



FICHA DE COMPONENTE CURRICULAR

CÓDIGO: GBT040	COMPONENTE CURRICULAR: ENZIMOLOGIA	
UNIDADE ACADÊMICA OFERTANTE: INSTITUTO DE GENÉTICA E BIOQUÍMICA		SIGLA: INGEB
CH TOTAL TEÓRICA: 45	CH TOTAL PRÁTICA: 15	CH TOTAL: 60

OBJETIVOS

Conhecer e compreender informação teórica e experimental de enzimologia que inclua termos, conceitos, factores, princípios, leis, teorias, métodos e procedimentos que permitam estudar os enzimas e a sua interação com o meio circundante. Desenvolver o sentido crítico para equacionar novos problemas no domínio da enzimologia que levem à concepção de estratégias experimentais que venham a esclarecer o papel biológico de enzimas e sua eventual aplicação biomédica ou biotecnológica.

EMENTA

Histórico do uso de enzimas. Estrutura e propriedades das enzimas. Conceito de unidade enzimática e atividade específica. Métodos de determinação da atividade enzimática. Cinética enzimática. Aplicação do estudo das enzimas. Determinação espectroscópica de proteínas na região ultravioleta. Efeito do tempo e concentração de enzimas na atividade enzimática. Influência da temperatura na atividade enzimática. Determinação de k_m e V_{max} . Métodos de concentração de proteínas. Determinação da massa molecular de proteínas por filtração em gel. Medidas de atividade enzimática. Efeitos de concentração da enzima e do substrato; curvas de temperatura e pH ótimos. Conceito de velocidade inicial e saturação enzimática. Teoria de cinética enzimática segundo Michaelis-Menten. Inibição enzimática. Significado e cálculo de parâmetros cinéticos. Enzimas alostéricas.

PROGRAMA

1. Introdução à Enzimologia - Aspectos gerais: História da Enzimologia. Catalisadores biológicos. Propriedades únicas das enzimas. Especificidade. Eficiência. Capacidade de regulação. Nomenclatura das enzimas. Importância do estudo das enzimas.
2. Cinética de Enzimas Mono-Substrato - Revisão de conceitos de cinética enzimática. Nomenclatura e convenções. Equilíbrios proteína-ligando. Cinética de saturação. A equação de Henri-Michaelis-Menten.

Modelo de van Slyke & Cullen. Princípio do Estado estacionário. Equação de Briggs-Haldane. Limites da aproximação de estado estacionário. Significado de k_{cat} , K_m e k_{cat}/K_m . Eficiência catalítica e seus limites. Enzimas "perfeitas". Equação reversível de Michaelis-Menten. Mecanismo reversível de 3 passos. Integração da equação de Michaelis-Menten.

3. Aspectos Práticos da Cinética Enzimática - Ensaios enzimáticos. Métodos de detecção. Medidas de velocidade inicial. Fatores que afetam a velocidade inicial. Estabilidade enzimática, Inativação da enzima. Desenho experimental. Tratamento de equilíbrios iônicos.

4. Inibição Enzimática - Inibidores reversíveis e irreversíveis. Inibidores irreversíveis. Inibição linear. Representações gráficas. Inibição pelo substrato. Competição de substratos e especificidade enzimática. Ativação enzimática. Desenho de experiências de inibição. Inibidores com K_i 's muito elevados.

5. Cinética de Enzimas Multi-Substrato - Introdução. Classificação de mecanismos. Métodos isotópicos para identificação de mecanismos de reação. Equações de velocidade. Determinação de velocidades iniciais na ausência de produtos. Inibição pelo substrato. Inibição pelo produto.

6. Efeito do pH e temperatura na atividade enzimática - pH e cinética enzimática. Propriedades ácido base das proteínas. Ionização de um ácido dibásico. Efeito do pH sobre as constantes cinéticas. Outros efeitos do pH. Efeito da temperatura sobre a catálise enzimática.

7. Cooperatividade e alosteria - Alosteria e cooperatividade. Exemplos históricos. Evolução dos modelos de alosteria e cooperatividade. Equação de Hill. Equação de Adair. Gráficos de Scatchard. Modelo de Monod. Modelo de Koshland. Ajuste Induzido. Cooperatividade cinética.

8. Reações rápidas - Limitação das determinações em estado estacionário. Liberação de produto antes da conclusão do ciclo catalítico. Técnicas experimentais. Cinética de estados transientes.

9. Teoria da Catálise Enzimática - Noções gerais de catálise. Catálise ácido-base, intramolecular, eletrostática, covalente e por metais. Reversibilidade microscópica. Teoria do estado de transição. Complementaridade enzima-substrato e catálise enzimática. Complementaridade com estado de transição. Tensão, ajuste induzido e ligação não-produtiva do substrato. Estado actual dos modelos de catálise enzimática. Dinâmica estrutural e catálise enzimática.

10. Estrutura e Mecanismo - Noções gerais de estrutura de enzimas. Métodos estruturais para a determinação de mecanismos enzimáticos. Mecanismos enzimáticos selecionados. Lisozima. Proteases. Desidrogenases. Ribonucleases.

BIBLIOGRAFIA BÁSICA

Copeland, R.A., Enzymes, 2ed Ed., Wiley-VCH, 2000

Cornish-Bowden, A., Fundamentals of Enzyme Kinetics (Revised Edition), Portland Press, 1995

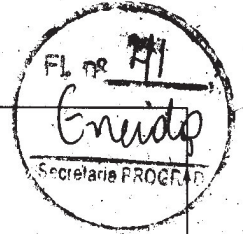
Price, N.C., Steven, L., Fundamentals of Enzymology: The Cell and Molecular Biology of Catalytic Proteins, 3rd Ed., Oxford University Press, 1999

Leskovac, V., Comprehensive Enzyme Kinetics, Kluwer, 2004

Marangoni, A.G., Enzyme Kinetics: A Modern Approach, Wiley-Interscience, 2003

Fersht, A.R., Structure and Mechanism in Protein Science, W.H. Freeman and Co., 1999

Voet, D. & Voet, J., Biochemistry, 2nd Ed., John Wiley and Sons Inc., 1995



APROVAÇÃO

29/12/12

Carimbo e assinatura do Coordenador do Curso
Universidade Federal de Uberlândia
Prof. Dr. Alberto da Silva Moraes
Coordenador do Curso de Biomedicina
Portaria R.N.º 1124/2012

19/12/2012

Carimbo e assinatura de Diretora da
Universidade Federal de Uberlândia
Diretora do Instituto de Genética e Bioquímica
Unidade Acadêmica
Portaria R.N.º 789/08
(que oferecé o componente curricular)