

TEMA 2

AMINOÁCIDOS Y PROTEÍNAS

Antes de realizar la guía deberá revisar:

1. Concepto de pH y poder amortiguador de una solución.
2. Características químicas de los aminoácidos.

Evaluación:

1. Formule la L-serina (ser) y L-cisteína (cis) e indique:
 - a. Carbono α .
 - b. Grupo carboxilo.
 - c. Grupo amino.
 - d. Radical $-R$.
2. a. Defina pH.
b. ¿Cuál es la característica de una solución buffer o tampón? En el curso de Físico-Química tratará estos temas extensamente, ahora es suficiente que maneje estos conceptos en general.

GUIA DE CLASE

1. Los aminoácidos pueden clasificarse según distintos criterios.
 - a. Busque las fórmulas de la serina, valina, leucina, aspártico y arginina y analícelas a efectos de clasificar esos aminoácidos por la polaridad del $-R$.

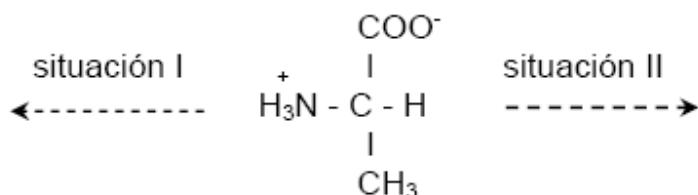
El primer aminoácido descubierto fue la asparagina (1806) y el último de los 20 la treonina (1938). Para la denominación de los mismos, es común el uso de nombres que derivan de donde fueron aislados, por ejemplo: asparagina (espárrago), ácido glutámico (gluten de trigo), tirosina (griego *tyros* : queso), etc.

2. En solución, a pH próximo a la neutralidad, el grupo carboxilo de los aminoácidos se desprotoniza y el grupo amino capta el protón. Como consecuencia de esto se forma un dipolo. A partir de la forma no disociada formule el dipolo del aminoácido que se representa:



3. a. Al aminoácido representado abajo se le agrega en la situación I y II un ácido y una base respectivamente. Indique en qué forma iónica quedará el aminoácido quedará el aminoácido en cada situación.

b. ¿Cómo se llama el valor de pH en el cuál el 100% de un aminoácido se encuentra bajo forma dipolar?



4. Si un compuesto con carga (ión) se somete a la acción de un campo eléctrico, se desplazará hacia el polo de signo contrario a su carga. En este principio, se basa una técnica: la electroforesis.

a. Indique hacia dónde migrará el aminoácido en las situaciones planteadas en la pregunta 3. a.

5. Observe una curva de titulación de un aminoácido neutro e indique las regiones de pH en las que exhibe mayor poder amortiguador.

6. Plantee una relación posible dipolo/ión positivo para un aminoácido neutro que se encuentre a un pH superior a su pK1 (o pKa) e inferior al PI.

La mayoría de los aminoácidos no forman parte de las estructuras polipeptídicas o proteicas. Estos aminoácidos no proteicos en las plantas pueden actuar como intermediarios de la síntesis de aminoácidos proteicos o como productos finales del metabolismo celular. Muchos aminoácidos no proteicos se encuentran en las semillas y generalmente son tóxicos para los animales.

También algunos aminoácidos proteicos tienen otras funciones además de formar proteínas. Por ejemplo el triptófano es precursor del ácido indol acético (AIA), regulador de crecimiento en vegetales, y la tirosina es precursor de la hormona tiroidea.

7. El punto isoeléctrico de la valina es 5.97. ¿A qué polo migrará ese aminoácido en una electroforesis que se realiza a pH 7.0?

