



FACULTAT DE  
FARMÀCIA

0/17



UNIVERSITAT DE BARCELONA



# ENZIMOLOGIA

Curs  
2006-07

Ensenyament de Farmàcia



**ENSENYAMENT DE FARMÀCIA  
PLA D'ESTUDIS 2002**

**PLA DOCENT – CURS 2006-07**

<b>ASSIGNATURA</b>		<b>ENZIMOLOGIA</b>	
<b>DEPARTAMENT</b>		Bioquímica i Biologia Molecular (Farmàcia)	
<b>ÀREA DE CONEIXEMENT</b>		Bioquímica i Biologia Molecular	
<b>SEMESTRE DE DOCÈNCIA</b>		1r semestre	
<b>CRÈDITS (TEÒRICS + PRÀCTICS)</b>		6 cr. (4,5T i 1,5P)	
<b>TIPUS</b>		Optativa	
<b>CRÈDITS ECTS</b>	Hores d'activitat presencial	60 h	
	Hores de treball dirigit	15 h	
	Hores d'aprenentatge autònom	60 h	
	Hores d'activitats d'avaluació	5 h	
	<b>Hores totals de treball de l'alumne/a</b>	<b>140 h</b>	



## 1. INTRODUCCIÓ

El programa comprèn una primera part dedicada a l'estudi dels enzims com a catalitzadors de reaccions. S'estudien les estratègies i els objectius per purificar un enzim, com analitzar l'èxit d'un procés de purificació, i les característiques estructurals dels enzims.

Després de considerar les formes de reconeixement del centre actiu dels enzims i l'interès pràctic de conèixer-los, s'aborden el comportament cinètic de les reaccions monosubstrat, bisubstrat i les inhibicions enzimàtiques. També els mecanismes de modulació de l'activitat enzimàtica, la presència d'isoenzims, complexos multienzimàtics, enzims multifuncionals i l'activitat enzimàtica associada a molècules com ara l'RNA o els anticossos. Els mecanismes de catàlisi de diversos enzims es consideren a continuació.

Finalment s'estudia el potencial de les modificacions biotecnològiques d'enzims i aplicacions, les aplicacions clíniques d'enzims i l'interès industrial de l'enzimologia.

## 2. OBJECTIUS

L'objectiu general del curs programat és que l'alumnat adquireixi un ampli coneixement de l'estructura-funció, els mecanismes de reacció i les aplicacions dels enzims. Es farà un èmfasi especial en la comprensió de la cinètica de les reaccions catalitzades per enzims i l'aplicació adequada dels coneixements cinètics, quan es tracti de determinar les constants cinètiques en presència i absència d'inhibidors i en efectuar una anàlisi enzimàtica, o quan es tracti de determinar metabòlits amb l'ajut de reaccions catalitzades per enzims.

Tindrà un interès notable la comprensió de la gran potencialitat dels enzims dins l'àmbit industrial i clínic. S'analitzarà la importància de les anàlisis enzimàtiques com a eina per al seguiment i el diagnòstic de malalties. Com a objectiu addicional s'estudiaran els mecanismes per al disseny biotecnològic d'enzims, per tal de disposar d'enzims amb noves capacitats catalítiques per a fins industrials i biològics; la potencialitat d'aquest darrer aspecte és de gran actualitat en el camp de l'enzimologia.

## 3. PROGRAMA

### PROGRAMA DE TEORIA

**Lliçó 1. Introducció.** Els enzims com a catalitzadors de reaccions. Concepte. Història. Cofactors. Nomenclatura i classificació dels enzims. Unitats.

**Lliçó 2. Purificació d'enzims.** Objectius i estratègia en la purificació d'enzims. Selecció de la font de l'enzim. Homogeneïtzació. Mètodes de separació de proteïnes enzimàtiques segons la mida, la càrrega i l'afinitat. Anàlisi de l'èxit d'un procés de purificació.

