

Минобрнауки России

Бузулукский гуманитарно-технологический институт (филиал)
федерального государственного бюджетного образовательного учреждения
высшего образования

«Оренбургский государственный университет»

Кафедра биоэкологии и техносферной безопасности

РАБОЧАЯ ПРОГРАММА

ДИСЦИПЛИНЫ

«Б1.Д.Б.24 Биохимия и молекулярная биология»

Уровень высшего образования

БАКАЛАВРИАТ

Направление подготовки

06.03.01 Биология

(код и наименование направления подготовки)

Биоэкология

(наименование направленности (профиля) образовательной программы)

Квалификация

Бакалавр

Форма обучения

Очная

Год набора 2023

Рабочая программа дисциплины «Б1.Д.Б.24 Биохимия и молекулярная биология» рассмотрена и утверждена на заседании кафедры биоэкологии и техносферной безопасности
наименование кафедры

протокол № 6 от "16" 02 2023 г.

Декан строительного-технологического факультета

<u>наименование факультета</u>	<u>подпись</u>	<u>И.В. Завьялова</u> <small>расшифровка подписи</small>
--------------------------------	----------------	---

Исполнители:

<u>Доцент кафедры БэТБ</u> <small>должность</small>	<u>подпись</u>	<u>М.А. Щебланова</u> <small>расшифровка подписи</small>
--	----------------	---

<u>Ст.преподаватель кафедры БэТБ</u> <small>должность</small>	<u>подпись</u>	<u>А.Д. Юрченко</u> <small>расшифровка подписи</small>
--	----------------	---

СОГЛАСОВАНО:

Заместитель директора по НМР

<u>личная подпись</u>	<u>М.А. Зорина</u> <small>расшифровка подписи</small>
-----------------------	--

Председатель методической комиссии по направлению подготовки

<u>06.03.01 Биология</u> <small>код наименование</small>	<u>личная подпись</u>	<u>А.Н. Егоров</u> <small>расшифровка подписи</small>
---	-----------------------	--

Уполномоченный по качеству кафедры

<u>личная подпись</u>	<u>В.А. Байсыркина</u> <small>расшифровка подписи</small>
-----------------------	--

1 Цели и задачи освоения дисциплины

Цель (цели) освоения дисциплины:

изучение организации метаболизма и его регуляции, формирование понимания единства метаболических процессов в целом организме на основе знаний о химическом строении живых организмов и физико-химических процессах, обеспечивающих их жизнедеятельность; освоение системы знаний о фундаментальных положениях и современных достижениях в изучении роли и механизма функционирования нуклеиновых кислот и белков на основе знания их структуры и свойств.

Задачи:

- знакомство со структурой, свойствами и функциями основных биомолекул.
- изучение путей метаболизма нуклеиновых кислот, белков, углеводов и липидов и их взаимосвязей.
- изучение этапов энергетического обмена, способов запасаения и расходования метаболического топлива клетками.
- формирование представлений об основных принципах регуляции и их механизмах.
- формирование современных представлений о механизмах реализации генетической информации у вирусов, фагов, про- и эукариот в ходе основных клеточных процессов – репликации, транскрипции, трансляции и регуляции этих процессов.
- приобретение студентами современных представлений о механизмах репарации поврежденной ДНК, проявлениях нестабильности генома при онкогенезе и молекулярно-биологические основы возникновения жизни на земле.
- освоение основных методов генной инженерии и молекулярной биологии, необходимых для изучения и модификации нуклеиновых кислот, а также кодируемых ими белков.

2 Место дисциплины в структуре образовательной программы

Дисциплина относится к базовой части блока Д «Дисциплины (модули)»

Пререквизиты дисциплины: *Б1.Д.Б.23 Экология*

Постреквизиты дисциплины: *Отсутствуют*

3 Требования к результатам обучения по дисциплине

Процесс изучения дисциплины направлен на формирование следующих результатов обучения