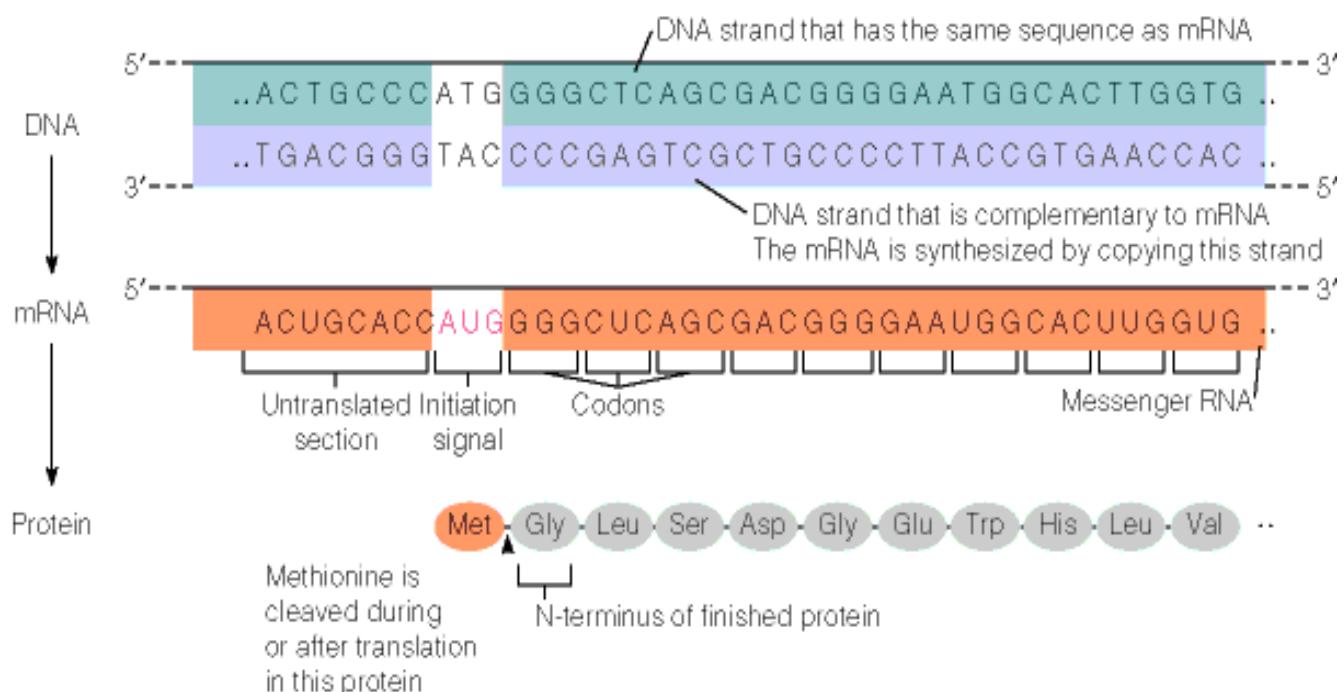
PEPTIDOS Y PROTEINAS

Antes de realizar la guía deberá revisar:

