандионом, механизм, где используется.
3. Протеазы высокоспецифичные – специфичность действия и оптимальные условия.

Вариант 3

1. Факторы, влияющие на химические свойства аминокислотных остатков в составе белка
2. Введение радиоактивной метки в белки, механизм, где используется.
3. Расщепление белков под действием N-бром сукцинимиды, механизм и специфичность действия

Вариант 4

1. Строение пептидной связи, реакционно-способные центры, химические реакции, протекающие с участием пептидной связи
2. Ацилирование малеиновым ангидридом, механизм, где используется.
3. Разделение смеси пептидов.

Вариант 5

1. Гидролиз пептидной связи, механизм, катализ кислотами, основаниями, влияние боковых радикалов аминокислот на стабильность пептидной связи.
2. Реакция гистидина с ДЭПК, механизм, где используется.
3. Определение последовательности пептидов с С-конца

Вариант 6

1. Фрагментация белков химическими реагентами и ферментами, специфическая и неспецифическая фрагментация белков под действием протеаз, протеазы высокой специфичности
2. Окисление цистеина, механизм.

3. Реакция аминокислот с нингидрином, механизм, где используется

Вариант 7

1. Деградация по Эдману: химические реакции, лежащие в основе деградации по Эдману, строение автоматического секвенатора белков, принцип его работы.
2. Расщепление пептидных связей в присутствии кислоты, механизм, условия реакции, применение
3. Реакция аминокислот с динитрофторбензолом, механизм, где используется.

Вариант 8

1. Методы определения аминокислотного состава белков, принцип работы аминокислотного анализатора.
2. Реакция аминокислот с динитрофторбензолом, механизм, где используется.
3. Расщепление белков под действием 2-нитро-5-тиоцианатобензойной кислоты.

Вариант 9

1. Определение N – концевой аминокислоты в белках и пептидах; количественные и качественные реакции, Где в анализе белков и пептидов эти реакции используются.
2. Введение радиоактивной метки в белки, механизм, где используется.
3. Разделение смеси пептидов.

Вопросы 2 коллоквиума:

Вариант 1

1. Введение метки в НК
2. N-гликозидная связь: строение, конформация, стабильность, условия гидролиза N-гликозидной связи в РНК и ДНК.
3. Методы введения реакционноспособных групп в состав олигонуклеотида.

Вариант 2

1. Метод Максама-Гилберта.
2. Фосфодиэфирная связь: строение, устойчивость, гидролиз фосфодиэфирных связей: различия между РНК и ДНК.
3. Реакции с участием рибозы и дезоксирибозы.

Вариант 3

1. Метод Петти-Гилберта.
2. Апуринизация ДНК. Расщепление фосфодиэфирных связей в ДНК по механизму β -элиминации.
3. Сайт-направленная модификация ДНК. Типы комплексов и реакционноспособных групп.

Вариант 4

1. Определение первичной структуры РНК и ДНК: метод Сенгера.
2. Основные компоненты нуклеиновых кислот - нуклеотиды, нуклеозиды, номенклатура,
3. Конструирование аффинных реагентов для исследования структуры и функции рибосом.

Вариант 5

1. Определение первичной последовательности РНК ферментативным методом.
2. Фосфодиэфирная связь гидролиз под действием кислоты, гидролиз в щелочных условиях, гидролиз под действием химических реагентов,

3. Реакции присоединения по C5-C6 двойной связи в пиримидинах.

Вариант 6

1. Исследование структуры ДНК методом химической модификации.
2. Ферментативный гидролиз РНК и ДНК.
3. Метод химического и ферментативного футпринта, изучение комплексов РНК с различными низко и высокомолекулярными лигандами.

Вариант 7

1. Исследование ДНК-белковых взаимодействий методом хим. Модификации.
2. Реакционные центры гетероциклических оснований, распределение электронной плотности.
3. Строение двойной спирали ДНК. В и Z-форма спирали ДНК, различие реакционной способности оснований в В и в Z формах ДНК.

Вариант 8

1. Конструирование аффинных реагентов для исследования структуры хроматина.
2. Фосфодиэфирная связь влияние 2'- гидроксильной группы на стабильность фосфодиэфирной связи в РНК.
3. Реакции гетероциклических оснований с нуклеофильными реагентами.

Вариант 9

1. Изучение структуры РНК: понятие о пробинге структуры РНК химическими и ферментативными зондами.
2. Реакции гетероциклических оснований с электрофильными реагентами.
3. Понятие о сайт-направленной модификации, модификация нуклеиновых кислот в составе дуплекса, в составе триплекса, используемые условия.

3. Учебно-методическое обеспечение дисциплины

3.2. Темы рефератов – не предусмотрено учебным планом

3.3. Образцы вопросов для подготовки к экзамену.

Билет 1

1. Классификация биополимеров: белки, нуклеиновые кислоты, углеводы, липиды, стероиды). Основные функциональные группы, встречающиеся в разных биополимерах.
2. Методы введения радиоизотопных меток с РНК и ДНК.
3. Исследование структуры и функции РНК или ДНК в составе специфических комплексов методом химической модификации: используемые реагенты.

Билет 2

1. Понятие о первичной структуре биополимеров и основных принципах ее определения, вторичный, третичный и четвертичный уровни организации биополимеров; надмолекулярные комплексы.
2. Определение первичной структуры РНК и ДНК: метод Максама-Гилберта, метод Петти-Гилберта, метод Сэнгера.

3. Липиды: классификация, простые и сложные липиды, принципиальное строение, биологическое значение.

