

PROGRAMA D'ENZIMOLOGIA**1999-2000**

1. Enzims. Concepte. Història. Significació biològica, química i pràctica. Definicions. Classificació i nomenclatura. Normes de la Comissió Internacional d'Enzims.

2. Cinètica de la reacció enzimàtica. Velocitat inicial: concepte, determinació, representació. Anomalies. Efecte de la concentració de substrat: equació de Michaelis-Menten. Estat pre-estacionari i estat estacionari: conceptes. Equació de Michaelis segons l'estat estacionari. Determinació de la K_m i de la V_{max} . Mètodes de Lineweaver-Burk i d'Eadie-Hofstee. Altres mètodes. Integració de l'equació de Michaelis-Menten. Significat dels paràmetres cinètics. Efecte de la concentració d'enzim.

3. Cinètica enzimàtica. Reaccions reversibles i irreversibles: tractament a l'estat estacionari; relació de Briggs-Haldane. Inhibició per excés de substrat. Reaccions enzimàtiques amb més d'un complex intermedi enzim-substrat: tractament a l'estat estacionari. Compostos químics intermedis enzim-substrat: cas de l'acil-enzim.

4. Cinètica enzimàtica. k_{cat}/K_m : concepte; utilitat a baixes concentracions de substrat. Complexos abortius: fixació no productiva. Discriminació entre substrats competitiu. Cinètica a altes concentracions d'enzim: diferents aproximacions matemàtiques.

5. Cinètica enzimàtica. Inhibició de la catàlisi enzimàtica: tipus d'inhibidors. Inhibidors reversibles: inhibició competitiva i no competitiva; inhibició incompetitiva i mixta. Model general. Anàlisi gràfica dels diferents tipus d'inhibició. Determinació de la constant d'inhibició K_i . Inhibidors irreversibles.

6. Cinètica enzimàtica. Reaccions amb més d'un substrat: notació de Cleland. Mecanisme de doble desplaçament (ping-pong); mecanisme seqüencial ordenat; mecanisme seqüencial estadístic; mecanisme de Theorell-Chance. Tractament matemàtic i anàlisi gràfica. Intercanvi isotòpic.

7. Cinètica enzimàtica. Cinètica dels estats efimers o fúgaços (transients). Mètode de flux continu (continuous flow), flux detingut (stopped-flow) i de relaxació. Descripció, conceptes i tractament matemàtic. "Bursts": determinació de la concentració d'enzim. Magnitud de les constants de velocitat.

8. Cinètica enzimàtica. Efecte del pH sobre la reacció enzimàtica. Tractament cinètic a l'estat estacionari. Funcions del pH de Michaelis. Grups ionitzables. Determinació del pK dels grups ionitzables que intervien en la fixació del substrat i en el procés catalític. Efecte de la temperatura. Crioenzimologia.

9. El centre actiu dels enzims. Definició i descripció. Identificació dels aminoàcids constituents del centre actiu. a) Mètodes que utilitzen la modificació química: 1) Marcatge amb una part del substrat. 2) Marcatge amb substrats suïcides. 3) Marcatge amb quasi (o pseudo) substrats. 4) Marcatge per afinitat. 5) Marcatge amb una quantitat limitada de reactiu específic d'aminoàcids. 6) Marcatge en presència d'una substància protectora del seti actiu. 7) Marcatge mitjançant co-catalitzadors. b) Mètodes físico-químics: 1) Estudis en funció del pH. 2) Ressonància magnètica nuclear. 3) Cristal·lografia de raigs X. 4) Espectroscòpia Raman. 5)

Marcatge d'aminoàcids sense grups reactius. c) Altres mètodes: 1) Mutació dirigida. 2) Comparació de seqüències.

10. El centre actiu dels enzims. Especificitat i estructura tridimensional del centre actiu. Forces que mantenen la configuració estèrica de l'enzim. Energies de fixació. Flexibilitat de la proteïna completa. Flexibilitat del centre actiu. Teories sobre l'acoblament entre enzim i substrat: teories de Fischer (pany i clau); de Koshland (acoblament induït o "induced fit") i de Haldane (tensió). Fixació de l'enzim a l'estat de transició. Enzims amb diversos subconjunts de fixació de substrat. L'enzim perfectament evolucionat.