1. Enlace peptídico.
2. Funciones biológicas de péptidos y proteínas.

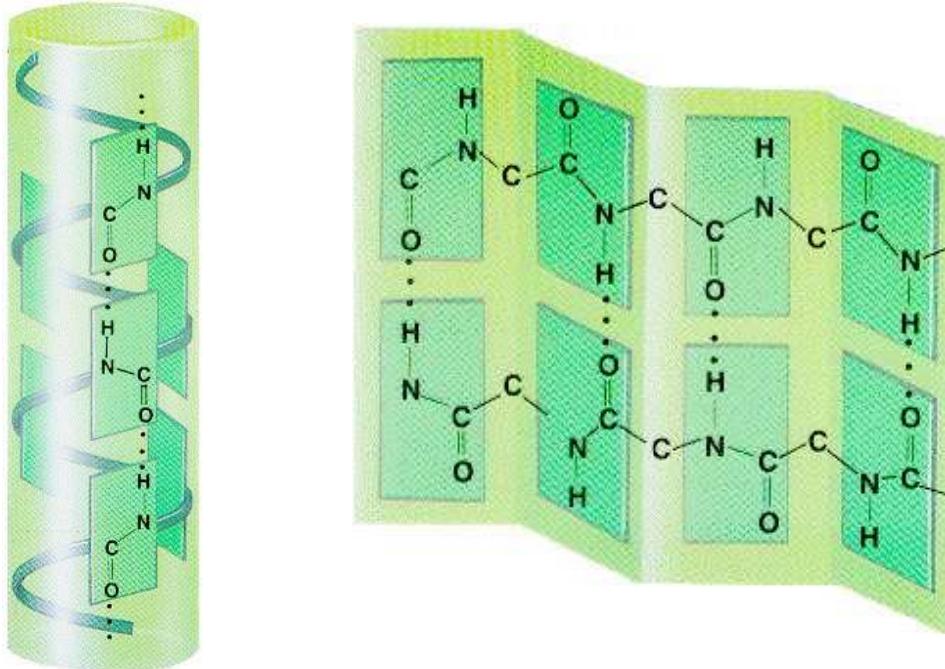
Evaluación:

1. Formule un dipéptido a partir de los aminoácidos serina (ser) y alanina (ala) e indique:
 - a. Enlace peptídico.
 - b. Extremo amino.
 - c. Extremo carboxilo.
 - d. Radicales (-R).
2. El enlace peptídico tiene propiedades similares a un doble enlace, impide la libre rotación en torno a él, por tanto los cuatro átomos del grupo peptídico se encuentran en el mismo plano, identifíquelo.
3. a. Defina estructura primaria.
b. En el esquema se representa, en forma simplificada, el mecanismo de síntesis de proteínas, que se verá más adelante y se profundizará en sus distintas etapas. A partir del mismo: resuma la relación entre la secuencia de bases del ADN y la secuencia de aminoácidos de un péptido.

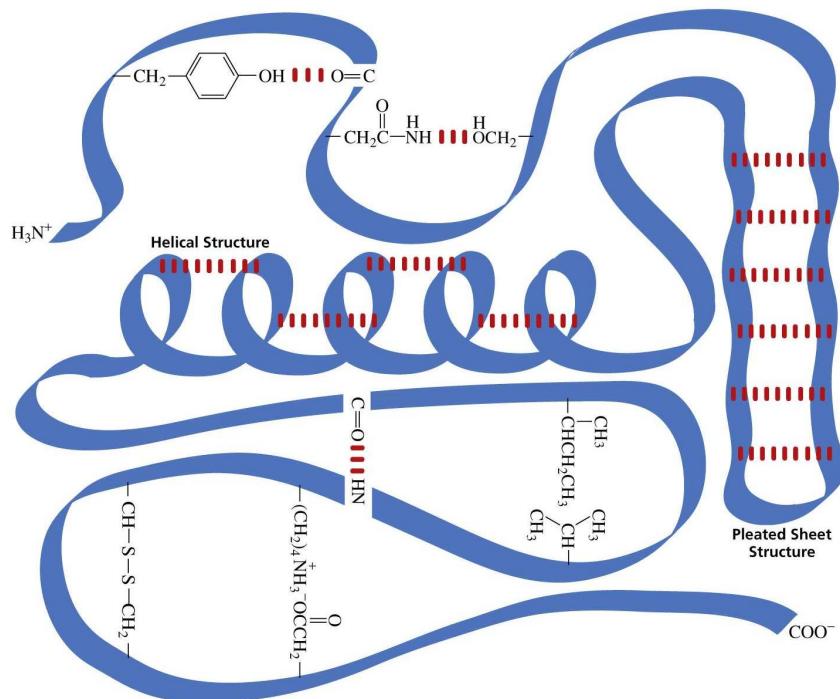


4. a. A partir del esquema que representa a una proteína con estructura secundaria en alfa hélice y hoja plegada, caracterice esta estructura en cuanto a fuerzas estabilizadoras y observe entre qué átomos se establecen.