Код и наименование формируемых компетенций	Код и наименование индикатора достижения компетенции	Планируемые результаты обучения по дисциплине, характеризующие этапы формирования компетенций
ОПК-2 Способен применять принципы структурно-функциональной организации, использовать физиологические, цитологические, биохимические, биофизические методы анализа для оценки и коррекции состояния живых объектов и мониторинга среды их обитания	ОПК-2-В-1 Применяет знания по основным системам жизнеобеспечения и гомеостатической регуляции жизненных функций у растений и у животных, способы восприятия, хранения и передачи информации, ориентируется в современных методических подходах, концепциях и проблемах физиологии, цитологии,	Знать: <ul style="list-style-type: none">- процессы и явления, происходящие в неживой и живой природе;- возможности современных научных методов познания природы;- о процессах и явлениях, происходящих в организме человека и животных при протекании биохимических процессов;- понимать возможности современных научных методов познания биохимических реакций и

Код и наименование формируемых компетенций	Код и наименование индикатора достижения компетенции	Планируемые результаты обучения по дисциплине, характеризующие этапы формирования компетенций
	биохимии, биофизики ОПК-2-В-2 Осуществляет выбор методов, адекватных для решения исследовательской задачи, выявляет связи физиологического состояния объекта с факторами окружающей среды	владеть ими на уровне, необходимом для решения задач, имеющих биохимическую и молекулярно-биологическую направленность; - алгоритм решения задач, имеющих естественнонаучное содержание и возникающих при выполнении профессиональных функций. <u>Уметь:</u> - проводить качественные реакции на различные классы соединений; - выбирать методы выделения, очистки и идентификации соединений; - использовать биохимические методы для исследования и оценки химического состава биологических жидкостей, пользоваться специальной биологической литературой в области биохимии и молекулярной биологии; - интерпретировать результаты лабораторных исследований. <u>Владеть:</u> - приемами исследовательской и аналитической работы по изучению строения и организации основных молекулярных механизмов работы живых систем на биохимическом уровне.
ОПК-3 Способен применять знание основ эволюционной теории, использовать современные представления о структурно-функциональной организации генетической программы живых объектов и методы молекулярной биологии, генетики и биологии развития для исследования механизмов онтогенеза и филогенеза в профессиональной деятельности	ОПК-3-В-2 Использует в профессиональной деятельности современные представления о проявлении наследственности и изменчивости на всех уровнях организации живого	<u>Знать:</u> - механизмы биологии, генетики, молекулярной биологии, онтогенеза и филогенеза как основы эволюционной теории. <u>Уметь:</u> - использовать современные представления о структурно-функциональной организации генетической программы живых объектов и методы молекулярной биологии, генетики и биологии развития для исследования механизмов онтогенеза и филогенеза в своей профессиональной деятельности; - при анализе результатов решения профессиональных задач соотносить актуальные вопросы современной общественной жизни и профессиональной деятельности с положениями изучаемых дисциплин. <u>Владеть:</u>

Код и наименование формируемых компетенций	Код и наименование индикатора достижения компетенции	Планируемые результаты обучения по дисциплине, характеризующие этапы формирования компетенций
		- навыками поиска, оценивания и использования современных представлений о проявлении наследственности и изменчивости на всех уровнях организации живого

4 Структура и содержание дисциплины

4.1 Структура дисциплины

Общая трудоемкость дисциплины составляет 3 зачетные единицы (108 академических часов).

Вид работы	Трудоемкость, академических часов	
	4 семестр	всего
Общая трудоёмкость	108	108
Контактная работа:	35,5	35,5
Лекции (Л)	18	18
Лабораторные работы (ЛР)	16	16
Индивидуальная работа и инновационные формы учебных занятий	1	1
Промежуточная аттестация (зачет, экзамен)	0,5	0,5
Самостоятельная работа: - выполнение курсовой работы (КР); - самоподготовка (проработка и повторение лекционного материала и материала учебников и учебных пособий); - подготовка к лабораторным занятиям; - подготовка к рубежному контролю)	72,5 +	72,5
Вид итогового контроля (зачет, экзамен, дифференцированный зачет)	диф. зач.	

