

Biocatàlisi

2012/2013

Codi: 100867

Crèdits ECTS: 6

Titulació	Pla	Tipus	Curs	Semestre
2500252 Graduat en Bioquímica	814 Graduat en Bioquímica	OB	2	2

Professor de contacte

Nom: Victoria Nogués Bara

Correu electrònic: Victoria.Nogues@uab.cat

Utilització d'idiomes

Llengua vehicular majoritària: català (cat)

Algun grup íntegre en anglès: No

Algun grup íntegre en català: Sí

Algun grup íntegre en espanyol: No

Prerequisits

No hi ha prerequisits oficials. De tota manera, part dels continguts de les assignatures de 1r curs i 2n curs (primer semestre) són necessaris per a poder seguir correctament l'assignatura. En especial, els de les assignatures següents: Termodinàmica i Cinètica Química, Química Orgànica dels Processos Bioquímics, Bioquímica I, Bioquímica II, Química i Enginyeria de Proteïnes, Tècniques Instrumentals Bàsiques i Avançades.

Objectius

L'assignatura Biocatàlisi es centra en l'estudi dels enzims. El coneixement dels enzims és clau en el marc de la Bioquímica atès el seu paper com a catalitzadors de les reaccions biològiques i les aplicacions en els processos biotecnològics. L'assignatura analitza els enzims des de diferents perspectives: activitat, cinètica, mecanismes i aplicacions. L'objectiu general de l'assignatura és proporcionar els fonaments per a l'anàlisi, caracterització i ús dels enzims des de les perspectives de la recerca i de l'aplicació biotecnològica i biomèdica.

Objectius concrets de l'assignatura:

Coneixement de les característiques generals, classificació i mètodes d'assaig de l'activitat enzimàtica.

Anàlisi de la cinètica enzimàtica i determinació i significat dels paràmetres cinètics.

Coneixement de la inhibició enzimàtica i les seves aplicacions, especialment en el camp dels fàrmacs.

Anàlisi del centre actiu i coneixement dels mètodes de caracterització.

Anàlisi dels mecanismes enzimàtics i de regulació.

Aplicacions biomèdiques i biotecnològiques dels enzims.

Competències

- Aplicar els recursos informàtics per a la comunicació, la recerca d'informació, el tractament de dades i el càlcul.
- Demostrar que es comprenen i s'apliquen els mecanismes de catàlisi biològica basats en l'estructura dels catalitzadors biològics i les reaccions químiques.

- Gestionar la informació, organització i planificació del treball.
- Interpretar resultats experimentals i identificar elements consistents i inconsistents.
- Llegir textos especialitzats tant a llengua anglesa com a les llengües pròpies.
- Manejar bibliografia i interpretar la informació de les principals bases de dades biològiques, així com saber usar les eines informàtiques bàsiques.
- Utilitzar les metodologies analítiques per a l'assaig de l'activitat biològica dels components cel·lulars, en especial enzims, tant in vitro com in vivo.

Resultats d'aprenentatge

1. Aplicar els recursos informàtics per a la comunicació, la recerca d'informació, el tractament de dades i el càlcul.
2. Avaluar la idoneïtat dels mètodes de determinació d'activitats enzimàtiques i analitzar l'efecte de les condicions experimentals d'assaig.
3. Calcular i interpretar els paràmetres cinètics de les reaccions enzimàtiques, mitjançant mètodes gràfics i utilitzant programes informàtics.
4. Explicar els fonaments fisicoquímics de la catàlisi enzimàtica.
5. Explicar les bases estructurals i els principals mecanismes de la catàlisi enzimàtica, i com es regula.
6. Gestionar la informació, organització i planificació del treball.
7. Interpretar resultats experimentals i identificar elements consistents i inconsistents.
8. Llegir textos especialitzats tant a llengua anglesa com a les llengües pròpies.
9. Obtenir informació de les bases de dades sobre estructura, activitat, i funcions biològiques dels enzims i les seves aplicacions.

Continguts

Tema 1. Enzims. Concepte. Introducció històrica. Els enzims a la societat actual. Propietats generals. Proteïnes. Enzims alternatius. Catalitzadors eficients. Especificitat. Complex enzim-substrat. Disminució de l'energia d'activació. Estat de transició. Regulació. Cofactors enzimàtics.