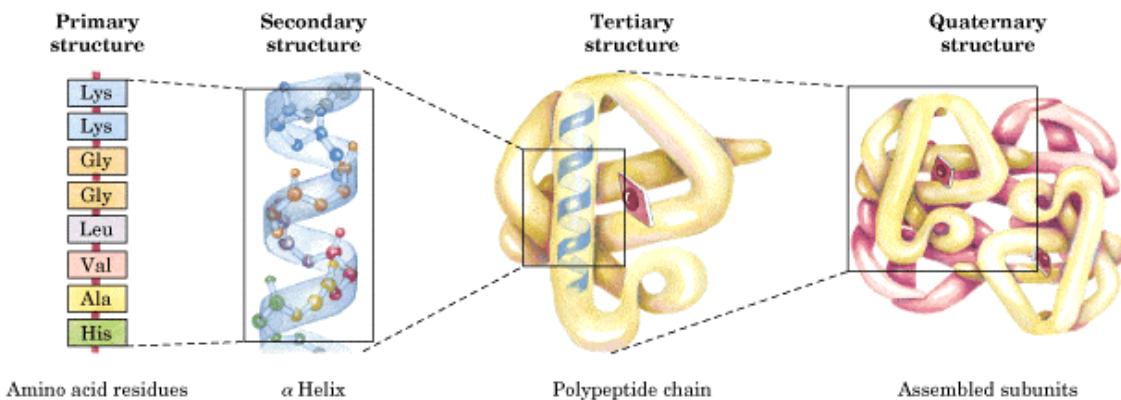
b. De ejemplos de proteínas con estructura secundaria y atienda su función biológica.



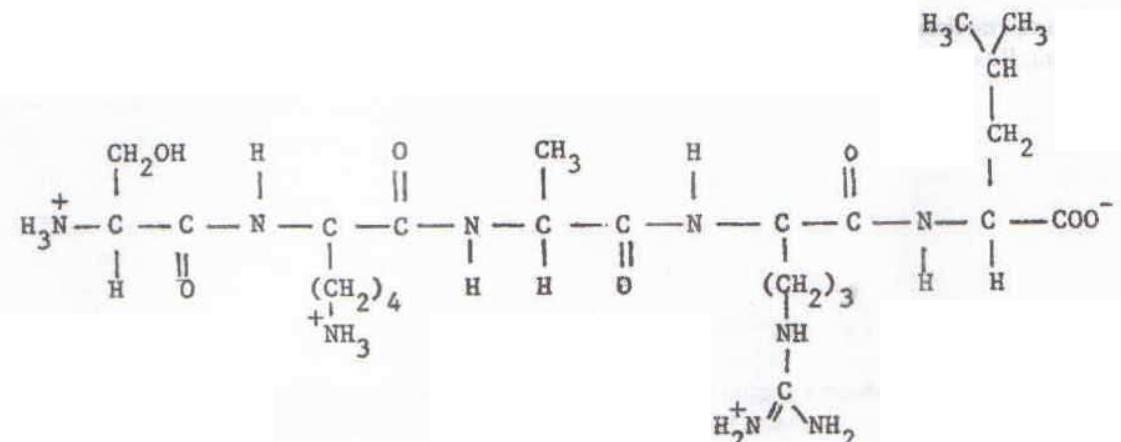
5. La mayoría de las proteínas celulares son globulares. Caracterice la estructura terciaria o globular a partir del esquema que se presenta abajo. Observe que esta estructura incluye tramos con estructura secundaria y además presenta otras interacciones entre las cadenas laterales de diferentes aminoácidos dentro de la misma molécula. Reconozca las interacciones representadas en el esquema.



6. a. Describa el esquema que aparece a continuación.
 b. Caracterice la estructura cuaternaria, considere las fuerzas estabilizadoras.

