

**Biocatàlisi**

Codi: 100867  
Crèdits: 6

Titulació	Tipus	Curs	Semestre
2500252 Bioquímica	OB	2	2

**Professor de contacte**

Nom: Victoria Nogués Bara

Correu electrònic: Victoria.Nogues@uab.cat

**Utilització d'idiomes a l'assignatura**

Llengua vehicular majoritària: català (cat)

Grup íntegre en anglès: No

Grup íntegre en català: Sí

Grup íntegre en espanyol: No

**Equip docent**

Marc Torrent Burgas

**Prerequisits**

No hi ha prerequisits oficials. De tota manera, part dels continguts de les assignatures de 1r curs i 2n curs (primer semestre) són necessaris per a poder seguir correctament l'assignatura. En especial, els de les assignatures següents: Termodinàmica i Cinètica Química, Química Orgànica dels Processos Bioquímics, Bioquímica I, Bioquímica II, Química i Enginyeria de Proteïnes, Tècniques Instrumentals Bàsiques i Avançades.

Per a algunes activitats és necessari un nivell bàsic de comprensió lectora d'anglès.

**Objectius**

L'assignatura Biocatàlisi es centra en l'estudi dels enzims. El coneixement dels enzims és clau en el marc de la Bioquímica atès el seu paper com a catalitzadors de les reaccions biològiques i les aplicacions en els processos biotecnològics. L'assignatura analitza els enzims des de diferents perspectives: activitat, cinètica, mecanismes i aplicacions. L'objectiu general de l'assignatura és proporcionar els fonaments per a l'anàlisi, caracterització i ús dels enzims des de les perspectives de la recerca i de l'aplicació biotecnològica i biomèdica.

Objectius concrets de l'assignatura:

Coneixement de les característiques generals, classificació i mètodes d'assaig de l'activitat enzimàtica.

Anàlisi de la cinètica enzimàtica i determinació i significat dels paràmetres cinètics.

Coneixement de la inhibició enzimàtica i les seves aplicacions, especialment en el camp dels fàrmacs.

Anàlisi del centre actiu i coneixement dels mètodes de caracterització.

Anàlisi dels mecanismes enzimàtics i de regulació.

## Competències

- Aplicar els recursos informàtics per a la comunicació, la recerca d'informació, el tractament de dades i el càlcul.
- Demostrar que es comprenen i s'apliquen els mecanismes de catàlisi biològica basats en l'estructura dels catalitzadors biològics i les reaccions químiques.
- Gestionar la informació, organització i planificació del treball.
- Interpretar resultats experimentals i identificar elements consistents i inconsistents.
- Llegir textos especialitzats tant a llengua anglesa com a les llengües pròpies.
- Manejar bibliografia i interpretar la informació de les principals bases de dades biològiques, així com saber usar les eines informàtiques bàsiques.
- Utilitzar les metodologies analítiques per a l'assaig de l'activitat biològica dels components cel·lulars, en especial enzims, tant in vitro com in vivo.

## Resultats d'aprenentatge

1. Aplicar els recursos informàtics per a la comunicació, la recerca d'informació, el tractament de dades i el càlcul.
2. Avaluar la idoneïtat dels mètodes de determinació d'activitats enzimàtiques i analitzar l'efecte de les condicions experimentals d'assaig.
3. Calcular i interpretar els paràmetres cinètics de les reaccions enzimàtiques, mitjançant mètodes gràfics i utilitzant programes informàtics.
4. Explicar els fonaments fisicoquímics de la catàlisi enzimàtica.
5. Explicar les bases estructurals i els principals mecanismes de la catàlisi enzimàtica, i com es regula.
6. Gestionar la informació, organització i planificació del treball.
7. Interpretar resultats experimentals i identificar elements consistents i inconsistents.
8. Llegir textos especialitzats tant a llengua anglesa com a les llengües pròpies.
9. Obtenir informació de les bases de dades sobre estructura, activitat, i funcions biològiques dels enzims i les seves aplicacions.

## Continguts

### Tema 1. Introducció als enzims.

Introducció històrica. Els enzims a la societat actual. Propietats generals dels enzims. Activitat enzimàtica. Eficiència. Especificitat. Complex enzim-substrat. Estat de transició. Disminució de l'energia d'activació. Regulació. Cofactors enzimàtics. Altres biocatalitzadors.