Билет 3

1. Особенности строения белков. Аминокислоты, входящие в состав белков, их классификация и номенклатура.
2. Определение вторичной структуры нуклеиновых кислот. Использование химических реакций гетероциклических оснований для определения пространственной структуры нуклеиновых кислот.
3. Исследование структуры и функций РНК или ДНК в составе специфических комплексов методом химической модификации: условия сохранения нативного комплекса НК-лиганд в процессе химической реакции

Билет 4

1. Реакции аминокислот по α -амино и α -карбоксильной группам; химические реакции протекающие с участием боковых радикалов аминокислот.
2. Метод химического и ферментативного футпринта, изучение комплексов РНК с различными низко и высокомолекулярными лигандами.
3. Сайт-направленная модификация нуклеиновых кислот методы введения реакционноспособных групп в состав олигонуклеотида.

Билет 5

1. Химические реакции, протекающие с участием боковых радикалов аминокислот, при исследовании структуры белков.
2. Вторичная структура РНК, элементы вторичной структуры (шпильки, внутренние и апикальные петли, мисматчи, выпяченные основания), термодинамика и принципы расчета вторичной структуры РНК.
3. Стероиды: строение, биологически активные стероиды, стероидные гормоны.

Билет 6

1. Специфические реакции аминокислот.
2. Строение двойной спирали ДНК. В и Z-форма спирали ДНК, различие реакционной способности оснований в В и в Z формах ДНК. Использование химической модификации и ферментативных реакций для изучения структуры ДНК.
3. Терпены как самостоятельный класс липидов - строение и основные свойства, биологическое значение

Билет 7

1. Методы введения радиоактивной метки в аминокислоты, пептиды и белки.
2. Изучение структуры РНК: понятие о пробинге структуры РНК химическими и ферментативными зондами.
3. Понятие о, модификация нуклеиновых кислот в составе дуплекса, в составе триплекса, используемые условия.

Билет 8

1. Пептидная связь: строение, стабильность, условия гидролиза пептидных связей в кислоте, в щелочных условиях
2. . Реакции с участием рибозы и дезоксирибозы. Реакции с участием фосфата.

3. Олигонуклеотидных пробинг

Билет 9

1. Гидролиз пептидных связей под действием ферментов. Специфический и неспецифический гидролиз пептидных связей ферментами.
2. Реакции присоединения по С5-С6 двойной связи в пиримидинах. Реакции с участием экзоциклической аминогруппы
3. Сайт-направленная модификация нуклеиновых кислот: критерии специфичности, последовательность олигонуклеотидного адреса

Билет 10

1. Расщепление белков под действием химических агентов: бромциана, N-бром сукцинимиды, 2-нитро-5-тиоцианатобензойной кислоты.
2. Реакции гетероциклических оснований с электрофильными и нуклеофильными реагентами.
3. Высокоспецифичная модификация нуклеиновых кислот.

Билет 11

1. Первичная структура белков и методы ее определения. Определение аминокислотного состава пептидов и белков.
2. Реакционные центры гетероциклических оснований, распределение электронной плотности, локализация присоединения и отщепления протонов в нуклеозидах и нуклеотидах. Кислотно-основные свойства оснований.
3. Сайт-направленная модификация нуклеиновых кислот: используемые реакционно-способные группы

Билет 12

1. Фрагментация белков и пептидов по специфическим участкам. Разделение смеси пептидов, принцип разделения аминокислот, принцип разделения производных аминокислот, используемый в аминокислотном анализаторе
2. Ферментативный гидролиз РНК и ДНК.
3. Углеводы: строение и номенклатура

Билет 13

1. Вторичная структура белков: дисульфидные мостики, β -складки и α -спирали; понятие о структурном домене, субъединице, функциональном центре, самоорганизации пространственной структуры. Денатурация белков.
2. Фосфодиэфирная связь гидролиз под действием кислоты, гидролиз в щелочных условиях, гидролиз под действием химических реагентов, влияние 2'- гидроксильной группы на стабильность фосфодиэфирной связи в РНК.
3. Липиды: номенклатура, принципиальное строение, простые и сложные липиды, жирные кислоты, встречающиеся в липидах.

Билет 14

1. Исследование структуры белков и комплексов белков с другими биополимерами методом химической модификации. Метод футпринта. Подходы к локализации модифицированных остатков.

2. Фосфодиэфирная связь: строение, устойчивость, гидролиз фосфодиэфирных связей: различия между РНК и ДНК
3. Исследование структуры и функций РНК или ДНК в составе специфических комплексов методом химической модификации: методы определения модифицированных оснований.

Билет 15

1. Метод перекрывающихся блоков и метод ограниченного гидролиза основные подходы к определению исходной структуры белков их структуры фрагментов.
2. N-гликозидная связь: строение, конформация, стабильность, условия гидролиза N-гликозидной связи в РНК и ДНК, апуринизация ДНК.
3. Исследование структуры и функций РНК или ДНК в составе специфических комплексов методом химической модификации: защита оснований от модификации

Билет 16

1. Аффинная модификация белков: требования предъявляемые к аффинным реагентам, критерии аффинной модификации, применение аффинных реагентов.
2. Основные компоненты нуклеиновых кислот - нуклеотиды, нуклеозиды, номенклатура, строение, конформация рибозы и дезокси рибозы.
3. Стероиды, строение, биологические функции, стероидные гормоны

3.4. Список основной и дополнительной литературы:

1. В.В. Власов «Химия биополимеров». Н.: НГУ, 1980. 80 с.
2. Практическая химия белка, ред. Дарбре, М.: Мир, 1989. 623 с.
3. Шабарова З.А., Богданов А.А. Химия нуклеиновых кислот и их компонентов. М.: Химия, 1978. 584 с.