Разделы дисциплины, изучаемые в 4 семестре

№ раздела	Наименование разделов	Количество часов				
		всего	аудиторная работа			внеауд. работа
			Л	ПЗ	ЛР	
1	Введение, основные понятия. Химия белков.	14	2	-	2	10
2	Структура и функции нуклеиновых кислот. Обмен нуклеиновых кислот.	12	2	-	-	10
3	Ферменты.	16	2	-	4	10
4	Витамины. Гормоны.	12	2	-	2	8
5	Обмен органических веществ и энергии.	12	2	-	-	10
6	Обмен углеводов. Обмен липидов. Обмен белков и аминокислот. Обмен водный и минеральный. Взаимосвязь обменов веществ.	20	4	-	8	8
7	Транскрипция. Структура и функции рибосом.	12	2	-	-	10
8	Трансляция. Регуляция биосинтеза белка.	10	2	-	-	8
	Итого:	108	18		16	74
	Всего:	108	18		16	74

4.2 Содержание разделов дисциплины

Раздел № 1 Введение, основные понятия. Химия белков. Предмет биохимии, методы изучения, история развития, основные понятия. Уровни организации живой материи. Биологическое значение, элементарный состав, химическое строение аминокислот и их свойства, понятие о цвиттер-ионе, классификация; цветные реакции на аминокислоты. Биологические особенности белков, методы их выделения, свойства растворов белков; молекулярная масса, белки – коллоиды, белки – гидрофильные соединения, структура белков, их свойства, уровни организации белковой молекулы. Коллагеновая структура белков.

Раздел № 2. Структура и функции нуклеиновых кислот. Обмен нуклеиновых кислот Строение и физико – химические свойства нуклеиновых кислот (1, II, III- структуры). Репликация ДНК. Основные этапы. Роль нуклеиновых кислот. Строение нуклеотидов. Пуриновые и пиримидиновые азотистые основания. Правила Чаргаффа. Полинуклеотиды. Гетерогенность РНК. Структура и функции транспортной РНК. Особенности строения и роль матричной РНК. Структура и функции рибосомной РНК и рибосом. Первичная, вторичная и третичная структура ДНК. Три уровня организации хроматина. Физико-химические свойства ДНК. Поток информации в клетке. Строение матричной, рибосомной и транспортной РНК. Структура ДНК. Репликация ДНК и её регуляция. Повреждение и репарация ДНК. Транскрипция – особенности у про- и эукариот. Структура транскриптонов. Процессинг и сплайсинг РНК на примере мРНК. Рибозимы. Экспрессия генов. Трансляция. РНК-содержащие вирусы. Молекулярные основы канцерогенеза. Белковая инженерия. Внеклеточный синтез белков. Молекулярные основы эволюции. Молекулярные механизмы регуляции клеточного цикла. Программируемая клеточная гибель (апоптоз).

Раздел № 3. Ферменты. Ферменты. Общая характеристика, номенклатура, классификация, ферментативный катализ; химическая природа и свойства ферментов, механизм их действия; специфичность действия ферментов; понятие об аллостерическом и активном центре. Регуляция их активности.

Раздел № 4. Витамины. Гормоны. Витамины, гипо-, гипervитаминозы, общая характеристика. Классификация: водорастворимые (В₁, В₂, В₆, В₁₂ Р, РР, С и др) и жирорастворимые (А, D, К, F); витаминоподобные вещества; авитаминозы. Гормоны; общая характеристика, свойства, механизм действия, виды гормонов. Гипо- и гиперфункция эндокринных желез.

Раздел № 5. Обмен органических веществ и энергии. Метаболизм – обмен веществ, обмен энергии. Ассимиляция и диссимиляция. Этапы обмена веществ, промежуточный обмен, цикл Кребса, освобождение и накопление энергии в цепи биоокисления. Роль ацетилкоэнзима А в цикле дикарбоновых кислот; роль коферментов НАД и ФАД в обмене веществ и энергии. Теория биологического окисления, его функции, энергетика.

Раздел № 6. Обмен углеводов. Обмен липидов. Обмен белков и аминокислот. Обмен водный и минеральный. Переваривание и всасывание углеводов, промежуточный обмен – анаэробный и аэробный распад, энергетическая ценность распада; пути распада углеводов - апотомический и дихотомический путь; гликолиз и гликогенолиз, регуляция обмена. Глюконеогенез. Биороль липидов, классификация – простые липиды: жиры, воска, стероиды; сложные липиды. Переваривание и всасывание, метаболизм триглицеридов, их превращения, окисление жирных кислот, глиоксалевый цикл, биосинтез жирных кислот; фосфатидный способ, моногидратный способ биосинтеза жиров. Значение белков в питании, переваривание и всасывание, биосинтез белка, дезаминирование, декарбоксилирование, переаминирование аминокислот. Регуляция белкового обмена. Обезвреживание конечных продуктов распада. Орнитиновый цикл мочевины; обмен отдельных аминокислот. Водный и минеральный обмен, понятия о гомеостазе, водный обмен и его регуляция, роль вазопрессина и альдостерона в регуляции обмена, минеральный обмен. Взаимосвязь обмена веществ в организме: углеводов и белков, углеводов и жиров, белков и жиров. Роль печени в обмене веществ.

