

ENZIMOLOGIA

Codi: 234006

Tipus d'assignatura: Obligatòria

Crèdits: 6 Teòrics

Departament responsable: Bioquímica i Biologia Molecular

Professorat : Josep Centelles/ Santiago Imperial

Semestre: Primer

PROGRAMA

TEORIA

1.-Introducció. Enzims: Definició i conceptes generals (Apoenzims, Holoenzims, Cofactors, Coenzims i Grups Prostètics). Classificació i nomenclatura dels enzims. Propietats característiques dels enzims: centre actiu. Enzims monomèrics i oligomèrics. Ribozims. Abzims.

2.-Mètodes de determinació de l'activitat enzimàtica i del contingut en proteïna. Mètodes d'assaig dels enzims. Corbes de progrés: velocitat inicial de reacció. Mètodes de determinació del contingut en proteïna. Unitats d'expressió de l'activitat enzimàtica. Purificació enzimàtica: seguiment i criteris de puresa.

3.-Cinètica michaeliana: reaccions enzimàtiques monosubstrat. Reaccions irreversibles amb un sol complex intermediari: Aproximacions del ràpid equilibri i de l'estat estacionari. Significat de k_{cat} , K_M i k_{cat} / K_M . Mètodes de determinació dels paràmetres cinètics. Reaccions reversibles amb un sol complex intermediari: relació de Haldane. Deducció d'equacions de velocitat en sistemes enzimàtics complexos: mètode de King i Altman. Influència de la concentració de l'enzim, del pH i de la temperatura.

4.-Mecanismes d'inhibició i d'activació (I). Inhibidors reversibles: Definició i criteris de classificació. Deducció de l'equació de velocitat. Variació del grau d'inhibició amb la concentració del substrat. Inhibició per excés de substrat.

5.-Mecanismes d'inhibició i d'activació (II). Tipus d'inhibidors reversibles parcials: Deducció de l'equació de velocitat. Mètodes gràfics per avaluar la constant d'inhibició. Activadors essencials i no essencials: comportament cinètic. Inhibidors irreversibles: característiques i tractament cinètic.

6.-Sistemes enzimàtics multireactants. Classes principals de mecanismes cinètics multisubstrat: definició i nomenclatura. Equacions de velocitat i determinació dels paràmetres cinètics. Discriminació entre mecanismes cinètics bi-bi: inhibició pels productes de la reacció. Inhibidors "dead end" : tipus i caracterització cinètica.

7.-Unió de lligands a proteïnes: cooperativitat.

Proteïnes amb múltiples centres d'unió: fixació no cooperativa. Determinació del nombre de centres d'unió i de la constant d'afinitat del lligand. Cooperativitat i allostèricisme. Tractament matemàtic i mètodes d'expressió de la cooperativitat.

8.-Models moleculars que justifiquen el comportament cooperatiu. Model de Monod: postulats. Sistemes K i V: equacions de velocitat. Lligands de fixació exclusiva. Model de Koshland: característiques i deducció de les equacions de velocitat en absència i en presència d'efectors. Altres models moleculars.

9.-Altres mecanismes de control de l'activitat enzimàtica. Modificació de la concentració de l'enzim. Modificació covalent irreversible. Modificació covalent reversible: tipus, significat funcional i exemples. Complexes multienzimàtics. Isoenzims.

10.- Mecanismes de catàlisi de les reaccions enzimàtiques. Teoria de l'estat de transició. Efectes de proximitat i d'orientació. Acoblament induït: fenòmens de tensió-distorsió. Tipus de mecanismes de catàlisi: catàlisi àcid-base, catàlisi covalent, catàlisi per ions metàl·lics, catàlisi mitjançant coenzims i grups prostètics. Mecanismes d'enzims seleccionats.

PROBLEMES

Les classes teòriques es complementaran amb diverses sessions dedicades a la resolució de qüestions i de problemes numèrics.

BIBLIOGRAFIA

-COPELAND, R.A. Enzymes: a practical introduction to structure, mechanism and data analysis. 2nd Ed. Wiley-YCH, 2000.

-CORNISH-BOWDEN, A. Fundamentals of enzyme kinetics. Portland Press Ltd. London. 1995

-DIXON, M. & WEBB, E.C. Enzymes. 3rd Ed. Longmans. London. 1979.

-FERSHT, A. Enzyme structure and mechanism. 2nd Ed. W.H.Freeman. New York. 1985.

-FERSHT, A. Structure and mechanism in protein science: A guide to enzyme catalysis and protein folding. W.H. Freeman. 1999.

-NÚÑEZ DE CASTRO, I. Enzimología. Ed. Pirámide. 2001.

-PAGE, M & WILLIAMS, A. (Eds.). Enzyme mechanisms. Springer. 1987.

-PALMER, T. Understanding enzymes. 4th Ed. Prentice Hall. 1995

-PRICE, N.C. & STEVENS, L. Fundamentals of Enzymology. 3rd Ed. Oxford Univ. Press. 2001.

-PURICH, D.L. Contemporary enzyme kinetics and mechanism. 2nd Ed. Academic Press. 1996.

-SEGEL, I.H. Enzyme kinetics: behaviour and analysis of rapid equilibrium and steady state enzyme system (Wiley Classics Library). Wiley & Sons. 1993.

CRITERIS D' AVALUACIÓL'avaluació s'efectuarà de forma continuada mitjançant la realització de dos proves de tipus test al llarg del curs i d'una prova de síntesi que constarà de problemes numèrics i qüestions teòriques de resposta breu. La qualificació de les proves tipus test representarà cadascuna d'elles el 10% de la nota final i la prova de síntesi el 80%.