**Lliçó 3. Estructura dels enzims.** Enzims: determinació del pes molecular i de la composició d'aminoàcids. Determinació de la seqüència. Estructures secundària, terciària i quàternària. Grups prostètics. El centre actiu: grups catalítics i especificitat. Mètodes d'identificació dels aminoàcids que formen el centre actiu. Mutagènesi dirigida: una eina per a l'estudi de la catàlisi enzimàtica.

**Lliçó 4. Cinètica enzimàtica.** Catàlisi. Velocitat inicial: determinació i representació. Com obtenir dades cinètiques. Cinètica de les reaccions enzimàtiques monosubstrat. Estat estacionari. Anàlisi de dades cinètiques en reaccions monosubstrat: equació de Michaelis-Menten. Determinació i significat de  $K_m$ ,  $V_{m\max}$  i  $K_{cat} / K_m$ . Tractament de dades: Lineweaver-Burk, Eadie-Hofstee, Hanes i *linear plot*.

**Lliçó 5. Cinètica enzimàtica.** Influència de la concentració d'enzim, del pH i de la temperatura en la reacció enzimàtica. Inhibició enzimàtica reversible i irreversible. Tipus d'inhibició reversible. Mesura quantitativa de la inhibició: significat de  $K_i$ . Aplicacions de la inhibició: fàrmacs inhibidors de l'activitat enzimàtica. Activació enzimàtica.

**Lliçó 6. Cinètica enzimàtica.** Reaccions multisubstrat: mecanismes i nomenclatura. Reaccions bisubstrat: equacions de velocitat i representació gràfica. Mètodes d'estudi dels mecanismes de reacció.

**Lliçó 7. Cinètica enzimàtica.** Cinètica sigmoïdal. Interacció amb efectors: al·lostèria. Unió cooperativa de lligands. Cooperativitat positiva i equació de Hill. Models moleculars proposats.

**Lliçó 8. Regulació de l'activitat enzimàtica.** Mecanismes de regulació. Concentració d'enzim. Modificació covalent. Control de vies metabòliques. Isoenzims. Enzims multifuncionals i complexos multienzimàtics.

**Lliçó 9. Mecanismes de catàlisi enzimàtica.** Factors que influeixen en la catàlisi. Tipus de catàlisi. Estructura i acció catalítica de diversos tipus d'enzims: deshidrogenases, quimiotripsina. Ribonucleasa.

**Lliçó 10. Aplicacions de l'enzimologia al diagnòstic clínic.** Factors que determinen els nivells d'enzims en el plasma sanguini. Preparació de les mostres per a les anàlisis enzimàtiques. Determinació d'activitats enzimàtiques i metabòlits: mètodes de punt final. Mètodes cinètics. Reaccions simples i reaccions acoblades. Condicions òptimes de reacció: pH, temperatura, substrat, efectors i enzims auxiliars. Estratègies per a l'optimització del mètode.

**Lliçó 11. Els enzims en les malalties.** Malalties hepàtiques: hepatitis aguda, hepatitis crònica i cirrosi. Mal hepàtic per tòxics i fàrmacs. Malalties hepatobiliars. Infart de miocardi: canvi de determinades activitats enzimàtiques en la sang i aplicació en el diagnòstic. Enzims d'interès en altres patologies.

**Lliçó 12. Aplicacions biotecnològiques dels enzims.** Noves estratègies per al disseny i la utilització d'enzims. Disseny *de novo* d'enzims: aplicacions biotecnològiques. *Making enzymes from proteins*. Anticossos catalítics. Enzims immobilitzats. Utilització industrial d'enzims.

## SEMINARIS

- a) RNA catalític.
- b) Anticossos catalítics.
- c) Anàlisi del procés de purificació d'un enzim.
- d) Enzims de disseny: aplicacions tecnològiques i per a l'estudi de la catàlisi enzimàtica.
- e) Regulació de l'activitat enzimàtica per mecanismes al·lostèrics i per fosforilació-desfosforilació.
- f) Enzims bifuncionals i complexos multienzimàtics.
- g) Control quimioterapèutic de reaccions enzimàtiques.
- h) Aplicació clínica d'enzims: enzims lliures i immobilitzats.
- i) Enzimoimmunoassaig.
- j) Mecanització i automatització de les anàlisis enzimàtiques.
- k) Seminaris de problemes.