### Tema 2. Classificació i nomenclatura dels enzims.

Normes de la Comissió Internacional d'Enzims. Nomenclatura i classificació de les sis classes principals d'enzims. Altres característiques necessàries per identificar un enzim. Bases de dades amb informació d'enzims.

### Tema 3. Mètodes de determinació de l'activitat enzimàtica i d'obtenció d'enzims.

Velocitat inicial: concepte, determinació i representació. Unitats d'activitat enzimàtica. Efecte de la concentració d'enzim. Mètodes de determinació de l'activitat enzimàtica. Obtenció dels enzims.

### Tema 4. Anàlisi de la cinètica enzimàtica (1).

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

## **Tema 5. Anàlisi de la cinètica enzimàtica (2).**

Determinació dels paràmetres cinètics ( $K_M$ ,  $V_{max}$  i  $k_{cat}$ ). Mètodes de 1) Lineweaver-Burk, 2) Eadie-Hofstee, 3) Hanes-Wolff, 4) Eisenthal-Cornish-Bowden i 5) Equació integrada de Michaelis-Menten. 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, acompetitiva i mixta (inclou la no competitiva). 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. Inhibidors de fixació forta o pseudoirreversibles. Inhibidors irreversibles. Utilització d'inhibidors dels enzims com a fàrmacs.

## **Tema 7. Anàlisi de la cinètica enzimàtica en reaccions amb més d'un substrat.**

Descripció general de les reaccions amb més d'un substrat: notació de Cleland. Mecanismes de les reaccions bisubstrat: seqüencial ordenat, seqüencial estadístic i de doble desplaçament (ping-pong). 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").**

Característiques generals dels mètodes d'anàlisi. Mètodes de mescla: flux continu ("continuous flow"), flux detingut ("stopped-flow") i extinció ("quenched-flow"). Mètodes de relaxació: salt de temperatura (T-jump), salt de pressió (P-jump). Anàlisi del "Burst" d'una reacció: determinació de la concentració d'enzim.

## **Tema 9. Efecte del pH i de la temperatura en les reaccions enzimàtiques.**

Efecte del pH a l'activitat dels enzims. Tractament cinètic a l'estat estacionari. Influència del pH en els paràmetres cinètics. 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 d'organismes extremòfils.

## **Tema 10. Cooperativitat i al·losterisme.**

Anàlisi cinètica de la cooperativitat. Equacions de Hill i d'Adair. Model de Monod, Wyman i Changeux. Model de Koshland, Némethy i Filmer. Activitat i regulació de l'aspartat transcarbamoilasa.

## **Tema 11. Especificitat enzimàtica.**

El centre actiu: definició, característiques, especificitat i estructura tridimensional. Teories sobre l'acoblament entre l'enzim i el substrat. Teoria de Fisher (pany i clau). Teoria de Koshland ("induced fit" o acoblament induït). La hexoquinasa com a exemple d'acoblament induït. Hipòtesi de la unió a tres punts. Hipòtesi que implica tensió. Estabilització de l'estat de transició. Anticossos catalítics.

## **Tema 12. Estudi del centre actiu.**

Identificació dels centres d'unió i de catàlisi. Modificació química amb inhibidors irreversibles específics. Marcatge amb una part del substrat. Utilització de substrats artificials. Marcadors per afinitat. Investigació de l'estructura tridimensional de proteïnes: raigs X, RMN. Mutagènesi dirigida. Comparació de la mutagènesi i el marcatge químic. Catàlisi assistida pel substrat (SAC).

## **Tema 13. Mecanismes de catàlisi enzimàtica.**

Introducció als mecanismes de l'acció enzimàtica. Energètica de la catàlisi enzimàtica. Efectes de proximitat i orientació. Catàlisi àcid-base. Catàlisi covalent. Catàlisi amb ions metàl·lics. Efecte de l'entorn: catàlisi electrostàtica. Canalització d'intermediaris. Enzims multifuncionals. Enzims amb funcions addicionals no enzimàtiques "moonlighting enzymes".

## **Tema 14. Cofactors i ribozims.**

Mecanismes d'actuació de cofactors: exemples. Ribozims. Activitat catalítica del RNA. Tipus de ribozims. Significat biològic dels ribozims.