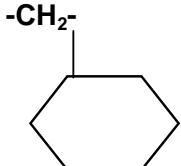


7. La tripsina es una enzima proteolítica que hidroliza los enlaces peptídicos *en los que el grupo carboxilo lo aporta la lisina o la arginina*. Indique en el polipéptido formulado a continuación:
- Con un círculo, el grupo amino terminal y el grupo carboxilo terminal.
 - Con un recuadro, los enlaces peptídicos.
 - Con una flecha los enlaces peptídicos hidrolizados cuando el péptido es tratado con tripsina.
 - ¿Cuántos aminoácidos forman el polipéptido?



8. Los ácidos, bases, metales pesados, solventes, entre otros, son agentes desnaturalizantes.
- Explique para dos de ellos qué fuerzas estabilizadoras de la proteína se ven afectadas.
 - ¿Qué diferencia hay entre hidrólisis y desnaturalización?

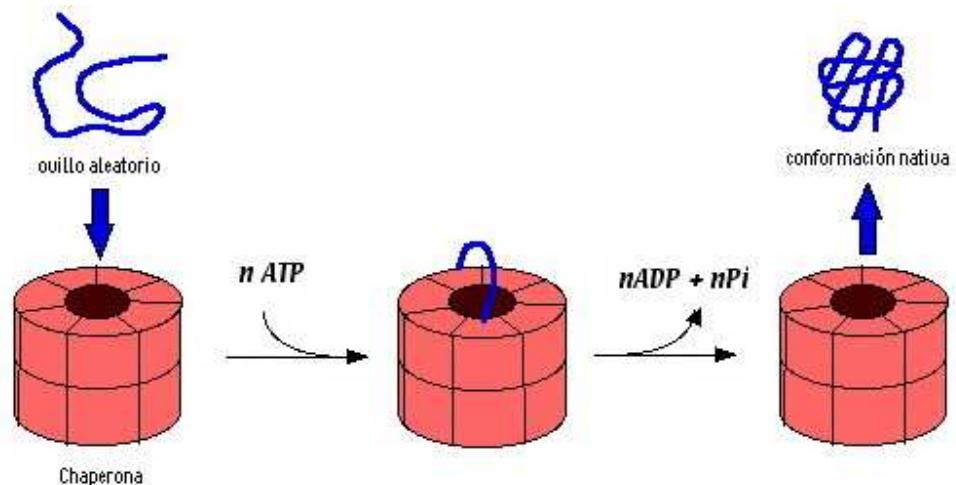
9. **Proponga un esquema para una proteína que tenga una región estabilizada por interacciones hidrofóbicas, otra por interacciones iónicas y una tercera por puentes de hidrógeno. Use los -R que aparecen a continuación.**



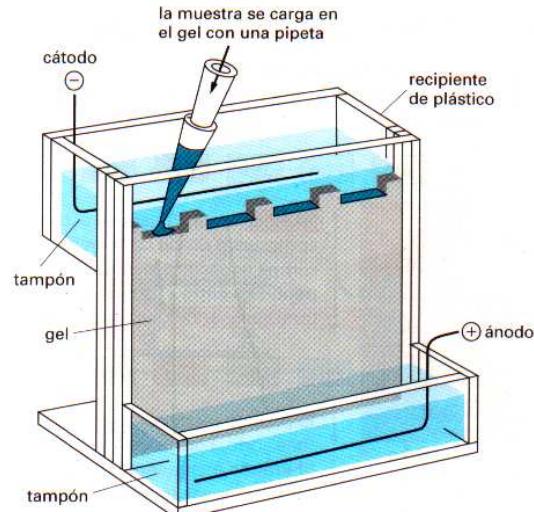
10. Plegamiento de proteínas

Aunque toda la información que precisa una proteína para plegarse reside en su propia secuencia, el interior de la célula está tan repleto de proteínas que aparecen problemas de agregación, pues los intermediarios del plegamiento pueden tener expuestas regiones hidrófobas que son "pegajosas". Para evitar estos problemas o los que surgen como consecuencia de un estrés térmico (intermediarios parcialmente desnaturalizados con el mismo problema de tendencia a agregar) la célula expresa proteínas auxiliares (chaperonas) que secuestran temporalmente las conformaciones no plegadas, o desnaturalizan las mal plegadas y les dan otra oportunidad de plegarse correctamente (chaperoninas).

