

Biocatàlisis

Código: 100867
Créditos ECTS: 6

Titulación	Tipo	Curso	Semestre
2500252 Bioquímica	OB	2	2

Contacto

Nombre: Josep Antoni Biosca Vaqué
Correo electrónico: Josep.Biosca@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 prerequisites 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.

Competencias

- Aplicar los recursos informáticos para la comunicación, la búsqueda de información, el tratamiento de datos y el cálculo
- Demostrar que comprende y aplica los mecanismos de catálisis biológica basados en la estructura de los catalizadores biológicos y las reacciones químicas

- Gestionar la información, organización y planificación del trabajo
- Interpretar resultados experimentales e identificar elementos consistentes e inconsistentes
- Leer textos especializados tanto en lengua inglesa como en las lenguas propias
- Manejar bibliografía e interpretar la información de las principales bases de datos biológicos, así como saber usar las herramientas informáticas básicas
- Utilizar las metodologías analíticas para el ensayo de la actividad biológica de los componentes celulares, en especial enzimas, tanto in vitro como in vivo

Resultados de aprendizaje

1. Aplicar los recursos informáticos para la comunicación, la búsqueda de información, el tratamiento de datos y el cálculo
2. Calcular e interpretar los parámetros cinéticos de las reacciones enzimáticas, mediante métodos gráficos y utilizando programas informáticos
3. Evaluar la idoneidad de los métodos de determinación de actividades enzimáticas y analizar el efecto de las condiciones experimentales de ensayo
4. Explicar las bases estructurales y los principales mecanismos de catálisis enzimática y su regulación
5. Explicar los fundamentos físico-químicos de la catálisis enzimática
6. Gestionar la información, organización y planificación del trabajo
7. Interpretar resultados experimentales e identificar elementos consistentes e inconsistentes
8. Leer textos especializados tanto en lengua inglesa como en las lenguas propias
9. Obtener información de las bases de datos sobre estructura, actividad, y funciones biológicas de los enzimas y sus aplicaciones

Contenido

Tema 1. Introducción a la biocatálisis.

Concepto de biocatálisis. Mercado y utilización de los biocatalizadores. Prejuicios en la utilización de enzimas. Perspectiva histórica. Olas de innovación en la biocatálisis. Ventajas e inconvenientes de los biocatalizadores. Diferentes tipos de procesos de biocatálisis. Sistemas celulares y enzimáticos: propiedades. Factores a considerar en un proceso de biocatálisis: fuente del biocatalizador y optimización del proceso.

Tema 2. Propiedades, clasificación y nomenclatura de las enzimas.

Propiedades generales de las enzimas: Concepto y significación biológica, química y práctica. Definiciones. Complejo enzima-sustrato. Disminución de la energía de activación. Estado de transición. Cofactores enzimáticos. Nomenclatura y clasificación de las enzimas. Bases de datos con información de enzimas.

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

Obtención y caracterización de las enzimas. Fuentes de obtención. Técnicas para la extracción de enzimas. Métodos de determinación de la actividad enzimática. Velocidad inicial: concepto, determinación, representación. Unidades de actividad enzimática. Efecto de la concentración de enzima.

Tema 4. Análisis de la cinética enzimática.

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

Tema 5. Determinación de los parámetros cinéticos.

Determinación de los parámetros cinéticos. Métodos con representaciones lineales: Lineweaver-Burk, Eadie-Hofstee y Hanes-Woolf. Otros métodos. Significado de los parámetros cinéticos k_{cat} , K_M y k_{cat} / K_M . Ecuación de Michaelis-Menten para reacciones reversibles: relación de Haldane.

Tema 6. Inhibición de la catálisis enzimática.

Inhibición de la catálisis enzimática: tipos de inhibidores. Inhibidores reversibles: inhibición competitiva, inhibición acompetitiva y mixta (incluye la inhibición no competitiva). Modelo general. Análisis gráfico de los diferentes tipos de inhibición. Determinación de las constantes de inhibición. Concepto de IC₅₀ y su relación con las constantes de inhibición. Inhibición por exceso de sustrato. Discriminación entre sustratos competitivos. Inhibidores pseudoirreversibles e inhibidores irreversibles. Marcadores por afinidad. Inhibidores suicidas. Utilización de inhibidores como fármacos.

