

Enzimologia (Curs 2000/01)

Professors

Programa

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_{max} . 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. 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 efímers o fugaçs (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. 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.

57-

- 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). Enzims amb diversos subetis 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) Compartimentalització
- b) Modificació de la concentració d'enzim: inducció i repressió.
- c) 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; modulació amb l'edat; complexos multienzimàtics; isoenzims; enzims multifuncionals.

15. Regulació de l'activitat enzimàtica. Enzims amb cinètica sigmoïdal. 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.

Bibliografia

- BOYER, P.D. "The Enzymes", 3a 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
- CORNISH-BOWDEN, A. "Principles of enzyme kinetics". Butterworths. London. 1975
- 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
- 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
- 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

Professors

Professor de Teoria: Claudi M. Cuchillo Foix, Despatx C2-153

Professor de Problemes i Pràctiques: J.A. Biosca Baqué, Despatx C2-3
