

**Biocatàlisis**

Código: 100867  
Créditos ECTS: 6

Titulació	Tipo	Curso	Semestre
2500252 Bioquímica	OB	2	2

**Contacto**

Nombre: Victoria Nogués Bara  
Correo electrónico: Victoria.Nogues@uab.cat

**Uso de idiomas**

Lengua vehicular mayoritaria: catalán (cat)  
Algún grupo íntegramente en inglés: No  
Algún grupo íntegramente en catalán: Sí  
Algún grupo íntegramente en español: No

**Equipo docente**

Mohammed Moussaoui

**Prerequisitos**

No hay prerrequisitos oficiales. De todos modos, parte de los contenidos de las asignaturas de 1º curso y 2º curso (primer semestre) son necesarios para poder seguir correctamente la asignatura. En especial, los de las asignaturas siguientes: Termodinámica y Cinética Química, Química Orgánica de los Procesos Bioquímicos, Bioquímica I, Bioquímica II, Química e Ingeniería de Proteínas, Técnicas Instrumentales Básicas y Avanzadas. Para algunas actividades es necesario un nivel básico de comprensión lectora de inglés.

**Objetivos y contextualización**

La asignatura Biocatàlisis se centra en el estudio de las enzimas. El conocimiento de las enzimas es clave en el marco de la Bioquímica dado su papel como catalizadores de las reacciones biológicas y las aplicaciones en los procesos biotecnológicos. La asignatura analiza los enzimas desde diferentes perspectivas: actividad, cinética, mecanismos y aplicaciones. El objetivo general de la asignatura es proporcionar los fundamentos para el análisis, caracterización y uso de las enzimas desde las perspectivas de la investigación y de la aplicación biotecnológica y biomédica.

Objetivos concretos de la asignatura:

- Conocimiento de las características generales, clasificación y métodos de ensayo de la actividad enzimática.
- Análisis de la cinética enzimática y determinación y significado de los parámetros cinéticos.
- Conocimiento de la inhibición enzimática y sus aplicaciones, especialmente en el campo de los fármacos.
- Análisis del centro activo y conocimiento de los métodos de caracterización.
- Análisis de los mecanismos enzimáticos y de regulación.
- Aplicaciones biomédicas y biotecnológicas de las enzimas.

**Contenido**

Tema 1. **Introducción a las enzimas.**

Introducción histórica. Las enzimas en la sociedad actual. Propiedades generales de las enzimas. Actividad enzimática. Eficiencia. Especificidad. Complejo enzima-sustrato. Estado de transición. Disminución de la energía de activación. Regulación. Cofactores enzimáticos. Otros biocatalizadores.

## **Tema 2. Clasificación y nomenclatura las enzimas.**

Normas de la Comisión Internacional de Enzimas. Nomenclatura y clasificación de las seis clases principales de enzimas. Otras características necesarias para identificar una enzima. Bases de datos con información de enzimas.

## **Tema 3. Métodos de determinación de la actividad enzimática y de obtención de enzimas.**

Velocidad inicial: concepto, determinación y representación. Unidades de actividad enzimática. Efecto de la concentración de enzima. Métodos de determinación de la actividad enzimática. Obtención de las enzimas.

## **Tema 4. Análisis de la cinética enzimática (1).**

Reacciones con un sustrato. Efecto de la concentración de sustrato: ecuación de Michaelis-Menten. Estado pre-estacionario y estado estacionario: conceptos. Hipótesis del estado estacionario: tratamiento de Briggs-Haldane. Reacciones enzimáticas con más de un complejo intermedio enzima-sustrato.

## **Tema 5. Análisis de la cinética enzimática (2).**

Determinación de los parámetros cinéticos ( $K_M$ ,  $V_{max}$  y  $k_{cat}$ ). Métodos de 1) Lineweaver-Burk, 2) Eadie-Hofstee, 3) Hanes-Wolff, 4) Eisonthal-Cornish-Bowden y 5) Ecuación integrada de Michaelis-Menten. Significado de los parámetros cinéticos  $k_{cat}$  y  $K_M$ . Concepto de  $k_{cat} / K_M$ : eficiencia catalítica y especificidad enzimática. Ecuación de Michaelis-Menten para reacciones reversibles: relación de Haldane.

## **Tema 6. Inhibición de la catálisis enzimática.**

Tipo de inhibidores. Inhibidores reversibles: inhibición competitiva, acompetitiva y mixta (incluye la no competitiva). Modelo general. Análisis gráfico de los diferentes tipos de inhibición. Determinación de las constantes de inhibición. Concepto de  $IC_{50}$  y su relación con las constantes de inhibición. Inhibidores de fijación fuerte o pseudoirreversibles. Inhibidores irreversibles. Utilización de inhibidores de las enzimas como fármacos.

