

**Biocatàlisi**

Codi: 100764  
Crèdits: 6

Titulació	Típus	Curs	Semestre
2500250 Biologia	OT	4	0

**Professor/a de contacte**

Nom: Josep Antoni Biosca Vaqué  
Correu electrònic: Josep.Biosca@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**

Xavier Parés Casasampera

**Prerequisits**

No hi ha prerequisits oficials. De tota manera, part dels continguts de les assignatures de 1r curs i 2n curs són necessaris per a poder seguir correctament l'assignatura. En especial, els de les assignatures següents: Estructura i Funció de Biomolècules i Biosenyalització i Metabolisme.

**Objectius**

L'assignatura Biocatàlisi es centra en l'estudi dels enzims, les seves propietats i aplicacions. El coneixement dels enzims és clau en el marc de la Bioquímica, Biologia Molecular i ciències relacionades, 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.

Aplicacions biomèdiques i biotecnològiques dels enzims.

## Competències

- Aplicar recursos estadístics i informàtics a la interpretació de dades.
- Comprendre els processos que determinen el funcionament dels éssers vius en cada un dels seus nivells d'organització.
- Comprendre i interpretar els fonaments fisicoquímics dels processos bàsics dels éssers vius.
- Desenvolupar estratègies d'aprenentatge autònom.
- Desenvolupar un pensament i un raonament crítics i saber comunicar-los de manera efectiva, tant en les llengües pròpies com en una tercera llengua.
- Fer proves funcionals i determinar, valorar i interpretar paràmetres vitals.
- Obtenir informació, dissenyar experiments i interpretar els resultats biològics.
- Tenir capacitat d'anàlisi i de síntesi.
- Tenir capacitat d'organització i planificació

## Resultats d'aprenentatge

1. Analitzar correctament dades sobre constants d'afinitat i llocs d'unió lligand-macromolècula.
2. Aplicar recursos estadístics i informàtics a la interpretació de dades.
3. Avaluat la idoneïtat dels mètodes de determinació d'activitats enzimàtiques i analitzar l'efecte de les condicions experimentals d'assaig.
4. Calcular i interpretar els paràmetres cinètics de les reaccions enzimàtiques, mitjançant mètodes gràfics i utilitzant programes informàtics.
5. Descriure els fonaments fisicoquímics de la catàlisi enzimàtica.
6. Descriure les bases estructurals i els principals mecanismes de catàlisi enzimàtica i com es regulen.
7. Desenvolupar estratègies d'aprenentatge autònom.
8. Desenvolupar un pensament i un raonament crítics i saber comunicar-los de manera efectiva, tant en les llengües pròpies com en una tercera llengua.
9. Identificar els principals mecanismes d'inhibició enzimàtica, conèixer-ne el significat biològic i calcular i interpretar les constants corresponents.
10. Obtenir informació sobre la base estructural dels enzims i els seus mecanismes en les principals bases de dades.
11. Tenir capacitat d'anàlisi i de síntesi.
12. Tenir capacitat d'organització i planificació.
13. Utilitzar bases de dades d'enzims en relació amb l'activitat, les funcions i les aplicacions.

## Continguts

### Tema 1

Concepte de biocatàlisi. Mercat i utilització dels biocatalitzadors. Prejudicis en la utilització d'enzims. Perspectiva històrica. Onades d'innovació en la biocatàlisi. Avantatges i inconvenients dels biocatalitzadors. Diferents tipus de processos de biocatàlisi. Sistemes cel·lulars i enzimàtics: propietats. Factors a considerar en un procés de biocatàlisi: font del biocatalitzador i optimització del procés.

### 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. Cofactors enzimàtics. Nomenclatura i 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.

### Tema 4

Cinètica enzimàtica. Reaccions amb un substrat. Efecte de la concentració de substrat: equació de Michaelis-Menten. Significat dels paràmetres cinètics  $k_{cat}$  i  $K_M$ . Concepte de  $k_{cat}/K_M$ : eficiència catalítica i especificitat enzimàtica. Estat pre-estacionari i estat estacionari: conceptes. Hipòtesi d'estat estacionari: tractament de Briggs-Haldane. Estat pre-estacionari. Mètodes d'estudi. "Bursts" i "lags".