Раздел № 7. Транскрипция. Структура и функции рибосом. Основные этапы транскрипции т – РНК и м – РНК. Информатера, информасома как этапы образования м – РНК. Репликация РНК – овых вирусов. Ферменты и белки репликации. Особенности механизма репликации у прокариот и эукариот. Исправление ошибок при репликации. Три стадии транскрипции. Особенности транскрипции у эукариот. Ингибиторы транскрипции. Три стадии синтеза белка: инициация, элонгация, терминация. Транспорт белка в клетке. Ингибиторы синтеза белка. Центральный постулат молекулярной биологии. Генетическая роль ДНК. Генетический код и его расшифровка. Свойства генетического

кода. Геном. Мутации и их роль в эволюционном процессе. Мутагены и злокачественный рост. Репарация мутаций. Роль дупликаций, нехваток, инверсий. Строение рибосом прокариот, эукариот. Функциональные участки А и Р. Полисомы. Структура и состав рибосом эу- и прокариот. Роль ионов Mg^{2+} , Mn^{2+} , рРНК и белков отдельных субчастиц рибосом. Процессинг рРНК и сборка субчастиц рибосом. Функциональные центры рибосом и их схематическое расположение, аминокислотные и пептидные участки рибосом. Образование пептидной связи на рибосомах. Стадии инициации и факторы в ней участвующие.

Раздел № 8. Трансляция. Инициация. Элонгация: этапы. Роль белковых факторов. Процессы в А- и Р-участковых рибосом. Терминация, факторы терминации. Регуляция биосинтеза белка. Регуляция синтеза белка у вирусов, бактерий, эукариот.

4.3 Лабораторные работы

№ ЛР	№ раздела	Наименование лабораторных работ	Кол-во часов
1	1	Химия белков. Качественные реакции на белки. Реакции осаждения белков (обратимые и необратимые).	2
2	3	Ферменты. Ферментативный гидролиз крахмала.	2
3	3	Кинетика ферментативных реакций. Открытие ферментов.	2
4	4	Витамины – водорастворимые и жирорастворимые.	2
5	6	Обмен углеводов.	2
6	6	Обмен липидов Биосинтез жирных кислот.	2
7	6	Обмен простых белков. Обмен сложных белков.	2
8	6	Водный и минеральный обмен.	2
		Итого:	16

4.4 Курсовая работа (4 семестр)

- Количественное определение продуктов азотистого обмена в норме и при патологии.
- Сахарный диабет. Нарушение обмена белков, углеводов и липидов при сахарном диабете. (Качественные реакции на ацетон и ацетоуксусную кислоту. Методы определения ацетона в моче, глюкозы в моче).
- Метаболические нарушения цикла мочевины. Диагностика нарушений орнитинового цикла. (Определение промежуточных и конечных продуктов обмена углеводов)
- Биогенные амины: синтез, инактивация, биологическая роль. (Определение свободных жирных кислот в сыворотке крови)
- Желчные кислоты и их роль в поддержании гомеостаза холестерина в организме. (Качественные реакции на желчные кислоты)
- Качественное и количественное определение билирубина и его роль в обмене веществ
- Обезвреживание токсических веществ в организме. Химический канцерогенез. (Определение мочевины в моче)
- Гормональная регуляция обмена веществ в организме на примере действия тироксина.
- Общий путь катаболизма и его регуляция. (Качественная реакция на каталазу)
- Биосинтез и катаболизм пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов. Нарушения метаболизма и связанные с ними болезни. (Гидролиз нуклеопротеидов дрожжей)
- Регуляция обмена углеводов и его роль в поддержании нормального уровня глюкозы в крови. (Влияние инсулина на содержание глюкозы в крови)
- Биологические мембраны. (Осмоз)
- Ингибиторы матричных биосинтезов: лекарственные препараты и бактериальные токсины.
- Особенности ферментативного катализа. Ингибирование активности ферментов. (Специфичность ферментов)
- Физико-химические свойства белков и методы их разделения. (Хроматографический метод разделения белков (аминокислот))