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

Reacciones con más de un sustrato: notación de Cleland. Mecanismo secuencial ordenado, mecanismo secuencial estadístico, mecanismo 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 de los métodos de cinética rápida. Métodos de mezcla: flujo continuo ("continuous flow"), flujo detenido ("stopped-flow") y flujo extinguido ("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 centros activos. "Bursts" y "lags".

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

Acción de la temperatura sobre la cinética enzimática. Representación de Arrhenius. Enzimas de organismos extremófilos. Efectos del pH sobre la cinética enzimática. Ionización de residuos esenciales. Influencia del pH sobre los parámetros cinéticos. Evaluación de las constantes de ionización. Identificación de los grupos ionizables implicados en los procesos de unión y catálisis. Efectos del micro entorno sobre el pK.

Tema 10. Cooperatividad y Alosterismo.

Unión de ligandos a proteínas. Concepto y tipos de cooperatividad. Análisis de la cooperatividad. Unión del oxígeno a la hemoglobina. Modelos de cooperatividad. Modelo de Monod, Wyman y Changeux. Explicación de los efectos cooperativos homotrópicos por el modelo MWC. Enzimas alostéricas. Sistemas K y sistemas V. Modelo de Koshland, Nemethy y Filmer. Determinación del modelo de cooperatividad que sigue una determinada enzima. Ejemplo de enzima con regulación alostérica: aspartato carbamil transferasa.

Tema 11. Especificidad enzimática.

El centro activo, especificidad y estructura tridimensional. Definición de centro activo. Características del centro activo. Teorías sobre el acoplamiento entre la enzima y el sustrato. Teoría de Fisher (llave-cerradura). Teoría de Koshland ("induced fit" o acoplamiento inducido). La hexoquinasa como ejemplo de acoplamiento inducido. Hipótesis de la unión a tres puntos. Hipótesis que implican tensión. Estabilización del estado de transición. Evidencias que apoyan la teoría del estado de transición. Anticuerpos catalíticos. Aplicaciones de los anticuerpos catalíticos.

Tema 12. Estudio del centro activo.

El centro activo. Identificación de los centros de unión y de catálisis. Marcado con una parte del sustrato. Utilización de sustratos artificiales. Modificación química con inhibidores irreversibles específicos. Marcadores por afinidad. Inhibidores suicidas, ejemplos con interés farmacológico. Mutagénesis dirigida. Las serina-proteasas: subtilisina. Comparación de la mutagénesis y el marcaje químico. Investigación de la estructura tridimensional de proteínas: rayos X, RMN, modelado molecular. El alcohol deshidrogenasa. Endonucleasas de restricción. Mecanismos "editoriales" y de corrección de errores: aminoacil-tRNA sintetasas.

Tema 13. Mecanismos de catálisis enzimática.

Mecanismos de catálisis. Introducción a los mecanismos de la acción enzimática. Catálisis ácido-básica. Catálisis covalente. Piridoxal fosfato. Catálisis con iones metálicos. Mecanismos de la alcohol deshidrogenasa

y la anhidrasa carbónica. Efecto del entorno: catálisis electrostática. El lisozima. Mecanismo de la subtilisina. La superóxido dismutasa. Efectos de proximidad y orientación. Canalización de intermediarios. Enzimas multifuncionales. Enzimas con funciones adicionales no enzimáticas "moonlighting enzymes".

Tema 14. Cofactores y ribozimas.

Cofactores y ribozimas. Actividad catalítica del RNA. Tipo de ribozimas. El ribosoma es una ribozima. Significado biológico de las ribozimas. Aplicaciones de las ribozimas.

Tema 15. Regulación de la actividad enzimática.

Regulación de la actividad enzimática. 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 retro inhibición. Significado funcional de la cooperatividad y el Alosterismo. Control hormonal. Isoenzimas.

Polimerización-despolimerización. Unión a otras proteínas. Modificación covalente irreversible. Modificación covalente reversible. Sistemas de cascada enzimática.

Tema 16. Aplicaciones biomédicas y biotecnológicas de las enzimas.

Enzimas en bioquímica clínica y biotecnología. Enzimas como agentes terapéuticos. Enzimas indicadores de patologías. Enzimas plasmáticos. Factores que afectan los niveles de los enzimas plasmáticos. Ejemplos de enzimas con interés diagnóstico. Aminotransferasas. Creatina quinasa. Lactato deshidrogenasa. Indicadores del infarto de miocardio. Enzimas como reactivos en bioquímica clínica. Enzimas y errores congénitos del metabolismo, ejemplos. Enzimas en la industria. Producción en gran escala de enzimas. Aplicaciones: fármacos, industria alimentaria, detergentes, industria textil. Enzimas inmovilizados. Enzimas como biosensores.