### **Tema 5**

Determinació de la  $K_M$  i de la  $V_{max}$ . Mètodes amb representacions lineals: Lineweaver-Burk, Eadie-Hofstee i Hanes-Woolf. Altres mètodes. 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 IC50 i la seva relació amb les constants d'inhibició. Inhibició per excés de substrat. Discriminació entre substrats competitius. Inhibidors pseudoirreversibles i inhibidors irreversibles. Marcadors per afinitat. Inhibidors suïcides. Utilització d'inhibidors com a fàrmacs.

### **Tema 7**

Reaccions amb més d'un substrat: notació de Cleland. Mecanisme seqüencial ordenat, mecanisme seqüencial estadístic, mecanisme 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**

Acció de la temperatura sobre la cinètica enzimàtica. Representació d'Arrhenius. Enzims d'organismes extremòfils. Efectes del pH sobre la cinètica enzimàtica. Ionització de residus essencials. Influència del pH sobre els paràmetres cinètics. Avaluació de les constants de ionització. Identificació dels grups ionitzables implicats en els processos d'unió i catàlisi. Efectes del microentorn sobre el pK. Exemples

### **Tema 9**

Unió de lligands a proteïnes. Concepte i tipus de cooperativitat. Anàlisi de la cooperativitat. Unió de l'oxigen a l'hemoglobina. Models de cooperativitat. Model de Monod, Wyman i Changeux. Explicació dels efectes cooperatius homotrópics pel model MWC. Enzims alostèrics. Sistemes K i sistemes V. Model de Koshland, Nemethy i Filmer. Determinació del model de cooperativitat que segueix un determinat enzim. Exemple d'enzim amb regulació alostèrica: aspartat carbamil transferasa.

### **Tema 10**

El centre actiu, especificitat i estructura tridimensional. Definició de centre actiu. Característiques del centre actiu. 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 impliquen tensió. Estabilització de l'estat de transició. Evidències que recolzen la teoria de l'estat de transició. Anticossos catalítics. Aplicacions dels anticossos catalítics.

### **Tema 11**

El centre actiu. Identificació dels centres d'unió i de catàlisi. Marcatge amb una part del substrat. Utilització de substrats artificials. Modificació química amb inhibidors irreversibles específics. Marcadors per afinitat. Inhibidors suïcides, exemples amb interès farmacològic. Mutagènesi dirigida. Les serina-proteases: subtilisina. Comparació de la mutagènesi i el marcatge químic. Investigació de l'estructura tridimensional de proteïnes: raigs X, RMN, modelatge molecular. Invariabilitat evolutiva de residus d'aminoàcids. L'alcohol deshidrogenasa.

### **Tema 12**

Mecanismes de catàlisi. Introducció als mecanismes de l'acció enzimàtica. Catàlisi àcido-bàsica. Catàlisi covalent. Piridoxal fosfat. Catàlisi amb ions metàl·lics. Mecanismes de l'alcohol deshidrogenasa i l'anhidrasa carbònica. Efecte de l'entorn: catàlisi electrostàtica. El lisozim. Mecanisme de la subtilisina. La superòxid

dismutasa. Efectes de proximitat i orientació. Energètica de la catàlisi enzimàtica. Valors òptims de la Km. La triosa fosfat isomerasa com enzim energèticament eficient.

### **Tema 13**

Cofactors i ribozims. Activitat catalítica del RNA. Tipus de ribozims. El ribosoma és un ribozim. Significat biològic dels ribozims. Aplicacions dels ribozims.

### **Tema 14**

Regulació de l'activitat enzimàtica. 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. Significat funcional de la cooperativitat i el allostèricisme. Control unit a l'energia. Control hormonal. Isoenzims. Agrupacions multienzimàtiques. Complexos multienzimàtics. Sistemes lligats a membranes. Enzims multifuncionals. Polimerització-despolimerització. Unió a altres proteïnes. Modificació covalent irreversible. Modificació covalent reversible. Sistemes de cascada enzimàtica. Regulació de la fotosíntesi. Regulació de les vies metabòliques.