## PRÀCTIQUES DE LABORATORI

- a) Separació electroforètica i revelatge d'isoenzims de la LDH.
- b) Determinació d'activitat enzimàtica i metabòlits per mètodes manuals.
- c) Determinació d'activitat enzimàtica i metabòlits per mètodes automatitzats.
- d) Aplicació de programes informàtics per al seguiment del procés de purificació d'un enzim (aula d'informàtica).
- e) Utilització de programes informàtics per a l'anàlisi i el càlcul de constants cinètiques (aula d'informàtica).

## 4. METODOLOGIA

L'ensenyament es fa mitjançant classes teòriques (4,5 crèdits). L'alumnat tindrà una participació activa en les classes de seminaris i problemes (0,6 crèdits). Per al desenvolupament de les classes pràctiques (0,9 crèdits) l'alumnat assistirà al



laboratori, on disposarà del material necessari per al desenvolupament i l'aprenentatge de les tècniques proposades, i a l'aula d'informàtica per conèixer programes d'aplicació en el camp de l'enzimologia.

L'aprenentatge requereix l'assistència a les classes teòriques i la participació activa de l'alumnat en les classes de seminaris, de problemes i en les pràctiques de laboratori. L'estudi i la motivació personal són imprescindibles per a l'adquisició de nous coneixements.

## 5. AVALUACIÓ

Es farà un examen final en què s'avaluarà els coneixements teòrics i pràctics (representa un 80 % de la nota).

L'elaboració i la presentació d'un treball en les classes de seminaris i la realització dels problemes representen un 20 % de la nota.

## 6. RECOMANACIONS PER CURSAR L'ASSIGNATURA

Cal haver cursat: Bioquímica, Biologia Molecular i Genòmica.

## 7. BIBLIOGRAFIA I FONTS DOCUMENTALS

- ✓ ARRIAGA, M. D.; BUSTO, F.; CADENES, E. *Manual de ejercicios de cinética enzimática*. León: Universidad de León, 1998.
- ✓ BERMEYER, H. U. *Methods of Enzymatic Analysis*. Weinheim: Verlag Chemie, 1995.
- ✓ CORNISH-BOWDEN, A. *Fundamentals of Enzyme Kinetics*. London: Portland Press, 1995.
- ✓ DIXON, M.; WEBB, E. C. *Enzymes*. London: Longman, 1979.
- ✓ EISENTHAL, R.; DANSON, M. J. *Enzyme Assays. A practical approach*. Oxford: IRL Press, 1992.
- FERSHT, A. *Enzyme Structure and Mechanism*. New York: Freeman, 1999.
- FOSTER, R. L. *The Nature of Enzymology*. Croom Helm, 1982.
- ✓ MARSHAK, D. et al. *Strategies for Protein Purification and Characterization*. New York: CSHL Press, 1996.

- MOSS, D. W.; ROSALKI, S. B. *Enzyme Tests in Diagnosis*. London: Arnold, 1996.
- NUÑEZ DE CASTRO, I. *Enzimología*. Madrid: Pirámide, 2001.
- ↘ SEGEL, I. H. *Enzyme Kinetics*. New York: John Wiley & Sons, 1975.
- SEGEL, I. H. *Cálculos de Bioquímica*. Zaragoza: Acribia, 1982.
- PALMER, T. *Understanding Enzymes*. London: Prentice Hall / Ellis Horwood, 1991.
- PRICE, N. C.; STEVENS, L. *Fundamentals of Enzymology*. Oxford: Oxford Univ. Press, 1993.
- PURICH, D. L. *Contemporary Enzyme Kinetics and Mechanism*. San Diego: Academic Press, 1996.
- TORCHILIN, V. P. *Immobilized Enzymes in Medicine*. Berlin: Springer Verlag, 1991. (Progress in Clinical Biochemistry and Medicine; 11).

## 8. COORDINACIÓ I PROFESSORAT

Coordinadora: Isabel Vázquez Baanante  
 Idioma: castellà