Tema 17. Evolución dirigida.

Métodos para mejorar la biocatálisis. Diseño y síntesis de nuevos catalizadores. Evolución dirigida.

Generación de mutantes. Selección y cribado de la actividad enzimática deseada. Re-diseño de enzimas para modificar su termoestabilidad y enantioselectividad. Evolución adaptativa en el laboratorio.

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.

Metodología

La asignatura de Biocatálisis consta de clases teóricas, clases de resolución de problemas y uso de aplicaciones informáticas, resolución y entrega de problemas en grupo y tutorías. Las actividades formativas de la asignatura se complementan con los contenidos prácticos de formación en el ámbito de las enzimas que se imparten en la asignatura Laboratorio Integrado 4. A continuación se describe la organización y la metodología docente que se seguirá en estos tipos de actividades formativas.

Clases de teoría:

El contenido del programa de teoría será impartido principalmente por el profesor en forma de clases magistrales con soporte audiovisual. Las presentaciones utilizadas en clase por el profesor estarán disponibles en el Campus Virtual de la asignatura antes del inicio de cada uno de los temas del curso. Estas sesiones expositivas constituirán la parte más importante del apartado de teoría. Se recomienda disponer del material publicado en el Campus Virtual para poder seguir las clases con más comodidad. Con el fin de consolidar y clarificar los contenidos explicados en clase, se aconseja consultar de forma regular los libros recomendados en el apartado de Bibliografía y los enlaces y recursos indicados en los diferentes temas, que contienen información relacionada con los procesos explicados en clase.

Clases de resolución de problemas y uso de aplicaciones informáticas:

En estas sesiones el grupo clase se dividirá en dos grupos (A y B). Se debe consultar el grupo al que se pertenece y asistir a las clases correspondientes del mismo. Habrá 10 sesiones de problemas que se dedicarán a la resolución de problemas relacionados con los contenidos del programa de teoría y el uso de aplicaciones informáticas relacionadas con las enzimas.

Se pretende que estas clases sirvan para consolidar los contenidos previamente trabajados en las clases de teoría y también para conocer algunas de las estrategias experimentales, la interpretación de datos científicos y la resolución de problemas basados en situaciones experimentales reales.

Resolución y entrega de problemas en grupo:

Esta actividad pretende trabajar la competencia del trabajo en equipo, mediante la organización del alumnado en grupos de trabajo en los que todos los miembros deberán participar activamente en la resolución de los problemas.

La metodología de esta actividad será la siguiente:

Al inicio del curso los alumnos se organizarán en grupos de cuatro personas, inscribiendo los grupos a través del Campus Virtual antes de la fecha límite indicada por el profesor (véase Programación de la asignatura). Los grupos trabajarán los problemas indicados para esta actividad fuera del horario de clase. Los trabajos se entregarán a través del Campus Virtual. La calificación obtenida será aplicable a todos los miembros del grupo de trabajo al que pertenezca el alumno.

Los enunciados de las entregas se publicarán a través del Campus Virtual donde también se indicarán las fechas de entrega.

Tutorías

Se realizarán tutorías individuales a petición del alumnado. En caso de que el número de solicitudes sea elevado se realizarán, de manera adicional, tutorías de aula que se anunciarían oportunamente a través del Campus Virtual. El objetivo de estas sesiones será el de resolver dudas, repasar conceptos básicos y orientar sobre las fuentes de información consultadas.

Material disponible en el Campus Virtual de la asignatura:

Presentaciones utilizadas por el profesor en las clases de teoría.

Enunciados de los problemas o casos a trabajar en las clases de problemas. Incluirá los problemas del trabajo en grupo.

Programación e información de las actividades docentes (clases de aula, tutorías, evaluaciones, ...).

Actividades

Título	Horas	ECTS	Resultados de aprendizaje
Tipo: Dirigidas			
Clases de resolución de problemas y uso de aplicaciones informáticas	10	0,4	1, 3, 2, 7, 8, 9
Clases de teoría	35	1,4	3, 2, 5, 4, 8, 9
Tipo: Supervisadas			
Tutorías en grupo	0	0	3, 2, 5, 4

Tipo: Autónomas

Análisis y resolución de problemas	20	0,8	1, 3, 2, 6, 7, 8, 9
Estudio	57	2,28	1, 5, 4, 6, 7, 8
Resolución y entrega de trabajo en grupo	24	0,96	1, 3, 2, 6, 7, 8, 9

Evaluación

La evaluación de la asignatura constará de las siguientes actividades:

Pruebas parciales de teoría y problemas. Evaluación individual (8,5 / 10)

- La evaluación de esta actividad se realizará mediante dos pruebas escritas en las que hay que demostrar el grado de consecución de los conceptos teóricos y de la resolución de problemas.