16. Биосинтез белка и его регуляция. (Определение общего белка биуретовым способом)
17. Биологически активные вещества – витамины (Качественные реакции на водорастворимые витамины)
18. Биологически активные вещества – гормоны (Качественные реакции на гормоны)
19. Глюконеогенез и его физиологическое значение. (На примере исследований 10 человек при физиологических нагрузках. Качественные реакции на молочную кислоту)
20. Окислительное фосфорилирование и его роль в дыхании (Окислительное фосфорилирование и разобщители)
21. Строение, биосинтез и биологическая роль кортикостероидов (Качественные реакции на адреналин (фолликулин))
22. Регуляция водно-солевого обмена. Роль вазопрессина, альдостерона и ренин-ангиотензинной системы. (Определение кальция в моче, хлоридов в моче.)
23. Строение, механизм действия и синтез действия паратгормона, кальцитриола и кальцитонина. (Качественное определение 17-кетостероидов в моче.)

5 Учебно-методическое обеспечение дисциплины

5.1 Основная литература

- 1 Михайлов, С. С. Биохимия двигательной деятельности: учебник: [Электронный ресурс]. / С. С. Михайлов. – 6-е изд., доп. – Москва: Спорт, 2016. – 296 с.: ил. – ISBN 978-5-906839-41-1. – Режим доступа: <https://biblioclub.ru/index.php?page=book&id=454250>
- 2 Основы биологической химии: учебное пособие [Электронный ресурс]. / Э. В. Горчаков, Б. М. Багамаев, Н. В. Федота, В. А. Оробец; Министерство сельского хозяйства Российской Федерации, Ставропольский государственный аграрный университет. – Ставрополь: Ставропольский государственный аграрный университет (СтГАУ), 2017. – 208 с.: ил. – Режим доступа: <https://biblioclub.ru/index.php?page=book&id=484922>.
- 3 Курс лекций по биохимии: учебное пособие [Электронный ресурс]. / сост. О. Н. Кудря, Т. А. Линдт; Министерство спорта, туризма и молодежной политики Российской Федерации [и др.]. – Омск: Сибирский государственный университет физической культуры и спорта, 2012. – 188 с.: табл., схем., ил. – Режим доступа: <https://biblioclub.ru/index.php?page=book&id=274672>.

5.2 Дополнительная литература

- 1 Дмитриев, А. Д. Биохимия [Текст]: учеб. пособие / А. Д. Димитриев, Е. Д. Амбросьева. – Москва: Издательско-торговая корпорация «Дашков и К», 2012. - 168 с. - Библиогр.: с.165 - ISBN 978-5-394-01790-2.
- 2 Гринштейн, Б. Наглядная биохимия [Текст]: пер. с англ. / Б. Гринштейн, А. Гринштейн. – Москва: ГЭОТАР-МЕД, 2000. - 119 с. - (Экзамен на отлично) - ISBN 5-9231-0335-5.
- 3 Кольман, Я. Наглядная биохимия [Текст] / Я. Кольман, К.- Г. Рем; под ред. П. Д. Решетова и Т. И. Соркиной; пер. с нем. Л.В. Козлова. – Москва: Мир, 2000. - 469 с.: ил... - Библиогр.: с. 425-426 - ISBN 5-03-003304-1.
- 4 Пинчук, Л.Г. Биохимия: учебное пособие [Электронный ресурс]. / Л.Г. Пинчук, Е.П. Зинкевич, С.Б. Гридина; ред. А.В. Дюмина. - Кемерово: Кемеровский технологический институт пищевой промышленности, 2011. - 364 с. - ISBN 978-5-89289-680-1. – Режим доступа: <http://biblioclub.ru/index.php?page=book&id=141519>
- 5 Барышева, Е. Теоретические основы биохимии: учебное пособие [Электронный ресурс]./ Е. Барышева, О. Баранова, Т. Гамбург; Министерство образования и науки Российской Федерации, Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Оренбургский государственный университет». - Оренбург: ОГУ, 2011. - 360 с.; То же – Режим доступа: <http://biblioclub.ru/index.php?page=book&id=259198>
- 6 Кнорре, Д. Г. Биологическая химия [Текст]: учебник / Д. Г. Кнорре, С. Д. Мызина.- 3-е изд., исправ.. – Москва: Высшая школа, 2002. - 479 с.: ил.. - Библиогр.: с. 466-467 - ISBN 5-06-003720-

