

Biocatàlisi

Codi: 100867
Crèdits: 6

Titulació	Tipus	Curs	Semestre
2500252 Bioquímica	OB	2	2

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

Mohammed Moussaoui

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 a la biocatàlisi.

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, classificació i nomenclatura dels enzims.

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. Bases de dades amb informació d'enzims.

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

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. Anàlisi de la cinètica enzimàtica.

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 dels paràmetres cinètics.

Determinació dels paràmetres cinètics. Mètodes amb representacions lineals: Lineweaver-Burk, Eadie-Hofstee i Hanes-Woolf. Altres mètodes. Significat dels paràmetres cinètics k_{cat} , K_M i k_{cat}/K_M . Equació de Michaelis-Menten per a reaccions reversibles: relació de Haldane.

Tema 6. Inhibició de la catàlisi enzimàtica.

Inhibició de la catàlisi enzimàtica: tipus d'inhibidors. Inhibidors reversibles: inhibició competitiva, inhibició acompetitiva i mixta (inclou la inhibició 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. 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. Anàlisi de la cinètica enzimàtica en reaccions amb més d'un substrat.

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. Cinètica dels estats efímers o fugaços ("transients").

Característiques dels mètodes de cinètica ràpida. Mètodes de mescla: flux continu ("continuous flow"), flux detingut ("stopped-flow") i flux extingit ("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 de centres actius. "Bursts" i "lags".

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

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.

Tema 10. Cooperativitat i al·lostèricisme.

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 homotròpics pel model MWC. Enzims al·lostèrics. 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 al·lostèrica: aspartat carbamil transferasa.

Tema 11. Especificitat enzimàtica.

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 12. Estudi del centre actiu.

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. L'alcohol deshidrogenasa. Endonucleases de restricció. Mecanismes "editorials" i de correcció d'errors: aminoacil-tRNA sintetases.

Tema 13. Mecanismes de catàlisi enzimàtica.

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. Canalització d'intermediaris. Enzims multifuncionals. Enzims amb funcions addicionals no enzimàtiques "moonlighting enzymes".

Tema 14. Cofactors i ribozims.

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

Tema 15. Regulació de l'activitat enzimàtica.

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 al·lostèrisme. Control hormonal. Isoenzims. Polimerització-despolimerització. Unió a altres proteïnes. Modificació covalent irreversible. Modificació covalent reversible. Sistemes de cascada enzimàtica.

Tema 16. Aplicacions biomèdiques i biotecnològiques dels enzims.

Enzims en bioquímica clínica i biotecnologia. Enzims com agents terapèutics. Enzims indicadors de patologies. 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 17. Evolució dirigida.

Mètodes per millorar la biocatàlisi. Disseny i síntesi de nous catalitzadors. Evolució dirigida. Generació de mutants. Selecció i cribratge de l'activitat enzimàtica desitjada. Re-disseny d'enzims per a modificar la seva termoestabilitat i enantioselectivitat. Evolució adaptativa al laboratori.

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 constituiran 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 de l'alumnat 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 de l'alumnat. 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
Tipus: Dirigides			
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
Tipus: Supervisades			
Tutories	0	0	2, 3, 4, 5

Tipus: Autònomes			
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 cal demostrar el 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 casos les proves inclouran els continguts de les sessions teòriques i de resolució de casos 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 s'obtingui una qualificació inferior a 4 punts en qualsevol de les proves parcials, s'haurà de realitzar una prova de recuperació dels continguts corresponents. Les persones 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 a la qualificació obtinguda en les proves parcials.

Resolució de problemes treballats en grup i ús d'aplicacions informàtiques. Avaluació grupal (1,5/10). Aquesta activitat no és recuperable.

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 elseu plantejament i presentació. Totel 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'una persona 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 se li aplicarà o bé se li podrà reduir.

Pel curs 2019-2020, les persones que matriculen l'assignatura per segon cop podran decidir mantenir la nota de l'avaluació grupal obtinguda el curs 2018-2019, 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 obtenir 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, la qualificació final màxima de l'assignatura serà de 4 punts sobre 10.

Les persones 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.

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.

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 informàtiques	15%	0	0	1, 2, 3, 6, 7, 9

Bibliografia

Obres específiques

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

https://cataleg.uab.cat/iii/encore/record/C__Rb2008692__Sbommarius__Orightresult__U__X4?lang=cat&suite=de

- Biocatalysis. Biochemical Fundamentals and Applications (2018). P. Grunwald. World Scientific. 2nd Edition.

- Biotransformations in Organic Chemistry. 6th ed. K. Faber (2011). Ed. Springer. Accés on line UAB:

https://cataleg.uab.cat/iii/encore/record/C__Rb2038210__Skurt%20faber__Orightresult__U__X4?lang=cat&suite=de

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

- Enzyme Kinetics: Principles and Methods, Third, enlarged and improved Edition. Bisswanger, H. 2017. WileyVCH Verlag GmbH & Co. KGaA. Accés on line UAB:

https://cataleg.uab.cat/iii/encore/record/C__Rb2033620__Sbisswanger__Orightresult__U__X4?lang=cat&suite=de

- Enzyme Kinetics: Catalysis & control: a reference of theory and best-practice methods. 2010. Purich, D.L.Elsevier Academic San Diego, California (recurs electrònic).

https://cataleg.uab.cat/iii/encore/record/C__Rb1856617__Spurich__Orightresult__U__X4?lang=cat&suite=de

- Enzymes: Biochemistry, Biotechnology, Clinical Chemistry. Palmer, T., Bonner, P. 2nd ed. 2007. Elsevier. Accés on line UAB:

https://cataleg.uab.cat/iii/encore/record/C__Rb1962824__Spalmer%20and%20bonner__Orightresult__U__X2?lan

- Exploring proteins, a student's guideto experimental skills and methods. Price, N.C.Ed. Oxford University Press, 2009

- Evaluation of enzyme inhibitors in drug discovery. R. A. Copeland (2013). 2nd ed. Wiley Interscience. John Wiley & Sons.
- Fundamentals of Enzyme Kinetics. A. Cornish-Bowden (2012). 4th edition. Wiley-Blackwell.
- 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.

Obres Generals

- "Biochemistry" (2019). Berg, J.M., Tymoczko, J.L, Gatto, Jr., Stryer, L 9^a ed. MacMillan International. New York
- "Biochemistry" (2013), Mathews, C. K., van Holde, K. E., Appling, D., Anthony-Cahill, S. 4^a ed. Pearson Education. Upper Saddle River.
- "Biochemistry" (2011). Voet, D., and Voet, J.G. 4^a ed. Ed.Wiley. London.
- "Bioquímica" (2013). Mathews, C. K., van Holde, K. E., Appling, D., Anthony-Cahill, S. 4^a ed. Addison/Wesley. McGraw-Hill/Interamericana. Madrid.

Traduït de la 4a ed. en anglès de l'any 2013 publicada per Pearson Education.

- "Bioquímica con aplicaciones clínicas" (2013). Stryer,L., Berg, J.M., Tymoczko, J.L. 7a ed. Ed. Reverté.

Traduït de la 7a ed. en anglès de l'any 2012 publicada per WH Freeman and Company.

- "Lehninger Principles of Biochemistry" (2017). Nelson, D.L. and Cox, M.M. 7^a ed. Freeman, New York.
- "Lehninger Principios de Bioquímica" (2014). Nelson, D.L. and Cox, M.M. 6^a ed. Omega. Barcelona.

Enllaços web

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