#### **Tema 15. Casos notables d'especificitat enzimàtica.**

Endonucleases de restricció. Mecanismes "editorials" i de correcció d'errors: aminoacil-tRNA sintetases. Especificitat estèrica dels enzims. Selecció i reconeixement de centres quirals.

#### **Tema 16. Regulació de l'activitat enzimàtica.**

Revisió de les diferents estratègies de regulació de l'activitat dels enzims. Modificació de la concentració d'enzim. Regulació de la síntesi i degradació dels enzims. Mecanismes de degradació. Variació de la velocitat enzimàtica en funció de la concentració de substrat, producte i cofactors. Activació per precursor i retroinhibició. Control unit a l'energia. Control hormonal. Isoenzims. Polimerització-despolimerització. Unió a altres proteïnes. Modificació covalent irreversible. Modificació covalent reversible.

#### **Tema 17. Aplicacions biomèdiques i biotecnològiques dels enzims.**

L'ús dels enzims en el processos industrials. Etapes en el disseny i posta a punt d'un biocatalitzador. Aplicacions dels enzims: fàrmacs i diagnòstic, detergents, indústria tèxtil i indústria alimentària.

#### **Resolució de problemes.**

Els problemes es centren de forma específica en l'anàlisi de l'activitat enzimàtica i la determinació i interpretació dels paràmetres cinètics. Els enunciats dels problemes es lliuraran a través del Campus Virtual.

### **Metodologia**

L'assignatura de Biocatàlisi consta de classes teòriques, classes de resolució de problemes i ús d'aplicacions informàtiques, resolució i lliurament de problemes en grup i tutories. Les activitats formatives de l'assignatura es complementen amb els continguts pràctics de formació en l'àmbit dels enzims que s'imparteixen en l'assignatura Laboratori Integrat 4. A continuació es descriu l'organització i la metodologia docent que es seguirà en aquests tipus d'activitats formatives.

#### **Classes de teoria:**

El contingut del programa de teoria serà impartit principalment pel professor en forma de classes magistrals amb suport audiovisual. Les presentacions utilitzades a classe pel professor estaran disponibles al Campus Virtual de l'assignatura abans de l'inici de cadascun dels temes del curs. Aquestes sessions expositives constituïran la part més important de l'apartat de teoria. Es recomana disposar del material publicat al Campus Virtual per tal de poder seguir les classes amb més comoditat. Per tal de consolidar i clarificar els continguts explicats a classe, s'aconsella consultar de forma regular els llibres recomanats a l'apartat de Bibliografia i els enllaços i recursos indicats en els diferents temes, que contenen vídeos i animacions relacionats amb els processos explicats a classe.

#### **Classes de resolució de problemes i ús d'aplicacions informàtiques:**

En aquestes sessions el grup classe es dividirà en dos grups (A i B). Cal consultar a quin grup es pertany i assistir a les classes corresponents del grup. Hi haurà 10 sessions de problemes que es dedicaran a la resolució de problemes relacionats amb els continguts del programa de teoria i a l'ús d'aplicacions informàtiques relacionades amb els enzims.

Es pretén que aquestes classes serveixin per consolidar els continguts prèviament treballats a les classes de teoria i també per conèixer algunes de les estratègies experimentals, la interpretació de dades científiques i la resolució de problemes basats en situacions experimentals reals.

#### **Resolució i lliurament de problemes en grup:**

Aquesta activitat pretén treballar la competència del treball en equip, mitjançant l'organització dels alumnes en grups de treball en els que tots els membres hauran de participar activament en la resolució dels problemes.

La metodologia d'aquesta activitat serà la següent:

- A l'inici del curs els alumnes s'organitzaran en grups de quatre persones, inscrivint els grups a través del Campus Virtual abans de la data límit indicada pel professor (vegeu Programació de l'assignatura).
- Els grups treballaran els problemes indicats per a aquesta activitat fora de l'horari de classe.
- Els treballs es lliuraran a través del Campus Virtual. La qualificació obtinguda serà aplicable a tots els membres del grup de treball al que pertanyi l'alumne.

Els enunciats dels lliuraments es publicaran a través del Campus Virtual on també s'indicaran les dates d'entrega.