Tema 2. Normes de la Comissió Internacional d'Enzims. Nomenclatura i classificació de les sis classes principals d'enzims. Altres característiques necessàries per identificar un enzim. Bases de dades amb informació d'enzims.

Tema 3. Cinètica de la reacció enzimàtica. Concepte. Mètodes de determinació de l'activitat enzimàtica. Velocitat inicial: concepte, determinació, representació. Unitats d'activitat enzimàtica. Efecte de la concentració d'enzim. Obtenció dels enzims.

Tema 4. Cinètica de la reacció enzimàtica. Reaccions amb un substrat. Efecte de la concentració de substrat: equació de Michaelis-Menten. Estat pre-estacionari i estat estacionari: conceptes. Hipòtesi d'estat estacionari: tractament de Briggs-Haldane. Reaccions enzimàtiques amb més d'un complex intermedi enzim-substrat.

Tema 5. Cinètica enzimàtica. Determinació de la K_M i de la V_{max} . Mètodes de 1) Lineweaver-Burk, 2) Eadie-Hofstee, 3) Hanes-Wolff, 4) Eisenthal-Cornish-Bowden i 5) Equació integrada de Michaelis-Menten. Significat dels paràmetres cinètics k_{cat} i K_M . Concepte de k_{cat}/K_M : eficiència catalítica i especificitat enzimàtica. Equació de Michaelis-Menten per a reaccions reversibles: relació de Haldane.

Tema 6. Cinètica enzimàtica. Inhibició de la catàlisi enzimàtica: tipus d'inhibidors. Inhibidors reversibles: inhibició competitiva i no competitiva, acompetitiva i mixta (inclou la no competitiva). Model general. Anàlisi gràfica dels diferents tipus d'inhibició. Determinació de les constants d'inhibició. Concepte de IC_{50} i la seva relació amb les constants d'inhibició. Inhibidors pseudoirreversibles i inhibidors irreversibles. Utilització d'inhibidors com a fàrmacs.

Tema 7. Cinètica enzimàtica. Reaccions amb més d'un substrat: notació de Cleland. Mecanisme seqüencial ordenat; mecanisme seqüencial estadístic; mecanisme de doble desplaçament (ping-pong). Tractament matemàtic i anàlisi gràfica. Mètodes per a la determinació del tipus de mecanisme. Intercanvi isotòpic i efecte isotòpic.

Tema 8. Cinètica enzimàtica. Cinètica dels estats efímers o fugaços ("transients"). Característiques generals dels mètodes d'anàlisi. Mètodes de mescla: flux continu ("continuous flow"), flux detingut ("stopped-flow") i extinció ("quenched-flow"). Mètodes de relaxació: salt de temperatura (T-jump), salt de pressió (P-jump). Anàlisi del "Burst" d'una reacció: determinació de la concentració d'enzim.

Tema 9. Cinètica enzimàtica. Efecte del pH i de la temperatura en les reaccions enzimàtiques. Efecte del pH. Tractament cinètic a l'estat estacionari. Funcions del pH de Michaelis. Grups ionitzables. Determinació del pK dels grups ionitzables que intervenen en la fixació del substrat i en el procés catalític. Efecte de la temperatura. Enzims d'organismes extremòfils.

Tema 10. Cinètica enzimàtica. Cooperativitat i al·lostèricisme. Anàlisi cinètica de la cooperativitat. Equacions de Hill. Model de Monod, Wyman i Changeux. Model de Koshland, Némethy i Filmer. Activitat i regulació de l'aspartat transcarbamoilasa.

Tema 11. Especificitat enzimàtica. El centre actiu, especificitat i estructura tridimensional. Definició de centre actiu. Característiques del centre actiu. Teories sobre l'acoblament entre l'enzim i el substrat. Teoria de Fisher (pany i clau). Teoria de Koshland ("induced fit" o acoblament induït). La hexoquinasa com a exemple d'acoblament induït. Hipòtesi de la unió a tres punts. Hipòtesi que impliquen tensió. Estabilització de l'estat de transició. Anticossos catalítics.