### **Tema 15**

Enzims en bioquímica clínica i biotecnologia. Enzims com agents terapèutics. Enzims indicadors de patologies. Enzims plasmàtics. Origen dels enzims plasmàtics. Factors que afecten els nivells dels enzims plasmàtics. Exemples d'enzims amb interès diagnòstic. Aminotransferases. Creatina quinasa. Lactat deshidrogenasa. Indicadors de l'infart de miocardi. Enzims com a reactius en bioquímica clínica. Enzims i errors congènits del metabolisme, exemples. Enzims en la indústria. Producció en gran escala d'enzims. Aplicacions: fàrmacs, indústria alimentària, detergents, indústria tèxtil. Enzims immobilitzats. Enzims com a biosensors

### **Tema 16**

Mètodes per millorar la biocatàlisi. 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. Evolució adaptativa al laboratori.

## **PROBLEMES**

Resolució de 15-18 problemes organitzats en 5 sessions. Els tipus de problemes que farem són: purificació d'enzims, determinació de paràmetres cinètics en absència i presència d'inhibidors, així com caracterització de mecanismes d'inhibició i elucidació dels mecanismes de reaccions bi-substrat.

## **Lliuraments pel Campus Virtual**

Durant el curs es faran dos lliuraments pel campus virtual relacionats amb temes tractats a classe. Es podran fer per grups de dos persones.

## **PRÀCTIQUES**

### **S'organitzen en 3 sessions.**

Programa: Caracterització d'un enzim sobreexpressat en el llevat (*Saccharomyces cerevisiae*). Anàlisi de l'estereoespecificitat de la reacció envers diferents substrats emprant cromatografia de gasos. Determinació dels paràmetres cinètics en condicions d'estat estacionari, emprant "software" específic.

## **Metodologia**

L'assignatura de Biocatàlisi consta de classes teòriques, lliuraments pel campus virtual, classes de problemes i classes de pràctiques.

A continuació es descriu l'organització i la metodologia docent que es seguirà en aquestes activitats.

### **Classes de teoria:**

El contingut del programa de teoria serà impartit principalment pels professors en forma de classes magistrals amb suport audiovisual. Les presentacions utilitzades a classe pels professors estaran a disposició dels alumnes al Campus Virtual de l'assignatura abans de l'inici de cadascun dels temes. Aquestes sessions expositives constituïran la part més important de l'apartat de teoria. És recomanable que els alumnes disposin del material publicat al Campus Virtual en forma impresa per tal de poder seguir les classes amb més comoditat. S'aconsella que els alumnes consultin de forma regular els llibres recomanats a l'apartat de Bibliografia d'aquesta guia docent per tal de consolidar i clarificar, si és necessari, els continguts explicats a classe. També és aconsellable que els alumnes utilitzin els enllaços indicats al Campus Virtual, que contenen vídeos i animacions relacionats amb els processos explicats a classe.

### **Lliuraments pel Campus Virtual:**

Durant el curs es faran dos lliuraments pel campus virtual relacionats amb temes tractats a les classes de teoria. Es podran fer per grups de dos persones.

### **Classes de resolució de problemes:**

Hi haurà 5 sessions de problemes que es dedicaran a la resolució dels tipus de problemes més relacionats amb els continguts del programa de teoria. Es pretén que aquestes classes serveixin per consolidar els continguts prèviament treballats a les classes de teoria i també perquè l'alumne es familiaritzi amb algunes de les estratègies experimentals, amb la interpretació de dades científiques i la resolució de problemes basats en situacions experimentals reals.

Els enunciats dels problemes es lliuraran a través del Campus Virtual amb antelació a la classe de problemes en la que s'hagin de tractar.

