

0/17



UNIVERSITAT DE BARCELONA



ENZIMOLOGIA



Edifici de Farmàcia, 50 anys

Curs
2007-08

Ensenyament de Farmàcia

**Enzimologia**

- Codi 243140
- Curs 2007-2008
- Departament 5954300 Dept. Bioquímica i Biologia Molecular (Farmàcia)
- Crèdits 6

Recomanacions

Cal haver cursat: Bioquímica, Biologia Molecular i Genòmica.

Objectius**Referits a coneixements**

- Adquirir 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.
- Comprendre 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.

Temari**Programa de classes teòriques****1. Introducció**

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

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.

3. Estructura dels enzims

Enzims: determinació del pes molecular i de la composició d'aminoàcids. Determinació de la seqüència. Estructures secundària, terciària i quaternària. 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.

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 , $V_{m\grave{a}x}$ i K_{cat} / K_m . Tractament de dades: Lineweaver-Burk, Eadie-Hofstee, Hanes i linear plot.

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.

6. Cinètica enzimàtica

Reaccions multisubstrat: mecanismes i nomenclatura. Reaccions bisubstrat: equacions de velocitat i representació gràfica. Mètodes d'estudi dels mecanismes de reacció.

7. Cinètica enzimàtica

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

8. Regulació de l'activitat enzimàtica

Mecanismes de regulació. Concentració d'enzim. Modificació covalent. Control de vies metabòliques. Isoenzims. Enzims multifuncionals i complexos multienzimàtics.

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.

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.

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.

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.

Programa de seminaris

- 1 RNA catalític
- 2 Anticossos catalítics
- 3 Anàlisi del procés de purificació d'un enzim
- 4 Enzims de disseny: aplicacions tecnològiques i per a l'estudi de la catalisi enzimàtica
- 5 Regulació de l'activitat enzimàtica per mecanismes al·lostèrics i per fosforilació-desfosforilació
- 6 Enzims bifuncionals i complexos multienzimàtics
- 7 Control quimioterapèutic de reaccions enzimàtiques
- 8 Aplicació clínica d'enzims: enzims lliures i immobilitzats
- 9 Enzimoimmunoassaig
- 10 Mecanització i automatització de les anàlisis enzimàtiques
- 11 Seminaris de problemes



Programa de classes pràctiques

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

Metodologia

L'ensenyament es farà mitjançant classes teòriques (45 hores presencials). L'alumnat tindrà una participació activa en les classes de seminaris i problemes (6 hores presencials). Per a les classes pràctiques (9 hores presencials) 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.

Avaluació

Els coneixements adquirits per l'alumne s'avaluaran a través de:

- Proves escrites periòdiques presencials que inclouran el programa de teoria i problemes (80 % de la nota).
 - Assistència a pràctiques i realització d'un exercici sobre els coneixements adquirits (10 % de la nota).
- L'assistència a pràctiques és necessària per aprovar l'assignatura.
- Elaboració i presentació d'un treball en les classes de seminaris i realització d'exercicis no presencials (10 % de la nota).

Avaluació única

Es farà una prova escrita presencial on s'avaluarà els coneixements teòrics, de problemes i pràctics corresponents al programa de l'assignatura (90 % de la nota). L'assistència a pràctiques és necessària per aprovar l'assignatura.

A més, l'alumne haurà de presentar, en el dia de l'avaluació única, un treball escrit, d'un màxim de 10 pàgines, corresponent a un dels temes del programa de seminaris proposat pel professor (10 % de la nota).

Data màxima per acollir-se a l'avaluació única: 11 d'octubre.

Distribució horària

Tipus	Hores
<i>Hores de treball dirigit</i>	20
<i>Hores d'aprenentatge autònom</i>	65
<i>Hores presencials</i>	65
Total	150

Fonts d'informació bàsica

Libres

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).