Tema 12. El centre actiu. Identificació dels centres d'unió i de catàlisi. Modificació química amb inhibidors irreversibles específics. Marcatge amb una part del substrat. Utilització de substrats artificials. Marcadors per afinitat. Investigació de l'estructura tridimensional de proteïnes: raigs X, RMN. Mutagènesi dirigida. Comparació de la mutagènesi i el marcatge químic. Catàlisi assistida pel substrat (SAC).

Tema 13. Mecanismes de catàlisi. Introducció als mecanismes de l'acció enzimàtica. Energètica de la catàlisi enzimàtica. Efectes de proximitat i orientació. Catàlisi àcid-base. Catàlisi covalent. Catàlisi amb ions metàl·lics. Efecte de l'entorn: catàlisi electrostàtica. Canalització d'intermediaris. Enzims multifuncionals. Enzims amb funcions addicionals no enzimàtiques "moonlighting enzymes".

Tema 14. Cofactors i ribozims. Mecanismes d'actuació de cofactors: Piridoxal fosfat, tiamina pirofosfat i NAD. Ribozims. Activitat catalítica del RNA. Tipus de ribozims. Significat biològic dels ribozims.

Tema 15. Casos notables d'especificitat enzimàtica. Hiperespecificitat enzimàtica. Endonucleases de restricció. Mecanismes "editorials" i de correcció d'errors: aminoacil-tRNA sintetases. Especificitat estèrica dels enzims. Selecció i reconeixement de centres quirals.

Tema 16. Regulació de l'activitat enzimàtica. Modificació de la concentració d'enzim. Regulació de la síntesi i degradació dels enzims. Mecanismes de degradació. Variació de la velocitat enzimàtica en funció de la concentració de substrat, producte i cofactors. Activació per precursor i retroinhibició. Control unit a l'energia. Control hormonal. Isoenzims. Polimerització-despolimerització. Unió a altres proteïnes. Modificació covalent irreversible. Modificació covalent reversible.

Tema 17. Aplicacions biomèdiques i biotecnològiques dels enzims. L'ús dels enzims en el processos industrials. Etapes en el disseny i posta a punt d'un biocatalitzador. Aplicacions dels enzims: fàrmacs i diagnòstic, detergents, indústria tèxtil i indústria alimentària.

CASSOS PRÀCTICS I PROBLEMES

Els problemes i casos pràctics fan referència a alguns aspectes del programa de Teoria. Les pròpies característiques de les diverses parts del temari de Teoria fan que els enunciats dels problemes es puguin concentrar en alguns aspectes determinats, especialment en l'anàlisi de dades cinètiques. Els enunciats dels problemes es lliuraran a través del Campus Virtual amb antelació a la classe de problemes en la que s'hagin de tractar.

Metodologia

L'assignatura de Biocatàlisi consta de classes teòriques, classes de resolució de casos pràctics i problemes, lliurament de treballs pel Campus Virtual i tutories. Les activitats formatives de l'assignatura es complementen

amb els continguts pràctics de formació en l'àmbit dels enzims que s'imparteixen en l'assignatura Laboratori Integrat 4. A continuació es descriu l'organització i la metodologia docent que es seguirà en aquests tipus d'activitats formatives.

Classes de teoria:

El contingut del programa de teoria serà impartit principalment pel professor en forma de classes magistrals amb suport audiovisual. Les presentacions utilitzades a classe pel professor estaran a disposició dels alumnes al Campus Virtual de l'assignatura abans de l'inici de cadascun dels temes del curs. Aquestes sessions expositives constituïran la part més important de l'apartat de teoria. És recomanable que els alumnes disposin del material publicat al Campus Virtual en forma impresa per tal de poder seguir les classes amb més comoditat. S'aconsella que els alumnes consultin de forma regular els llibres recomanats a l'apartat de Bibliografia d'aquesta guia docent per tal de consolidar i clarificar, si és necessari, els continguts explicats a classe. També és aconsellable que els alumnes utilitzin els enllaços indicats al Campus Virtual, que contenen vídeos i animacions relacionats amb els processos explicats a classe.

Classes de resolució de problemes i casos pràctics:

En aquestes sessions els alumnes es dividiran en dos grups (A i B). L'alumne ha de consultar a quin grup pertany i assistir a les classes corresponents al seu grup. Hi haurà 10 sessions de problemes que es dedicaran a la resolució de casos pràctics i problemes experimentals relacionats amb els continguts del programa de teoria. Es pretén que aquestes classes serveixin per consolidar els continguts prèviament treballats a les classes de teoria i també perquè l'alumne es familiaritzi amb algunes de les estratègies experimentals, amb la interpretació de dades científiques i la resolució de problemes basats en situacions experimentals reals.