- Cada una de las pruebas tendrá un peso global de 4,25 sobre 10. La primera estará programada a mediados del semestre y la segunda a finales del semestre en el periodo de tiempo correspondiente a la evaluación final. En ambos casos las pruebas incluirán los contenidos de las sesiones teóricas y de resolución de casos prácticos y problemas.

-Para aprobar la asignatura será necesario que el alumno obtenga una calificación mínima de 4 puntos sobre 10 en cada una de estas pruebas.

En caso de que se obtenga una calificación inferior a 4 puntos en cualquiera de las pruebas parciales, se deberá realizar una prueba de recuperación de los contenidos correspondientes. Las personas que a pesar de haber superado las pruebas parciales quieran mejorar su calificación también podrán realizar esta prueba de recuperación. Hay que tener en cuenta, sin embargo, que el hecho de realizar esta prueba de recuperación implicará la renuncia a la calificación obtenida en las pruebas parciales.

Resolución de problemas trabajados en grupo y uso de aplicaciones informáticas. Evaluación grupal (1,5 / 10). Esta actividad no es recuperable.

Los trabajos elaborados en grupos de 4 personas se entregarán a través del Campus Virtual. Para la valoración se tendrá en cuenta no sólo la resolución correcta del trabajo sino también su planteamiento y presentación. Todo el grupo recibirá la misma calificación.

Si se considera necesario, el profesor podrá solicitar que se rellene de manera individual un cuestionario referente al trabajo del grupo. Aunque los resultados de este cuestionario no tendrán, de entrada, un peso específico en la calificación de la asignatura, en caso de detectar valoraciones negativas de una persona por parte del resto de miembros de su grupo que demuestren que no ha participado en el trabajo, la calificación obtenida por el grupo no se le aplicará o bien se le podrá reducir.

Para el curso 2019-2020, las personas que matriculen la asignatura por segunda vez podrán decidir mantener la nota de la evaluación grupal obtenida el curso 2018-2019, si ésta es superior a 5, o bien realizar esta actividad de evaluación.

Evaluación global de la asignatura.

La evaluación global de la asignatura incluirá las calificaciones de las dos pruebas parciales y de la resolución de problemas trabajados en grupo y el uso de aplicaciones informáticas. Sobre un total de 10 puntos, será necesario obtener una calificación global igual o superior a 5 puntos para el total de la evaluación de la asignatura y una calificación mínima de 4 sobre 10 en las dos pruebas parciales. Si en alguna de las pruebas parciales la calificación es inferior a 4 puntos, la calificación final máxima de la asignatura será de 4 puntos sobre 10.

Las personas que, por causa justificada y habiendo recibido la autorización previa del profesor, no formen parte de ningún grupo de trabajo no habrán podido demostrar la superación de algunas competencias y

resultados de aprendizaje de la asignatura. en este caso, la calificación máxima que podrán obtener en la asignatura será de 8,5 puntos sobre 10.

Para participar en la recuperación, el alumnado debe haber sido previamente evaluado en un conjunto de actividades el peso de las que equivalga a un mínimo de dos terceras partes de la calificación total de la asignatura o módulo. Por lo tanto, el alumnado obtendrá la calificación de "No Evaluable" cuando las actividades de evaluación realizadas tengan una ponderación inferior al 67% en la calificación final.

Actividades de evaluación

Título	Peso	Horas	ECTS	Resultados de aprendizaje
Dos pruebas parciales de teoría y problemas	85%	4	0,16	3, 5, 4, 6, 7, 8
Resolución de problemas y casos prácticos y uso de aplicaciones informáticas	15%	0	0	1, 3, 2, 6, 7, 9

Bibliografía

Obras específicas

- 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 guide to 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.

Obras Genéricas

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

Traducido de la 4a ed. inglesa de 2013 publicada por Pearson Education.

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

Traducido de la 7a ed. inglesa de 2012 publicada por WH Freeman and Company.

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

Enlaces web

Estarán actualizados en el Campus Virtual de la asignatura.