5.3 Периодические издания

1. Химия и жизнь: журнал. - Москва, : Издательство научно-популярной литературы «Химия и жизнь»

5.4 Интернет-ресурсы

1. ИКТ-Портал: Библиотека. – Режим доступа: <http://www.ict.edu.ru/>
2. Федеральное УМО «Биологические науки». – Режим доступа: https://bioumo.ru/links/?SECTION_ID=366
3. Центр экологической информации и культуры/ Рубрика «Экология». – Режим доступа: <http://herzenlib.ru>
4. Национальный информационный портал. – Режим доступа: <http://eco.rian.ru>, <http://www.priroda.ru>
5. Экология. – Режим доступа: <http://www.en.edu.ru/catalogue/3>
6. Экологический энциклопедический словарь. – Режим доступа: <http://www.cnsnb.ru/akdil/0039/default.shtm>
7. Сайт Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина Российской академии наук. – Режим доступа: <https://www.ibiw.ru/>
8. Сайт Федеральной службы по надзору в сфере природопользования. – Режим доступа: <http://rpn.gov.ru/>
9. Специализированная база данных «Экология: наука и технологии». – Режим доступа: <http://ecology.gpntb.ru/ecologydb/>
10. База данных по статистике окружающей среды (ООН). – Режим доступа: <http://data.un.org/Explorer.aspx?d=ENV>

5.5 Программное обеспечение, профессиональные базы данных и информационные справочные системы

1. Операционная система Linux RED OS MUROM 7.3.1
2. Офисные приложения LibreOffice
3. Веб-приложение «Универсальная система тестирования БГТИ»
4. Яндекс-браузер
5. БД «Консультант Плюс» – Режим доступа: <http://www.consultant.ru/>
6. Национальная исследовательская компьютерная сеть России. – Режим доступа <https://niks.su/>
7. Ресурсы Национального открытого университета. – Режим доступа: <https://www.intuit.ru/search>
8. Федеральный образовательный портал. – Режим доступа – <http://www.edu.ru>
9. Большая российская энциклопедия. – Режим доступа: <https://bigenc.ru/>.

6 Материально-техническое обеспечение дисциплины

Учебные аудитории для проведения занятий лекционного типа, групповых и индивидуальных консультаций, текущего контроля и промежуточной аттестации, для курсового проектирования (выполнения курсовых работ), помещение для самостоятельной работы.

Учебные аудитории укомплектованы специализированной мебелью, аудиторной доской и техническими средствами обучения (стационарный или переносной проекционный экран, ноутбук переносной, мультимедиа -проектор), служащими для представления учебной информации большой аудитории.

Для проведения лабораторных работ используются специализированные лаборатории. Специализированные лаборатории оснащены необходимыми химическими реактивами, лабораторной посудой и лабораторным оборудованием: микроскопы; лабораторные инструменты и материалы; комплекты постоянных препаратов; коллекции. Перечень оборудования, используемого при проведении лабораторных работ, определяется тематикой занятия.

В лабораториях предусмотрена аптечка для оказания первой помощи, средства пожаротушения.

Учебная аудитория для проведения текущего контроля и промежуточной аттестации (компьютерный класс) оснащена специализированной мебелью, аудиторной доской, техническими средствами обучения (стационарный проекционный экран, мультимедиа – проектор, компьютерная техника, подключенная к сети «Интернет» и обеспечением доступа в электронную информационно-образовательную среду ОГУ и филиала).

Учебная аудитория для курсового проектирования (выполнения курсовых работ) оснащена специализированной мебелью, компьютерной техникой с возможностью подключения к сети «Интернет» и обеспечением доступа в электронную информационно-образовательную среду ОГУ и филиала.

Помещение для самостоятельной работы оснащено специализированной мебелью, компьютерной техникой с возможностью подключения к сети «Интернет» и обеспечением доступа в электронную информационно-образовательную среду ОГУ и филиала.