### **Classes de pràctiques:**

Hi haurà 3 sessions de 4 hores, amb el contingut següent:

- 1.- Determinació de l'activitat de l'enzim Bdh1p en extractes de llevat (que sobreexpressen aquest enzim). Càlcul de l'activitat en U/mL d'extracte.
- 2.- Determinació dels paràmetres cinètics per l'enzim Bdh1p enfront diferents substrats. Preparar barreges de reacció enfront diferents substrats, mesurar velocitats inicials i determinar els paràmetres cinètics amb un full de càlcul.
- 3.- Separació de substrats i productes de les barreges de reacció per extracció amb acetat d'etil. Caracterització dels substrats i productes de la reacció de Bdh1p mitjançant la separació dels mateixos en una columna quiral ubicada en un cromatògraf de gasos.
- 4.- Utilització d'un programa informàtic per a la determinació dels paràmetres cinètics de Bdh1p. Anàlisi de diferents patrons d'inhibició. Utilització d'un programa informàtic per estudiar la estructura dels enzims.

### **Tutories**

Es realitzarà una sessió de tutoria del grup classe abans de les proves parcials 1 i 2 i, a petició dels alumnes, tutories individuals. 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.

Lliuraments.

Enunciats dels problemes.

Protocol de les classes pràctiques.

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

## Activitats formatives

Títol	Hores	ECTS	Resultats d'aprenentatge
<b>Tipus: Dirigides</b>			
Classes de pràctiques	12	0,48	2, 3, 4, 8, 9, 12, 13
Classes de resolució de problemes	5	0,2	1, 2, 3, 4, 8, 9, 12, 13
Classes de teoria	35	1,4	3, 5, 6, 8, 9, 10, 12, 13
<b>Tipus: Supervisades</b>			
Tutories en grup	2	0,08	3, 5, 6, 11
<b>Tipus: Autònomes</b>			
Estudi	37	1,48	1, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13
Lliuraments pel Campus virtual	4	0,16	7, 10, 11, 12, 13
Realització de la memòria de pràctiques	11	0,44	2, 3, 4, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13
Resolució de problemes	15	0,6	1, 2, 3, 4, 7, 8, 9, 11, 12, 13

## Avaluació

### Resolució de qüestions de teoria (6.5/10)

- 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.

- Cadascuna de les proves tindrà un pes global del 32.5%. La primera estarà programada a mitjans del semestre i la segona a finals del semestre. Les dues proves inclouran preguntes curtes relacionades amb les classes de teoria.

### Resolució de problemes (1/10)

El dia de la segona prova parcial s'hauran de resoldre tres problemes dels tipus tractats a les classes de problemes. El resultat d'aquesta prova tindrà un pes global del 10%.

### Lliuraments pel Campus Virtual (1/10)

Es faran durant el curs dos lliuraments relacionats amb el contingut donat a les classes de teoria, que es resoldran per grups de dos persones.

### Assistència a les classes pràctiques i realització de la memòria (1.5/10).

L'alumne haurà de portar el material adient com bata, ulleres de protecció i el guió de practiques (prèviament treballat a casa). S'avaluarà l'actitud de l'alumne al laboratori, així com el seu treball. L'alumne entregarà una memòria de pràctiques el dia fixat pel professor en la que haurà respòs les qüestions plantejades. L'avaluació de l'actitud suposarà el 25% de la nota i l'avaluació de la memòria presentada, l'altre 75% del total de la nota.

**Per aprovar l'assignatura es requereix que la nota de teoria + la nota de problemes + la nota de lliuraments pel campus virtual + la nota de pràctiques sumin un mínim de 5 punts de 10 possibles.**

### **Prova de recuperació.**

Per participar a la recuperació, l'alumnat ha d'haver estat prèviament avaluat en un conjunt d'activitats el pes de les quals equivalgui a un mínim de dues terceres parts de la qualificació total de l'assignatura o mòdul. Per tant, l'alumnat obtindrà la qualificació de **"No Avaluable"** quan les activitats d'avaluació realitzades tinguin una ponderació inferior al 67% en la qualificació final.