11. Casos notables d'especificitat enzimàtica. Hiperespecificitat enzimàtica: mecanismes "editorials". Especificitat estèrica dels enzims. Selecció i reconeixement de centres quirals.

12. Mecanismes relacionats amb la catàlisi enzimàtica. Efectes de proximitat i d'orientació: efectes entròpics. Catàlisi àcido-bàsica general. Catàlisi àcido-bàsica concertada. Catàlisi covalent. Catàlisi per distorsió.

13. Mecanismes relacionats amb la catàlisi enzimàtica. Coenzims, cofactors i grups prostètics: definicions. Mecanismes d'actuació. Metalls.

14. Regulació de l'activitat enzimàtica. Descripció general dels diferents mecanismes de regulació. a) Modificació de la concentració d'enzim: inducció i repressió. b) Modificació de les propietats cinètiques: efecte de la concentració de substrats; efecte del pH; efecte de la concentració de coenzims, hormones, moduladors positius i negatius; interacció amb altres subunitats proteiques; diverses formes químiques de l'enzim (enzims del metabolisme del glicogen, glutamina sintetasa d'*E. coli*, etc.); precursors (proenzims); estat d'agregació de la proteïna; modulació amb l'edat; complexos multienzimàtics; isoenzims; enzims multifuncionals.

15. Regulació de l'activitat enzimàtica. Enzims amb cinètica sigmoidal. Enzims al·lostèrics: model de Monod, Wyman i Changeux; model de Koshland, Némethy i Filmer; model de Rabin; model de Ricard. Tractament matemàtic.

16. Desenvolupaments recents. Ribozims: característiques i formes d'acció. Anticossos amb activitat catalítica. Enzims sintètics.

17. Enzims immobilitzats. Concepte. Tècniques de preparació. Propietats. Aspectes teòrics i pràctics.

BIBLIOGRAFIA

- BOYER, P.D. "The Enzymes", 3^a ed. Diferents volums. Academic Press. New York
- BOYER, P.D. "The Enzymes". Vols. I i II. Student edition. Academic Press. New York. 1971
- CANTOR, C. & SCHIMMEL, P. "Biophysical Chemistry". Part III. Freeman. San Francisco. 1980
- COPELAND, R.A. "Enzymes". VCH, New York, 1996
- CORNISH-BOWDEN, A. "Fundamentals of enzyme kinetics". Portland Press Ltd. London. 1995
- CORNISH-BOWDEN, A. & WHARTON, C.W. "Enzyme kinetics" IRL Press, Oxford. 1988
- DIXON, M. & WEBB, E.C. "Enzymes". 3rd ed. Longmans. London. 1979
- DRESSLER, D. & POTTER, H. "Discovering enzymes". Scientific American Library. New York. 1991
- FERSHT, A. "Estructura y mecanismo de los enzimas". Reverté. Barcelona. 1980
- FERSHT, A. "Enzyme structure and mechanism" 2nd ed. Freeman, New York. 1985
- JURNAK & McPHERSON. "Biological macromolecules and assemblies. Vol. 3: Active sites of enzymes". Wiley. New York. 1987
- KYTE, J. "Mechanism in protein chemistry". Garland, London & New York, 1995
- LIEBMAN, J.F. & GREENBERG, A. "Mechanistic principles of enzyme activity". VCH Publishers, New York & Weinheim, 1988
- PAGE, M.I. "Enzyme mechanisms" Royal Soc. Chem., Cambridge. 1987
- PALMER. "Understanding enzymes". 2nd. ed. Ellis Horwood. Chichester. 1985
- PELMONT, J. "Enzymes". Presses Universitaires de Grenoble. 1989
- PRICE & STEVENS. "Fundamentals of enzymology". Oxford University Press. Oxford. 1982
- PURICH, D.L. "Contemporary enzyme kinetics and mechanism" 2nd ed. Academic Press. San Diego. 1996.
- SIGMAN, D.S. & BOYER, P.D. "The enzymes". Vol. XIX (Mechanisms of catalysis). Academic Press. San Diego. 1990
- SUCKLING, C.J. "Enzyme chemistry". Chapman & Hall, London. 1984
- SUELTER. "A practical guide to enzymology". Wiley. New York. 1985

COL.LECCIONS

Advances in Enzymology
Annual Review of Biochemistry
Essays in Biochemistry
Methods in Enzymology
Trends in Biochemical Sciences