



Departament de Bioquímica i Biologia Molecular

Llicenciatura de Biotecnologia

Assignatura: Biocatàlisi

Curs 2008-2009

Tema 1

Concepte de biocatalitzador. El desenvolupament de la biocatàlisi. 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

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 enzimàtics. Classificació dels enzims.

Tema 3

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 4

Cinètica enzimàtica. Reaccions amb un substrat. Efecte de la concentració de substrat: equació de Michaelis-Menten. Estat pre-estacionari i estat estacionari: conceptes. Hipòtesi d'estat estacionari: tractament de Briggs-Haldane. Reaccions enzimàtiques amb més d'un complex intermedi enzim-substrat.

Tema 5

Determinació de la K_M i de la V_{max} . Mètodes de Lineweaver-Burk i d'Eadie-Hofstee. Altres mètodes. Significat dels paràmetres cinètics k_{cat} i K_M . Concepte de k_{cat}/K_M : eficiència catalítica i especificitat enzimàtica. Equació de Michaelis-Menten per a reaccions reversibles: relació de Haldane..

Tema 6

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 les constants d'inhibició. Concepte de IC_{50} i la seva relació amb les constants d'inhibició.

Tema 7

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 8

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 9

Cinètica dels estats efímers o fugaçs ("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 10

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 11

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

Tema 12

Especificitat i centre actiu dels enzims. Coenzims. Ribozims i anticossos catalítics: activitats catalítiques, mecanismes i aplicacions.

Tema 13

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 14

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.

PRÀCTIQUES

S'organitzen en 3 sessions.

Programa: Aplicar diferents metodologies dirigides a l'obtenció i caracterització d'un biocatalitzador sobreexpressat en llevats (*Saccharomyces cerevisiae*), a l'anàlisi de l'estereoespecificitat de la reacció, així com a la utilització de "software" per a càlculs cinètics.

Calendari: 22, 23 i 24 d'abril (grup 1), 28, 29 i 30 d'abril (grup 2).

Lloc de realització: Laboratori C2/413 i aules d'informàtica.

El protocol de pràctiques es troba dins l'apartat "Material docent" del Campus Virtual.

Material que cal portar a les pràctiques

- Protocol de pràctiques imprès (cal haver-lo llegit abans).
- Full comprovant d'haver superat test de seguretat al laboratori.
- Bata i ulleres de protecció contra esquitxades.

PROFESSORS DE L'ASSIGNATURA

Classes de teoria:

Dr. Josep Antoni Biosca (C2/323) josep.biosca@uab.cat

Dra. M. Victòria Nogués (C2/235) victoria.nogues@uab.cat

Classes 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] ≥ 5,0

BIBLIOGRAFIA

Obres específiques

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

Industrial Enzymes. Structure, Function and Applications (2007). Ed. J. Polaina and A.P. MacCabe. Springer.

Introduction to Biocatalysis using enzymes and microorganisms (1995). S. M. Roberts, N.T. Turner, A.J. Willets i M.K. Tumer. 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. Eisinger and M. J. Danson (2002) 2nd ed. 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.

Evaluation of enzyme inhibitors in drug discovery. R. A. Copeland (2005). Wiley Interscience. John Wiley & Sons, Inc. Publication.

Obres Generals

- Horton, H.R., Moran, L.A., Scrimgeour, K.G., Perry M.D. and Rawn, J.D. "Principios de Bioquímica". 2008. 4^a ed. Prentice-Hall. Pearson Educación. México.

- Mathews, C. K. and van Holde, K. E. "Bioquímica". 2002, 3^a ed. Addison/Wesley. McGraw-Hill/Interamericana. Madrid.

- Nelson, D.L. and Cox, M.M. "Lehninger Principios de Bioquímica". 2006, 4^a ed. Omega. Barcelona.

- Nelson, D.L. and Cox, M.M. "Lehninger Principles of Biochemistry". 2008, 5^a ed. Freeman, New York

- Berg, J.M., Tymoczko, J.L., Stryer, L "Biochemistry" (2006). 6^a ed. Freeman, New York

- Voet, D., and Voet, J.G. "Bioquímica". 2006, 3^a ed. Ed.Médica Panamericana. Barcelona