### Tutories

Es realitzaran tutories individuals a petició dels alumnes. En el cas que el nombre de sol·licituds sigui elevat es realitzaran, de manera addicional, tutories d'aula que s'anunciarien oportunament a través del Campus Virtual. L'objectiu d'aquestes sessions serà el de resoldre dubtes, repassar conceptes bàsics i orientar sobre les fonts d'informació consultades.

### Material disponible al Campus Virtual de l'assignatura:

Presentacions utilitzades pel professor a classes de teoria.

Enunciats dels problemes o casos a treballar a les classes de problemes. Inclourà els problemes del treball en grup.

Programació i informació de les activitats docents (classes d'aula, tutories, avaluacions, ...).

### Activitats formatives

Títol	Hores	ECTS	Resultats d'aprenentatge
<b>Tipus: Dirigides</b>			
Classes de resolució de problemes i ús d'aplicacions informàtiques	10	0,4	1, 2, 3, 7, 8, 9
Classes de teoria	35	1,4	2, 3, 4, 5, 8, 9
<b>Tipus: Supervisades</b>			
Tutories	0	0	2, 3, 4, 5
<b>Tipus: Autònomes</b>			
Anàlisi i resolució de problemes	20	0,8	1, 2, 3, 6, 7, 8, 9
Estudi	57	2,28	1, 4, 5, 6, 7, 8
Resolució i lliurament de problemes en grup	24	0,96	1, 2, 3, 6, 7, 8, 9

### Avaluació

L'avaluació de l'assignatura constarà de les següents activitats:

**Proves parcials de teoria i problemes. Avaluació individual (8,5/10)**

- L'avaluació d'aquesta activitat es realitzarà mitjançant dues proves escrites en les que l'alumne ha de demostrar el seu grau d'assoliment dels conceptes teòrics i de la resolució de problemes.
- Cadascuna de les proves tindrà un pes global de **4,25 sobre 10**. La primera estarà programada a mitjans del semestre i la segona a finals del semestre en el període de temps corresponent a l'avaluació final. En els dos cassos les proves inclouran els continguts de les sessions teòriques i de resolució de cassos pràctics i problemes.
- Per aprovar l'assignatura caldrà que l'alumne obtingui una **qualificació mínima de 4 punts sobre 10** en cadascuna d'aquestes proves.

En cas que l'alumne obtingui una qualificació inferior a 4 punts en qualsevol de les proves parcials, haurà de realitzar una prova de recuperació dels continguts corresponents. Els alumnes que tot i haver superat les proves parcials vulguin millorar la seva qualificació també podran realitzar aquesta prova de recuperació. Cal tenir en compte, però, que el fet de realitzar aquesta prova de recuperació implicarà la renúncia per part de l'alumne de la qualificació obtinguda en les proves parcials.

### **Resolució de problemes treballats en grup i ús d'aplicacions informàtiques. Avaluació grupal (1,5/10)**

Els treballs elaborats en grups de 4 persones es lliuraran a través del Campus Virtual. Per a la valoració es tindrà en compte no tant sols la resolució correcta del treball sinó també el seu plantejament i presentació. Tot el grup rebrà la mateixa qualificació.

Si es considera necessari el professor podrà sol·licitar que s'empleni de manera individual un qüestionari referent a la feina del grup. Tot i que els resultats d'aquest qüestionari no tindran d'entrada un pes específic en la qualificació de l'assignatura, en cas de detectar valoracions negatives d'un alumne per part de la resta de membres del seu grup que demostrin que no ha participat en el treball, la qualificació obtinguda pel grup no s'aplicarà a aquest alumne o bé se li podrà reduir.

Pel curs 2017-2018, els alumnes repetidors podran decidir mantenir la nota de l'avaluació grupal obtinguda el curs 2016-2017, si aquesta és superior a 5, o bé realitzar aquesta activitat d'avaluació.

### **Avaluació global de l'assignatura.**

L'avaluació global de l'assignatura inclourà les qualificacions de les dues proves parcials i de la resolució de problemes treballats en grup i l'ús d'aplicacions informàtiques. Sobre un **total de 10 punts**, caldrà que l'alumne obtingui **una qualificació global igual o superior a 5 punts** per al total de l'avaluació de l'assignatura i **una qualificació mínima de 4 sobre 10 en les dues proves parcials**. Si en alguna de les proves parcials la qualificació és inferior a 4 punts, l'alumne rebrà una qualificació final màxima de l'assignatura de 4 punts sobre 10.