En el transcurs de les classes de problemes, de forma periòdica, caldrà resoldre i lliurar problemes que seran avaluats i la nota incidirà en la qualificació final.

Els enunciats dels problemes es lliuraran a través del Campus Virtual amb antelació a la classe de problemes en la que s'hagin de tractar.

Lliurament de treballs pel Campus Virtual:

Periòdicament, es proposaran a través del Campus Virtual un conjunt de problemes o casos pràctics que els alumnes hauran de resoldre abans d'una data concreta. Les dates previstes estan indicades a l'apartat de Programació de l'assignatura d'aquesta guia docent. L'alumne enviarà per l'eina de lliurament d'arxius del Campus Virtual un document redactat de forma individual amb els problemes resolts. L'arxiu haurà de ser en format word o pdf no podent superar la mida de fitxer màxima permesa per la plataforma. Cal recordar que aquesta aplicació no permet el lliurament d'arxius fora del termini establert.

Tutories

Es realitzarà una sessió de tutoria del grup classe abans de les proves parcials 1 i 2 i, a petició dels alumnes, tutories individuals. En el cas que el nombre de sol·licituds sigui elevat es realitzaran, de manera addicional, tutories d'aula que s'anunciarien oportunament a través del Campus Virtual. L'objectiu d'aquestes sessions serà el de resoldre dubtes, repassar conceptes bàsics i orientar sobre les fonts d'informació consultades.

Material disponible al Campus Virtual de l'assignatura:

Presentacions utilitzades pel professor a classes de teoria.

Enunciats dels problemes o casos a treballar a les classes de problemes.

Calendari de les activitats docents (classes d'aula, tutories, avaluacions, lliuraments...).

Activitats formatives

Títol	Hores	ECTS	Resultats d'aprenentatge
-------	-------	------	--------------------------

Tipus: Dirigides			
Classes de resolució de problemes i casos pràctics	8	0,32	1, 2, 3, 7, 8, 9
Classes de teoria	35	1,4	2, 3, 4, 5, 8, 9
Tipus: Supervisades			
Tutories en grup	2	0,08	2, 3, 4, 5
Tipus: Autònomes			
Anàlisi i resolució de problemes i casos pràctics	24	0,96	1, 2, 3, 6, 7, 8, 9
Estudi	54	2,16	1, 4, 5, 6, 7, 8
Realització i lliurament de treballs	21	0,84	1, 2, 3, 6, 7, 8, 9

Avaluació

L'avaluació de l'assignatura serà individual i continuada. L'objectiu de l'avaluació continuada és el d'incentivar l'esforç de l'alumne al llarg de tot el curs, permetent avaluar el seu grau de seguiment i comprensió de la matèria. Es realitzaran diferents activitats d'avaluació que permetran avaluar l'assoliment de les competències associades a aquesta assignatura.

Resolució de qüestions de teoria de problemes i cassos pràctics (7.5/10)

- L'avaluació d'aquesta activitat es realitzarà mitjançant dues proves escrites en les que l'alumne ha de demostrar el seu grau d'assoliment dels conceptes teòrics i de la resolució de problemes.
- Cadascuna de les proves tindrà un pes global del 37,5%. La primera estarà programada a mitjans del semestre i la segona a finals del semestre en el període de temps corresponent a l'avaluació final. En els dos cassos les proves inclouran els continguts de les sessions teòriques i de resolució de cassos pràctics i problemes.
- El dia de la segona prova, aquells alumnes que no hagin superat la primera o vulguin millorar la seva qualificació podran realitzar la prova corresponent. La realització d'aquesta nova prova suposa la renúncia a la primera qualificació.

Avaluació continuada de problemes i casos pràctics (2.5/10)

Avaluació pel Campus virtual: Periòdicament es proposaran un conjunt de problemes o casos pràctics que s'hauran de resoldre de forma individual abans d'una data concreta. L'estudiant enviarà els problemes resolts per l'eina de lliurament d'arxius del Campus virtual (2/10).

