

## ENZIMOLOGIA

4323

1. Enzims. Concepte. Història. Definicions. Significació biològica, química i pràctica.
2. Classificació i nomenclatura: Història. Normes de la Comissió Internacional d'Enzims.
3. Cinètica de la reacció enzimàtica: Efecte de la concentració d'enzim. Velocitat inicial: concepte, determinació, representació. Anomalies. Estadi pre-estacionari i estadi estacionari: conceptes.
4. Cinètica enzimàtica: Efecte de la concentració de substrat: equació de Michaelis-Menten. Reaccions reversibles i reaccions irreversibles: tractament a l'estadi estacionari; relació de Briggs-Haldane. Inhibició per excés de substrat. Determinació de la  $K_m$  i de la  $V$ . Mètodes de Lineweaver-Burk i d'Eadie-Hofstee. Altres mètodes. Integració de l'equació de Michaelis-Menten.  $k_{cat}/K_m$ : concepte; utilitat a baixes concentracions de substrat. Cinètica a altes concentracions d'enzim: diferents aproximacions matemàtiques.
5. Cinètica enzimàtica: Reaccions enzimàtiques amb més d'un complex intermedi enzim-substrat: tractament a l'estadi estacionari. Compostos químics intermedis enzim-substrat: cas de l'acil-enzim. Complexos abortius: fixació no productiva.
6. Cinètica enzimàtica: Inhibició de la catalisi enzimàtica: tipus d'inhibidors. Inhibidors reversibles: inhibició competitiva i no competitiva. Anàlisi gràfica dels diferents tipus d'inhibició. Determinació de la constant d'inhibició  $K_i$ . Inhibidors irreversibles. Inhibició i activació per excés de substrat. Substrats competitius.

7. 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.
8. Cinètica enzimàtica: Cinètica dels estats efímers o fugaços (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.
9. Cinètica enzimàtica: Efecte del pH sobre la reacció enzimàtica. Tractament cinètic a l'estadi estacionari. Funcions del pH de Michaelis. Grups ionitzables. Determinació del pK dels grups ionitzables que intervenen en la fixació del substrat i dels que intervenen en el procés catalític.
10. Cinètica enzimàtica: Enzims amb cinètica sigmoidal. Enzims al.lostèrics: models de Monod, Wyman i Changeux; de Koshland Némethy i Filmer; de Rabin; de Frieden; de Ricard. Tractament matemàtic.
11. El centre actiu dels enzims. Definició i descripció. Identificació dels aminoàcids constituents del centre actiu: a) Mètodes indirectes: efecte del pH; ressonància magnètica nuclear. b) Mètodes directes: 1. Marcat amb part del substrat. 2. Marcat amb un pseudo-substrat. 3 Marcat amb una quantitat limitada de reactiu específic d'aminoàcids. 4. Marcat d'affinitat. 5. Marcat amb un reactiu radiactiu. 6. Marcat amb un grup prostètic. 7. Substrats suïcides. Relació entre les estructures obtingudes per difracció de raigs X i l'estructura de l'enzim en solució.

12. El centre actiu dels enzims: Especificitat i estructura tridimensional del centre actiu. Forces que mantenen la configuració estérica de l'enzim. Energies de fixació. Flexibilitat de la proteïna completa. Flexibilitat del centre actiu. Situació 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). Hiperespecificitat enzimàtica: mecanismes "editorials".
13. Mecanismes relacionats amb la catalisi enzimàtica: Efectes de proximitat i d'orientació: efectes entròpics. Catalisi àcido-bàsica general. Catalisi àcido-bàsica concertada. Catalisi covalent. Catalisi per distorsió.
14. Mecanismes relacionats amb la catalisi enzimàtica: Coenzims, cofactors i grups prostètics: definicions. Mecanismes d'acció. Metalls.
15. Mecanismes relacionats amb la catalisi enzimàtica: Especificitat esteràica dels enzims. Selecció i reconeixement de centres quirals.
16. Enzims immobilitzats : Concepte. Tècniques de preparació. Propietats. Aspectes teòrics i pràctics.
17. 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, diverses formes químiques de l'enzim (enzims del metabolisme del glicògen, glutamina sintetasa d'E.coli, etc.), precursores (proenzims), estat d'agregació de la proteïna, compartimentació cel·lular, modulació amb l'edat, complexos multienzimàtics, isoenzims enzims multifuncionals.

## BIBLIOGRAFIA

- BOYER. "The Enzymes" 3<sup>a</sup> edició. Diferents volums. Academic Press, New York. 1970-1982.
- BOYER. "The Enzymes". Vols. I i II. Student edition. Academic Press. New York. 1971.
- CANTOR & SCHIMMEL. "Biophysical Chemistry". Part III. Freeman. San Francisco, 1980.
- CHRISTENSEN & PALMER. "Enzyme kinetics". 2nd. ed. Saunders. Philadelphia. 1974.
- CORNISH-BOWDEN. "Principles of enzyme kinetics". Butterworths. London. 1975.
- CORNISH-BOWDEN. "Fundamentals of enzyme kinetics". Butterworths. London. 1979.
- DIXON & WEBB. "Enzymes". 3rd ed. Longmans. London. 1979.
- FERSHT. "Estructura y mecanismo de los enzimas". Reverté. Barcelona. 1980.
- GUTFREUND. "Enzymes: Physical principles". Wiley. London. 1972.
- PALMER. "Understanding enzymes". Ellis Horwood. Chichester. 1981.
- ROBERTS. "Enzyme kinetics". Cambridge University Press. Cambridge. 1977.
- SCRIMGEOUR. "Chemistry and control of enzyme reactions". Academic Press. New York. 1977.
- VIRATELLE. "Enzimología". Omega. Barcelona. 1976.
- WONG. "Kinetics of enzyme mechanisms". Academic Press. London. 1975.
- WYNN. "Estructura y función de los enzimas". Omega. Barcelona. 1977.

### Col.leccions

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

Professor: Dr. Cuchillo

curs : 1983 - 84

Vist i plau,

Signat:

Cap de Departament

Bioquímica

Data: