

Curso de Enzimología 2011

Laboratorio de Enzimología, Facultad de Ciencias

Descripción: Curso dirigido a estudiantes avanzados y de posgrado. Provee de conceptos de cinética enzimática y de mecanismos, así como de herramientas prácticas para el trabajo con enzimas.

Lugar: Facultad de Ciencias.

Coordinadora: Beatriz Alvarez (beatriz.alvarez@fcien.edu.uy).

Fecha: Segundo semestre, del 30 de agosto al 8 de noviembre del 2011.

Teóricos: 2 teóricos semanales de 2 horas cada uno, los días martes y jueves de 10 a 12 horas, en la Facultad de Ciencias, salón 209. Total de horas de teórico: 40 horas.

Prácticos: 1 práctico por semana de 4 horas, los días martes o los días jueves, de 13 a 17 horas, en la Facultad de Ciencias, en el salón 304 o en los Laboratorios de Enzimología y Fisicoquímica Biológica. Total de horas de práctico: 40 horas.

Ganancia del curso: El curso se ganará por asistencia a los prácticos y aprobación de los correspondientes informes. La ganancia del curso habilita a rendir el examen.

Evaluación: Examen.

Inscripciones: En la bedelía de la facultad correspondiente al estudiante.

Cupo: 40 estudiantes.

Docentes: Beatriz Alvarez, Gerardo Ferrer, Leonor Thomson, Bruno Manta, Madia Trujillo, Gustavo Salinas, Luis Acerenza, Eduardo Mizraji, Verónica Demicheli, Lucía Turell y Martín Fló.

Auspicio de PEDECIBA Química y PEDECIBA Biología en trámite.

Temario

Introducción. Historia. Generalidades. Repaso de cinética. Concepto de catálisis. Aspectos cinéticos y termodinámicos. Particularidades de la catálisis enzimática: eficiencia, especificidad de reacción, especificidad de sustrato. Regulación de la actividad. Las enzimas como macromoléculas: aspectos estructurales. Isoenzimas. Sustratos, coenzimas y cofactores. Tipos de reacciones catalizadas por las enzimas. Clasificación de las enzimas. Nomenclatura.

Cinética de estado estacionario. Velocidades iniciales. Efecto de concentraciones de enzima y sustrato sobre la velocidad. Cinética de saturación. Ecuación de Michaelis y Menten. Equilibrio y estado estacionario. Significado de K_M , K_S , k_{cat} y k_{cat}/K_M . Cálculos sobre afinidad enzima-sustrato. Sistemas reversibles. Ejercicios.

Reacciones de dos sustratos. Tipos de reacción y ecuaciones de velocidad correspondientes.

Inhibición. Inhibidores irreversibles. Inhibidores reversibles: tipos, esquemas y ecuaciones. Inhibidores de alta afinidad. Inhibidores suicidas. Gráficos de Dixon. Ejercicios.

Efectos del pH. Óptimos de pH y falsos óptimos. Funciones de pH de Michaelis.

Efectos de la temperatura. Teoría del estado de transición. Energía de activación. ΔH , ΔS y ΔG de activación. Desnaturalización e inactivación térmica de las enzimas.

Cinética preestacionaria. Utilidad del estudio del estado preestacionario. Métodos de flujo y ecuaciones de los transitorios. Métodos de relajación y ecuaciones de sistemas próximos al equilibrio. Reacciones irreversibles y reversibles de pseudo de primer orden, reacciones consecutivas, cinética de estallido. Análisis de un caso.

Mecanismos de las reacciones enzimáticas. Sitio activo. Tipos de catálisis. Efecto Circe. Efectos de proximidad. Aspectos termodinámicos de la catálisis enzimática. Ejemplos detallados.

Regulación de la actividad enzimática. Cinéticas no michaelianas. Alostería y cooperatividad. Sistemas multienzimáticos.

Metaloenzimas.

Ejemplos detallados. Selenoenzimas, peroxidasas, superóxido dismutasas.

Cronograma de teóricos

Semana	Fecha	Clase	Docente
1	Martes 30 de agosto	Conceptos básicos I	Beatriz Alvarez
	Jueves 1º de setiembre	Cinética de estado estacionario I	Beatriz Alvarez
2	Martes 6 de setiembre	Cinética de estado estacionario II	Beatriz Alvarez
	Jueves 8 de setiembre	Bisustráticas	Leonor Thomson
3	Martes 13 de setiembre	Efecto pH	Gerardo Ferrer
	Jueves 15 de setiembre	Efecto temperatura	Gerardo Ferrer
4	Martes 20 de setiembre	Inhibición I	Beatriz Alvarez
	Jueves 22 de setiembre	Inhibición II	Beatriz Alvarez
5	Martes 27 de setiembre	Preestacionaria I	Beatriz Alvarez
	Jueves 29 de setiembre	Preestacionaria II	Beatriz Alvarez
6	Martes 4 de octubre	Mecanismos I	Gerardo Ferrer
	Jueves 6 de octubre	Mecanismos II	Gerardo Ferrer
7	Martes 11 de octubre	Mecanismos III	Gerardo Ferrer
	Jueves 13 de octubre	Alostería y cooperatividad	Eduardo Mizraji
8	Martes 18 de octubre	Regulación	Bruno Manta
	Jueves 20 de octubre	Sistemas multienzimáticos	Luis Acerenza
9	Martes 25 de octubre	Selenoenzimas	Gustavo Salinas
	Jueves 27 de octubre	Metaloenzimas	Gerardo Ferrer
10	Martes 1º de noviembre	Peroxidasas	Madia Trujillo
	Martes 8 de noviembre	Superóxido dismutasa	Verónica Demicheli

Cronograma de prácticos

Semana	Fecha	Clase	Docente
1	Martes 30 de agosto Jueves 1º de setiembre	Ensayos acoplados. Sistema de glucosa oxidasa/peroxidasa. Determinación de parámetros cinéticos.	Beatriz Alvarez Martín Fló
2	Martes 6 de setiembre Jueves 8 de setiembre	Simulaciones en computadora.	Beatriz Alvarez Martín Fló
3	Martes 13 de setiembre Jueves 15 de setiembre	Inhibición por sustrato. Sistema xantina oxidasa/xantina.	Beatriz Alvarez Martín Fló
4	Martes 20 de setiembre Jueves 22 de setiembre	Inhibición irreversible de la xantina oxidasa por cianuro.	Beatriz Alvarez Martín Fló
5	Martes 27 de setiembre Jueves 29 de setiembre	Efecto del pH, constante de acidez del glutatión unido a la glutatión transferasa.	Beatriz Alvarez Lucía Turell
6	Martes 4 de octubre Jueves 6 de octubre	Sistema tripsina/Kunitz. Inhibición lenta y de alta afinidad.	Beatriz Alvarez Martín Fló
7	Martes 11 de octubre Jueves 13 de octubre	Cinética preestacionaria. Actividad esterasa de la albúmina.	Beatriz Alvarez Martín Fló
8	Martes 18 de octubre Jueves 20 de octubre	Enzimas bisustráticas. Tiorredoxina reductasa.	Beatriz Alvarez Martín Fló
9	Martes 25 de octubre Jueves 27 de octubre	Cooperatividad, glucosamina 6-fosfato desaminasa y glucosamina 6-fosfato.	Bruno Manta Beatriz Alvarez
10	Martes 1º de noviembre Martes 8 de noviembre	Análisis de trabajos científicos.	Beatriz Alvarez Madia Trujillo