El dia de la prova de recuperació, hi haurà una prova de recuperació del primer parcial, una altra del segon parcial i una altra de problemes. L'alumnat es pot presentar a qualsevol d'elles. En el cas de voler millorar la qualificació, l'alumnat també es podrà presentar a qualsevol de les proves: la realització d'aquesta nova prova (o proves) suposa la renúncia a la primera qualificació.

### **Activitats d'avaluació**

Títol	Pes	Hores	ECTS	Resultats d'aprenentatge
Assistència a classes pràctiques i realització de la memòria	15	19	0,76	2, 3, 4, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13
Lliuraments pel Campus virtual	10	4	0,16	3, 7, 8, 10, 11, 12, 13
Prova de problemes	10	2	0,08	1, 3, 4, 7, 8, 9, 12
Proves parcials de teoria	65	4	0,16	3, 5, 6, 7, 8, 9, 11

### **Bibliografia**

#### **Obres específiques**

**-Biocatalysis. Biochemical Fundamentals and Applications. 2nd edition (2018). World Scientific Publishing Co.**

**-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.**

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

**-Enzyme kinetics. Principles and methods (2008) 3rd. Ed. H. Bisswanger Wiley-VCH. Weinheim.**

**-Fundamentals of Enzyme Kinetics. A. Cornish-Bowden (2014). 4th edition. Wiley-Blackwell.**

**-Fundamentals of Enzymology (1999) 3rd ed. Price, N.C., Stevens, L. Oxford University Press. Oxford.**

**-Enzyme Assays. A Practical Approach. R. Eisinger and M. J. Danson (2002) 2nd ed. Oxford University Press.**

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

**-Biotransformations in Organic Chemistry. 7th ed. K. Faber (2018). Ed. Springer.**

-Evaluation of enzyme inhibitors in drug discovery. A guide for Medicinal Chemists and Pharmacologists. 2nd Edition. R. A. Copeland (2013). Wiley Interscience. John Wiley & Sons, Inc. Publication.

### Obres Generals

- Berg, J.M., Tymoczko, J.L, Gatto, Jr., Stryer, L "Biochemistry" (2015). 8<sup>a</sup> ed. Freeman, New York.
- Berg, J.M., Tymoczko, J.L, Gatto, Jr., Stryer, L "Bioquímica" (2015). 7<sup>a</sup> ed. Ed. Reverté. Barcelona.
- Mathews, C. K., van Holde, K. E., Appling, D., Anthony-Cahill, S. "Biochemistry" (2013), 4<sup>a</sup> ed. Pearson Education. Upper Saddle River.
- Mathews, C. K., van Holde, K. E., Appling, D., Anthony-Cahill, S. "Bioquímica" (2013), 4<sup>a</sup> ed. Addison/Wesley. McGraw-Hill/Interamericana. Madrid.
- Nelson, D.L. and Cox, M.M. "Lehninger Principles of Biochemistry" (2017). 7<sup>a</sup> ed. Freeman, New York.
- Nelson, D.L. and Cox, M.M. "Lehninger Principios de Bioquímica" (2014), 6<sup>a</sup> ed. Omega. Barcelona.
- Voet D., Voet J.G. and Pratt C.W "Fundamentals of Biochemistry. Life at the molecular level" (2008) 3<sup>a</sup> ed. Wiley [www.wiley.com/college/voet](http://www.wiley.com/college/voet) Edició traduïda: Voet, D. Voet, J.G. "Bioquímica" (2006) 3a ed. Ed. Panamericana.
- Voet D., Voet J.G. and Pratt C.W. Fundamentos de Bioquímica. La vida a nivel molecular" (2007) 2<sup>a</sup> ed. Ed. Médica Panamericana. Traduït de la 2<sup>a</sup> ed. anglesa de l'any 2006.
- Voet, D. Voet, J.G. "Biochemistry" (2011) 4a ed. Ed. Wiley . London.

### Enllaços Web

Estaran actualitzats al campus Virtual de l'assignatura.