Els alumnes que, per causa justificada i havent rebut l'autorització prèvia del professor, no formin part de cap grup de treball no hauran pogut demostrar la superació d'algunes competències i resultats d'aprenentatge de l'assignatura. En aquest cas, la qualificació màxima que podran obtenir en l'assignatura serà de 8,5 punts sobre 10.

Es considera que un estudiant obté la qualificació de **No Avaluable** quan la valoració de totes les activitats d'avaluació realitzades no li permeti assolir la qualificació global de 5 en el supòsit que hagués obtingut la màxima nota en totes elles.

### **Activitats d'avaluació**

Títol	Pes	Hores	ECTS	Resultats d'aprenentatge
Proves parcials de teoria i problemes. Dues proves	85%	4	0,16	2, 4, 5, 6, 7, 8
Resolució de problemes i cassos pràctics i ús d'aplicacions	15%	0	0	1, 2, 3, 6, 7, 9

## Bibliografia

### Obres específiques

- Bisswanger, H. "Enzyme kinetics. Principles and methods" 2<sup>a</sup> edició. 2008. Wiley-VCH. Weinheim.
- Bommarius, A.S., Riebel, B.R. "Biocatalysis". 2004. Wiley-VCH. Weinheim.
- Cook, P. F., Cleland, W.W. "Enzyme kinetics and mechanism". 2007. Garland Science. London & New York.
- Copeland, R.A. "Enzymes. A practical introduction to structure, mechanism and data analysis". 2<sup>a</sup> edició, 2000. Wiley-VCH. New York.
- Copeland, R.A. "Evaluation of enzyme inhibitors in drug discovery". 2005. Wiley. Hoboken. New Jersey.
- Cornish-Bowden, A. "Fundamentals of enzyme kinetics". 3rd ed. 2004. Portland Press. London.
- Eisental, R., Danson, M.J. "Enzyme Assays". 2002. 2<sup>a</sup> ed. Oxford Univ. Press. Oxford.
- Fersht, A. "Structure and Mechanism in Protein Science". 1999. W.H. Freeman. New York.
- Grunwald, P. "Biocatalysis. Biochemical Fundamentals and Applications". 2009. Imperial College Press.
- Illanes, A. "Enzyme Biocatalysis: Principles and Applications". 2008. Springer.
- Palmer, T., Bonner, P. "Enzymes: Biochemistry, Biotechnology, Clinical Chemistry". 2nd ed. 2007. Elsevier. Versió electrònica (Biblioteca UAB): [http://cataleg.uab.cat/record=b1962824~S1\\*cat](http://cataleg.uab.cat/record=b1962824~S1*cat)
- Purich, D.L. "Enzyme Kinetics: Catalysis & control: a reference of theory and best-practice methods". 2010. Elsevier Academic San Diego, California (recurs electrònic). [http://cataleg.uab.cat/search~S1\\*cat?/XEnzymes&SORT=DX/XEnzymes&SORT=DX&extended=0&SUBKEY=Er](http://cataleg.uab.cat/search~S1*cat?/XEnzymes&SORT=DX/XEnzymes&SORT=DX&extended=0&SUBKEY=Er)
- Price, N.C. "Exploring proteins, a student's guide to experimental skills and methods". Ed. Oxford University Press, 2009

### Obres Generals

- Nelson, D.L., Cox, M.M. Price, N.C. "Lehninger-Principles of Biochemistry" (2017) 7<sup>a</sup> ed. Macmillan Learning.
- Stryer, L., Berg, J.M., Tymoczko, J.L. "Bioquímica con aplicaciones clínicas" (2013) 7<sup>a</sup> ed. Ed. Reverté. Traduït de la 7<sup>a</sup> ed. en anglès de l'any 2012 publicada per WH Freeman and Company.
- Berg, J.M., Tymoczko, J.L., Gatto Jr., G.J. Jr., Stryer, L. "Biochemistry" (2015) 8th ed. WH Freeman and Company.
- Voet, D., Voet, J.G. "Biochemistry". 2011, 4<sup>a</sup> ed. Ed. John Wiley & Sons Inc.

### Enllaços web

Els trobareu actualitzats en els fitxers d'imatges de l'assignatura al Campus Virtual.