Analice el esquema en relación a lo anteriormente citado.

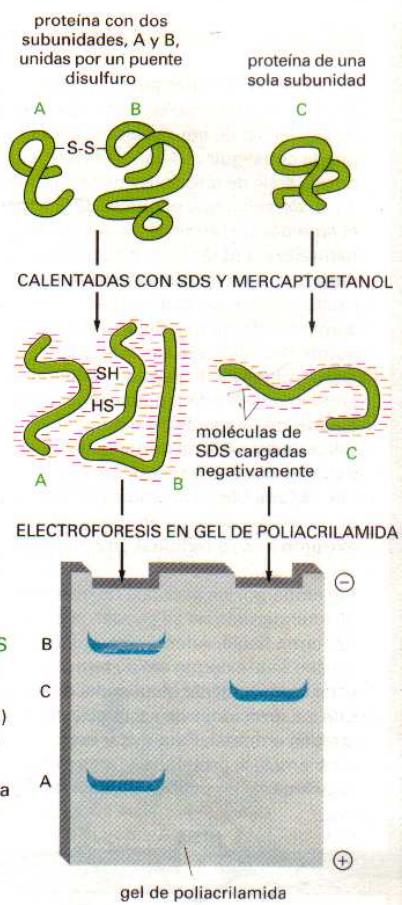
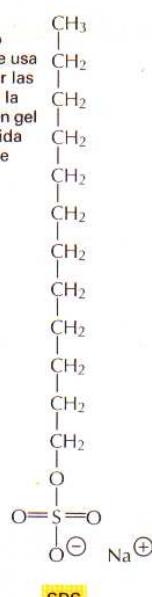


ELECTROFORESIS EN GEL



Cuando se aplica un campo eléctrico a una solución que contiene moléculas proteicas, éstas migrarán en una dirección y a una velocidad en función de su tamaño y de su carga neta. Ésta es la base de la **electroforesis**.

el detergente dodecil sulfato sódico (SDS) se usa para solubilizar las proteínas para la electroforesis en gel de poliacrilamida con SDS (véase abajo)



Electroforesis en gel de poliacrilamida con SDS (SDS-PAGE). Cada cadena polipeptídica forma un complejo con las moléculas cargadas negativamente del dodecil sulfato sódico (SDS) y migra como complejo proteína-SDS cargado negativamente, a través de un gel poroso de poliacrilamida. El aparato empleado se muestra arriba (izquierda). Se suele añadir un agente reductor (mercaptoetanol) para romper las uniones S-S dentro de una proteína o entre proteínas. Así, las proteínas migran a una velocidad que refleja su peso molecular.

11. a. ¿Qué entiende por recambio de proteínas?

b. La hidrólisis de proteínas puede ocurrir en lisosomas o en el citoplasma.

Las proteínas que se hidrolizan en el citoplasma están "marcadas". ¿Por qué es necesario un control estricto de la hidrólisis proteica citoplasmática?

PRIONES COMO AGENTES DE ENFERMEDAD

(extraído de Medicina Interna. Farreras – Rozman, 14^a edición, 2000)

Existe un grupo de enfermedades degenerativas del sistema nervioso central (SNC) humano y de algunos animales que tienen carácter transmisible y se manifiestan por diversas formas clínicas, aunque la mayoría tienen un período de incubación muy prolongado.