Avaluació presencial: En el transcurs de les classes de resolució de problemes i cassos pràctics, de forma periòdica caldrà resoldre i lliurar problemes que seran avaluats (0.5 sobre 10).

En tots dos casos es tindrà en compte, a més dels coneixements, l'adquisició de competències de comunicació escrita.

El pes de l'avaluació de la resolució de casos pràctics i problemes serà de 2.5 sobre 10.

Els estudiants als que no els sigui possible, amb causa justificada, participar a l'avaluació continuada, podran ser avaluats (el mateix dia en què hi ha programada la segona prova parcial) mitjançant una prova complementària. La màxima qualificació que és possible assolir en aquesta situació és equivalent al 85% del màxim, en no poder cobrir les exigències d'algunes de les competències i resultats d'aprenentatge de l'assignatura descrits a l'apartat 5.

Els dos apartats de l'avaluació són indestruïbles, de manera que l'alumne ha de participar, i ser avaluat, en tots dos per tal de superar la matèria.

És necessari obtenir una qualificació final igual o superior a **5** per superar l'assignatura.

Es considera que un estudiant obté la qualificació de **No Presentat** quan la valoració de totes les activitats d'avaluació realitzades no li permeti assolir la qualificació global de 5 en el supòsit que hagués obtingut la màxima nota en totes elles.

Activitats d'avaluació

Títol	Pes	Hores	ECTS	Resultats d'aprenentatge
Lliurament de treballs (casos pràctics i problemes)	20%	0	0	1, 2, 3, 6, 7, 8, 9
Proves parcials de teoria i resolució de problemes o casos pràctics	75%	4	0,16	2, 4, 5, 7, 8
Resolució presencial de problemes i casos pràctics	5%	2	0,08	2, 3, 7

Bibliografia

Obres específiques

- Bisswanger, H. "Enzyme kinetics. Principles and methods" 2^a edició. 2008. Wiley-VCH. Weinheim.
- Bommarius, A.S., Riebel, B.R. "Biocatalysis". 2004. Wiley-VCH. Weinheim.
- Cook, P. F., Cleland, W.W. Enzyme kinetics and mechanism. 2007. Garland Science. London & New York.
- Copeland, R.A. "Enzymes. A practical introduction to structure, mechanism and data analysis". 2^a edició, 2000. Wiley-VCH. New York.
- Copeland, R.A. "Evaluation of enzyme inhibitors in drug discovery". 2005. Wiley. Hoboken. New Jersey
- Cornish-Bowden, A. "Fundamentals of enzyme kinetics". 3rd ed. 2004. Portland Press. London.
- Eisental, R., Danson, M.J. "Enzyme Assays". 2002. 2^a ed. Oxford Univ. Press. Oxford
- Fersht, A., "Structure and Mechanism in Protein Science". 1999. W.H. Freeman. New York.
- Núñez de Castro, I. "Enzimología". 2001, Pirámide, Madrid
- Palmer, T. "Understanding Enzymes". 1985. 2^a edició. Ellis Horwood. Chichester.
- Price, N.C., Stevens, L. "Fundamentals of Enzymology". 1999. 3^a edició. Oxford University Press. Oxford.
- Price, N.C. "Exploring proteins, a student's guide to experimental skills and methods". Ed. Oxford University Press, 2009
- Price, N.C. ed.) "Proteins Labfax". 1996. Academic Press, San Diego, CA.

Obres Generals

- Nelson, D.L., Cox, M.M. Price, N.C. "Lehninger-Principios de Bioquímica" (2009)5^a. ed. Ed. Omega. Traduit de la 5^a ed. anglesa de l'any 2008 <http://www.whfreeman.com/lehninger/>
- Berg, J.M., Tymoczko, J.L., Stryer, L. "Bioquímica" (2007). 6^a ed. Ed. Reverté (traduït de la 6^a ed. anglesa)

www.whfreeman.com/stryer

- Berg, J.M., Tymoczko, J.L., Stryer, L. "Biochemistry" (2012) 7th Ed. WH Freeman Palgrave Macmillan
<http://bcs.whfreeman.com/berg7e/>

- Voet, D., Voet, J.G. "Biochemistry". 2011, 4^a ed. Ed. John Wiley & Sons Inc.

Enllaços web

Els trobareu actualitzats al Campus Virtual de l'assignatura.