

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. Efecte de la concentració de substrat: equació de Michaelis-Menten. Efecte de la concentració d'enzim. Velocitat inicial: concepte, determinació, representació. Anomalies. Estat pre-estacionari i estat estacionari: conceptes. 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.
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. 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 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.
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 intervenen en la fixació del substrat i en el procés catalític.

9. El centre actiu dels enzims. Definició i descripció. Identificació dels aminoàcids constituents del centre actiu: a) Mètodes indirectes: efecte del pH; ressonància magnètica nuclear; invariabilitat evolutiva. b) Mètodes directes: 1. Marcatge amb part del substrat. 2. Marcatge amb un pseudo-substrat. 3. Marcatge amb una quantitat limitada de reactiu específic d'aminoàcids. 4. Marcatge d'afinitat. 5. Marcatge químic en presència d'un protector. 6. Marcatge amb un grup prostètic. 7. Substrats suïcides. 8. Mutagènesi dirigida. 9. Tècniques d'enginyeria genètica. Relació entre les estructures obtingudes per difracció de raigs X i l'estructura de l'enzim en solució.

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). Hiperespecificitat enzimàtica: mecanismes "editorials".

11. 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.

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

13. Mecanismes relacionats amb la catàlisi enzimàtica. Especificitat estèrica dels enzims. Selecció i reconeixement de centres quirals.

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, 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, compartimentació cel·lular, modulació amb l'edat, complexos multienzimàtics, isoenzims, enzims multifuncionals.

15. Regulació de l'activitat enzimàtica. Enzims amb cinètica sigmoïdal. Enzims al·lostèrics: models de Monod, Wyman i Changeux; de Koshland, Némethy i Filmer; de Rabin; 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. "The Enzymes", 3a ed. Diferents volums. Academic Press. New York
- BOYER. "The Enzymes". Vols. I i II. Student edition. Academic Press. New York. 1971
- CANTOR & SCHIMMEL. "Biophysical Chemistry". Part III. Freeman. San Francisco. 1980
- CORNISH-BOWDEN. "Principles of enzyme kinetics". Butterworths. London. 1975
- CORNISH-BOWDEN. "Fundamentals of enzyme kinetics". Butterworths. London. 1979
- CORNISH-BOWDEN, A & WHARTON, C.W. "Enzyme kinetics" IRL Press, Oxford. 1988
- DIXON & WEBB. "Enzymes". 3rd ed. Longmans. London. 1979
- FERSHT. "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
- 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
- SUCKLING, C.J. "Enzyme chemistry". Chapman & Hall, London. 1984
- SUELTER. "A practical guide to enzymology". Wiley. New York. 1985

COLLECTIONS

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