

Tema 1

Concepte de biocatalitzador. El desenvolupament de la biocatàlisi. Propietats generals dels enzims: Concepte i significació biològica, química i pràctica. Definicions. Complex enzim-substrat. Disminució de l'energia d'activació. Estat de transició. Regulació. Cofactors. Classificació dels enzims. Sistemes cel·lulars i enzimàtics: propietats. Factors a considerar en l'elecció del sistema: font del biocatalitzador i optimització del procés. Principals tipus de biocatalitzadors d'interès industrial.

Tema 2

Obtenció i caracterització dels enzims. Fonts d'obtenció. Tècniques per a l'extracció d'enzims. Mètodes de determinació de l'activitat enzimàtica. Velocitat inicial: concepte, determinació, representació. Unitats d'activitat enzimàtica. Efecte de la concentració d'enzim. Obtenció i caracterització dels enzims.

Tema 3

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. Reaccions enzimàtiques amb més d'un complex intermedi enzim-substrat: tractament a l'estat estacionari Determinació de la K_m i de la V_{max} . Mètodes de Lineweaver-Burk i d'Eadie-Hofstee. Altres mètodes.

Tema 4

Significat dels paràmetres cinètics. k_{cat}/K_m : concepte; utilitat a baixes concentracions de substrat. Reaccions reversibles i irreversibles: tractament a l'estat estacionari; relació de Briggs-Haldane. Inhibició per excés de substrat. Compostos químics intermedis enzim-substrat: cas de l'acil-enzim.

Tema 5

Inhibició de la catàlisi enzimàtica: tipus d'inhibidors. Inhibidors reversibles: inhibició competitiva i no competitiva; inhibició acompetitiva i mixta. Model general. Anàlisi gràfica dels diferents tipus d'inhibició. Determinació de la constant d'inhibició K_i . IC_{50} .

Tema 6

Efectes inhibidors dels substrats. Complexos abortius: fixació no productiva. Inhibició per excés de substrat. Discriminació entre substrats competitiu. Inhibidors pseudoirreversibles i inhibidors irreversibles. Utilització d'inhibidors com a fàrmacs.

Tema 7

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. Mètodes per a la determinació del tipus de mecanisme. Intercanvi isotòpic i efecte isotòpic.

Tema 8

Cinètica dels estats efímers o fugaços (transients). Mètodes 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 i conceptes. "Bursts": determinació de la concentració d'enzim.

Tema 9

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. Enzims en dissolvents orgànics.

Tema 10

Mecanismes de catàlisi enzimàtica. Catàlisi àcido-base. Catàlisi covalent. Catàlisi per ió metàl·lic. Exemples de mecanismes enzimàtics.

Tema 11

Ribozims i anticossos catalítics: activitats catalítiques, mecanismes i aplicacions.

Tema 12

Exemples d'aplicacions dels biocatalitzadors en processos industrials. Disseny de processos catalítics a gran escala. Producció de fàrmacs. Fermentacions. Electrodes enzimàtics i biosensors. Aplicacions en el diagnòstic i la teràpia clínica.

Tema 13

Disseny i síntesi de nous catalitzadors. Evolució dirigida. Generació de mutants. Selecció i "screening" de l'activitat enzimàtica desitjada. Redisseny d'enzims per a modificar la seva termoestabilitat i enantioselectivitat.

Bibliografia:

Biocatalysis. Fundamentals and applications (2004). A. S. Bommarius, B. R. Riebel. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co.

Introduction to Biocatalysis using enzymes and microorganisms (1995). S. M. Roberts, N.T. Turner, A.J. Willets i M.K. Turner. Cambridge University Press.

Biocatalysis: from discovery to application a "Topics in Current Chemistry" (1999). Ed. W.D. Fessner. Springer-Verlag.

Structure and Mechanism in Protein Science. A guide to Enzyme Catalysis and Protein Folding (1998). A. Fersht. W.H. Freeman & Company.

Fundamentals of Enzyme Kinetics. A. Cornish-Bowden (2004). 3rd edition. Portland Press Ltd.

Enzyme Technology. M. F. Chaplin and C. Bucke (1990). Cambridge University Press.

Enzymes Assays. A Practical Approach. R. Eisenthal and M. J. Danson (1992). The Practical Approach Series. IPL Press at Oxford University Press.

Enzyme Chemistry. Impact and Applications. 2nd ed. Ed. C. J. Suckling (1990). Chapman and Hall.

Enzymes in Food Processing. 3rd ed. Ed. T. Nagodawithana and G. Reed (1993). Academic Press Inc.

Enzimología. I. Núñez de Castro (2001). Ediciones Pirámide (Anaya).

Biotransformations in Organic Chemistry. 4th ed. K. Faber (2000). Ed. Springer

Biocatalysis. Synthesis methods that exploit enzymatic activities. Ed. K. Ziemelis. Nature (2001) vol. 409 pp.225-268.

PRÀCTIQUES

S'organitzaran en 3 sessions que tindran com a objectiu aplicar diferents metodologies dirigides a l'obtenció i caracterització d'un biocatalitzador sobreexpressat en llevats (*Saccharomyces cerevisiae*), a l'anàlisi de l'estereoespecificitat en relació als substrats i als productes formats, així com a la utilització de "software" per a càlculs cinètics.

Professors de l'assignatura.

Classes de teoria:

Dr. Josep Antoni Biosca (C2/323)

Dra. M. Victòria Nogués (C2/235)

Coordinador de pràctiques: Dr. Josep Antoni Biosca (C2/323)

NORMES PER L'AVUACIÓ DE L'ASSIGNATURA

NOTES MÀXIMES:

Nota màxima de teoria: 8 (preguntes curtes i solució de problemes).

Nota màxima de pràctiques: 2 (assistència a classes pràctiques i treball d'anàlisi dels resultats).

PER APROVAR L'ASSIGNATURA

[Nota teoria + Nota pràctiques] \geq 5,0