



**UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA**  
**DIRECCIÓN ACADÉMICA DE POSTGRADO**

Programa de la Asignatura

**I.- IDENTIFICACIÓN DE LA ASIGNATURA**

<b>Nombre de la Asignatura</b>	: Análisis Funcional y Estructural de Enzimas
<b>Código</b>	: PCN112
<b>Programa (Doc. Mg. Esp)</b>	: Doctorado y Magíster en Ciencias de Recursos Naturales
<b>Horas, Módulos</b>	: 4 hrs
<b>Calidad</b>	: Electiva
<b>Tipo de formación</b>	: Especialidad
<b>Carácter (Teor., Práct., T/P)</b>	: Teórico
<b>Régimen</b>	: Semestral
<b>Académicos Responsables</b>	: Ana Mutis Herbert Venthur

**II.- DESCRIPCIÓN DE LA ASIGNATURA**

La asignatura de Fundamentos de Enzimología tiene carácter teórico. En esta asignatura los alumnos aplicarán conocimientos de las áreas de fisicoquímica, química orgánica y bioquímica para describir los mecanismos implicados en la catálisis enzimática y su regulación.

**III.- OBJETIVOS**

Esta asignatura tiene como objetivos que:

- 1.- El estudiante comprenda el concepto de enzima y sus características generales.
- 2.- El estudiante comprenda los aspectos cinéticos y los mecanismos que subyacen la actividad enzimática, así como su capacidad de regulación.
- 3.- El estudiante determine y comprenda la relación entre estructura de enzimas y su función, a través de la modelación comparativa de enzimas, análisis de su dinámica e interacción con sustratos de interés, y análisis de evidencia científica en publicaciones del área.

**IV.- RECURSOS METODOLÓGICOS**

Se efectuarán clases presenciales expositivas con apoyo de recursos audiovisuales para presentar los contenidos a tratar en la asignatura. Además, se realizarán talleres prácticos demostrativos para el análisis estructural y funcional de enzimas, siendo los contenidos profundizados a través de talleres de ejercicios, discusiones colectivas y presentación de seminarios expositivos por parte de los alumnos de trabajos de revistas científicas.

**V.- EVALUACION**

El curso será evaluado mediante tres evaluaciones generales con la siguiente distribución:  
Prueba escrita: 50%

Talleres: 25 %  
Seminarios: 25%

## VI.- CONTENIDOS

**Introducción.** Propiedades generales de las enzimas. Cofactores enzimáticos. Nomenclatura y clasificación de enzimas (clasificación de la C.E).

**Cinética química.** Ecuación de velocidad. Constante de velocidad. Orden de reacción. Mecanismo de reacción. Velocidad inicial.

**Mecanismo de acción y catálisis enzimática.** Factores responsables del poder catalítico de las enzimas. Catálisis intramolecular. Efecto entrópico. Formación del complejo enzima-sustrato; energía de unión. Complementaridad enzima-sustrato y enzima-estado de transición. Catálisis ácido-básica. Catálisis electrostática; catálisis electrofílica por iones metálicos. Catálisis covalente.

**Cinética enzimática.** Ecuación de Michaelis-Menten. Aproximación del equilibrio: modelo de Henri y Michaelis-Menten. Aproximación del estado estacionario: modificación de Briggs y Haldane.

**Parámetros cinéticos y su determinación experimental.** Significado de  $K_m$ ,  $V_{max}$  y  $k_{cat}$ . Linealización de la ecuación de Michaelis-Menten: gráficos de Lineweaver-Burk, Hans-Woolf y Eadie-Hofstee.

**Técnicas de aislamiento y purificación de enzimas.** Métodos cromatográficos generales y específicos. Separación en base a estructura molecular (carga, hidrofobicidad). Separación en base a tamaño molecular. Cromatografía de afinidad e inmuno-afinidad. Criterios de pureza de una preparación enzimática: actividad enzimática específica y electroforesis SDS-PAGE. Representación del avance de la purificación: rendimiento y factor de purificación.

**Modelación molecular en enzimas.** Métodos *in silico* para caracterizar estructuralmente enzimas de interés, análisis de estructuras cristalinas y construcción de modelos por homología (SwissModel y I-Tasser). Dinámica y acoplamiento molecular para estudiar la interacción de enzimas y sus sustratos (AutoDock Vina). Métodos para la presentación de resultados y complemento a datos experimentales (Visualización en PyMOL y edición).

## VII.- BIBLIOGRAFIA

### Básica

-Mathews C.K., Van Holde K.E., Ahern K.G. "Bioquímica". Addison Wesley, 3ª edición en español, (2002)

-Mckee T., Mckee J.R. "Bioquímica: La base molecular de la vida". McGraw-Hill Interamericana, 3ª edición en español, (2003)

-Nelson D.L., Cox M.M. "Lehninger: Principios de Bioquímica". OMEGA, 4ª edición, (2006)

-Stryer L., Berg J.M., Tymoczko J.L. "Bioquímica". Reverté, 6ª ed. en español, (2008)

-Voett D., Voett J., Pratt C. "Fundamentos de Bioquímica: La vida a nivel molecular". Médica

Panamericana, 2ª edición (2007)

-Werner M-E., "Bioquímica" Reverté, (2008)

- Gaw, A., Bioquímica Clínica: Texto ilustrado en color. Ediciones Harcourt, (2001)

### **Complementaria**

- Copeland R. A. Enzymes: "A practical introduction to structure, mechanism and data analysis", 2a. Edición, Wiley-VCH, New York, (2000)

-Copeland R. A. Evaluation of enzymes inhibitors in Drug Discovery: A guide for Medicinal Chemists and Pharmacologists (Methods of Biochemical Analysis). J. Wiley & Sons, New York, (2005)

-Cornish-Bowden, A." Fundamentals of Enzyme Kinetics", 2nd. Edition, Portland Press, Londres, (1995)

-Fersht, A. R. "Structure and Mechanism in Protein Science: A Guide to Enzyme Catalysis and Protein Folding", 3rd Edition, W. H. Freeman Company. New York, NY, (1998)

-Hammed G.G. y Schimmel P.R. "Rapid Reactions and Transient States". En: The Enzymes. Student Edition. Ed, P.D. Boyer, Academic Press, NewYork. (1970)

-Segel, I. H. "Enzyme Kinetics". John Wiley and Sons. New York, (1993)

-Leach, A (2001) Molecular Modelling: Principles and Application. 2<sup>nd</sup> Edition.

### **Recursos**

-ProCheck, para análisis estereoquímico de proteínas.

[http://swissmodel.expasy.org/workspace/?func=tools\\_structureassessment1](http://swissmodel.expasy.org/workspace/?func=tools_structureassessment1)

- SwissModel, para la modelación de proteínas. <https://swissmodel.expasy.org/>

Método de King y Altman para deducir ecuaciones en estado estacionario. Acceso en línea.

<http://www.biokin.com/king-altman/>

- Dynafit: Programa para simular y determinar constantes de velocidad de mecanismos cinéticos (licencia gratuita) <http://www.biokin.com/dynafit/index.html>

- Encora 1.2: Programa para determinar parámetros cinéticos a partir del curso temporal de las reacciones enzimáticas (gratuito). <http://www.tnw.tudelft.nl/live/pagina.jsp?id=ca553f24-64c7-4d5e-a344-ce30830894ab&lang=en>