



TITULACIÓ: Bioquímica
NOM DE L'ASSIGNATURA: 20505 Enzimologia
CURS: 2002/2003
CRÈDITS: 8

PROGRAMA DE TEORIA

- 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. Cinètica hiperbòlica. Reaccions amb un substrat. 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. Bescanvi isotòpic.
- 7. Cinètica enzimàtica.** Cinètica dels estats efímers o fugaçs (transients). Mètode de mescla: flux continu (continuous flow), flux detingut (stopped-flow), extinció (quenched-flow). Mètodes de relaxació: salt de temperatura (T-jump), salt de pressió (P-jump). 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. Cinètica 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.
- 10. 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.

11. 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. Anticossos amb activitat catalítica (abzims). Enzims amb diversos subestis de fixació de substrat. L'enzim perfectament evolucionat.

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

13. 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.

14. Mecanismes relacionats amb la catàlisi enzimàtica. Coenzims, cofactors i grups prostètics: definicions. Mecanismes d'actuació. Ribozims: característiques i formes d'acció. Metalls.

15. 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: variació de la velocitat en funció de la concentració de substrat; existència de diversos enzims amb diferents propietats cinètiques (isozims); activació per precursor i retroinhibició; control lligat a l'energia; control hormonal; complexos multienzimàtics; sistemes lligats a membranes; enzims multifuncionals; polimerització-despolimerització; unió d'altres proteïnes; modificació covalent irreversible; modificació covalent reversible.

16. Desenvolupaments recents. Enzims sintètics. Enzims immobilitzats: concepte. Tècniques de preparació. Propietats. Aspectes teòrics i pràctics. Utilització industrial dels enzims.

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. "Structure and mechanism in protein science" 3rd ed. Freeman, New York. 1998
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
NUÑEZ DE CASTRO, I. "Enzimología" Pirámide, Madrid 2001.
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

COLLECTIONS

Advances in Enzymology

Annual Review of Biochemistry

Essays in Biochemistry

Methods in Enzymology

Trends in Biochemical Sciences