## **Tema 7. Análisis de la cinética enzimática en reacciones con más de un sustrato.**

Descripción general de las reacciones con más de un sustrato: notación de Cleland. Mecanismos de las reacciones bisustrato: secuencial ordenado, secuencial estadístico y de doble desplazamiento (ping-pong). Tratamiento matemático y análisis gráfico. Métodos para la determinación del tipo de mecanismo. Intercambio isotópico y efecto isotópico.

## **Tema 8. Cinética de los estados efímeros o fugaces ("transients").**

Características generales de los métodos de análisis. Métodos de mezcla: flujo continuo ("continuous flow"), flujo detenido ("stopped-flow") y extinción "quenched-flow". Métodos de relajación: salto de temperatura (T-jump), salto de presión (P-jump). Análisis del "Burst" de una reacción: determinación de la concentración de enzima.

## **Tema 9. Efecto del pH y de la temperatura en las reacciones enzimáticas.**

Efecto del pH en la actividad de las enzimas. Tratamiento cinético en el estado estacionario. Influencia del pH en los parámetros cinéticos. Grupos ionizables. Determinación del pK de los grupos ionizables que intervienen en la fijación del sustrato y en el proceso catalítico. Efecto de la temperatura. Enzimas de organismos extremófilos.

## **Tema 10. Cooperatividad y Alosteroismo.**

Análisis cinética de la cooperatividad. Ecuaciones de Hill y de Adair. Modelo de Monod, Wyman y Changeux. Modelo de Koshland, Nemethy y Filmer. Actividad y regulación de la aspartato transcarbamoilasa.

#### **Tema 11. Especificidad enzimática.**

El centro activo: definición, características, especificidad y estructura tridimensional. Teorías sobre el acoplamiento entre la enzima y el sustrato. Teoría de Fisher (llave). Teoría de Koshland ("induced fit" o acoplamiento inducido). La hexoquinasa como ejemplo de acoplamiento inducido. Hipótesis de la unión a tres puntos. Hipótesis que implica tensión. Estabilización del estado de transición. Anticuerpos catalíticos.

#### **Tema 12. Estudio del centro activo.**

Identificación de los centros de unión y de catálisis. Modificación química con inhibidores irreversibles específicos. Marcado con una parte del sustrato. Utilización de sustratos artificiales. Marcadores por afinidad. Investigación de la estructura tridimensional de proteínas: rayos X, RMN. Mutagénesis dirigida. Comparación de la mutagénesis y el marcaje químico. Catálisis asistida por el sustrato (SAC).

#### **Tema 13. Mecanismos de catálisis enzimática.**

Introducción a los mecanismos enzimáticos. Energética de la catálisis enzimática. Efectos de proximidad y orientación. Catálisis ácido-base. Catálisis covalente. Catálisis con iones metálicos. Efecto del entorno: catálisis electrostática. Canalización de intermediarios. Enzimas multifuncionales. Enzimas con funciones adicionales no enzimáticas "moonlighting enzymes".

#### **Tema 14. Cofactores y ribozimas.**

Mecanismos de actuación de cofactores: ejemplos. Ribozimas. Actividad catalítica del RNA. Tipo de ribozimas. Significado biológico de las ribozimas.

#### **Tema 15. Casos notables de especificidad enzimática.**

Endonucleasas de restricción. Mecanismos "editoriales" y de corrección de errores: aminoacil-tRNA sintetetas. Especificidad estérica de las enzimas. Selección y reconocimiento de centros quirales.

#### **Tema 16. Regulación de la actividad enzimática.**

Revisión de las diferentes estrategias de regulación de la actividad de las enzimas. Modificación de la concentración de enzima. Regulación de la síntesis y degradación de las enzimas. Mecanismos de degradación. Variación de la velocidad enzimática en función de la concentración de sustrato, producto y cofactores. Activación por precursor y retroinhibición. Control unido a la energía. Control hormonal. Isoenzimas. Polimerización-despolimerización. Unión a otras proteínas. Modificación covalente irreversible. Modificación covalente reversible.

#### **Tema 17. Aplicaciones biomédicas y biotecnológicas de las enzimas.**

El uso de las enzimas en los procesos industriales. Etapas en el diseño y puesta a punto de un biocatalizador. Aplicaciones de las enzimas: fármacos y diagnóstico, detergentes, industria textil e industria alimentaria.

#### **Resolución de problemas.**

Los problemas se centran de manera especial en el análisis de la actividad enzimática y la determinación e interpretación de parámetros cinéticos. Los enunciados de los problemas se entregarán a través del Campus Virtual.