En el ser humano las enfermedades más paradigmáticas de este grupo son el kuru (que significa "temblor" en el idioma de un grupo tribal caníbal de Papua Nueva Guinea) y la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, y en los animales la encefalopatía espongiforme bovina (enfermedad de las vacas locas) y el *scrapie* (en ovejas).

Estas enfermedades no están causadas por ningún agente patógeno convencional, sino que están producidas por una proteína transmisible que se multiplica en el hospedero, denominada "prión". Un prón se define como un agente patógeno infeccioso de estructura proteica, resistente a los procedimientos que modifican o hidrolizan los ácidos nucleicos. El término lo introdujo Prusiner en 1982 con el propósito de destacar que se trata de agentes (*proteinaceous infectious particles*) distintos de virus y viroides.

Las células humanas y de otros animales producen en condiciones fisiológicas una proteína normal de elevada homología en todas las especies estudiadas. Esta proteína se ha denominado *PrP* (proteína del prón). Se desconoce su función fisiológica, pero es más abundante en las células del SNC que en otros tejidos.

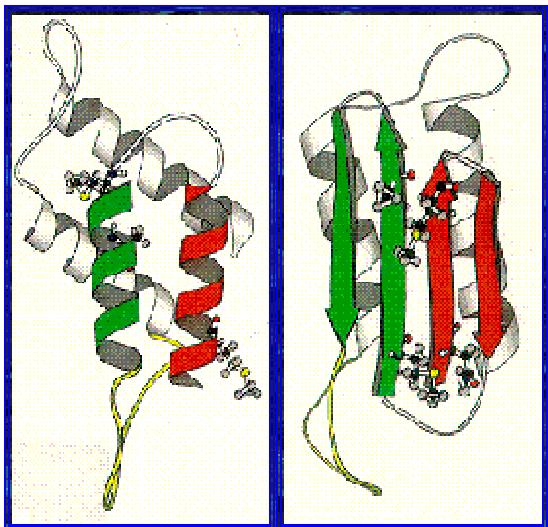
En las preparaciones del tejido cerebral de los animales con *scrapie* se detectó una proteína con características fisicoquímicas diferentes de las proteínas convencionales, ya que era resistente a las proteasas y otras sustancias con actividad proteolítica y capaz de formar agregados y depósitos fibrilares. Presentaba la misma secuencia de aminoácidos que la *PrP* normal, pero había sufrido un cambio conformacional (de plegamiento) y se la denominó *PrP sc* (sc por *scrapie*). En el resto de las enfermedades degenerativas transmisibles se han hallado proteínas con las mismas características: priones.

El mecanismo de producción de la *PrP sc* y el modo preciso de ejercer su acción patógena se desconocen, aunque se sabe que, a diferencia de la forma normal, se acumula en el interior de las células y en el exterior se precipita como amiloide o fibrillas. Una vez que se ha producido el cambio en una o unas pocas moléculas de *PrP* normal, la forma modificada *PrP sc* actuaría sobre las moléculas proteicas normales de la célula y catalizaría su transformación a la forma alterada. La propagación actuaría a través de un efecto dominó, por el cual una molécula infecciosa ataca a una normal, la convierte en anormal y ésta ataca a otra normal, y así sucesivamente.

Los priones se transmiten horizontalmente en la naturaleza mediante la ingestión de carne o vísceras, particularmente sesos, y también por otros mecanismos desconocidos. La epizootia descrita por primera vez el año 1986 en el Reino Unido se habría transmitido a los bovinos a través de piensos elaborados con harinas de carne y huesos de ovinos que padecían *scrapie*.

Los priones transmitidos alcanzarían el SNC a través de los axones neuronales y catalizarían la transformación de la *PrP* normal.

Se sabe que los priones son resistentes al calor, a la desecación y a las radiaciones ionizantes y ultravioletas, así como también a diversos agentes químicos como alcohol, acetona, éter, peróxido de hidrógeno, etc., siendo los tratamientos que se recomiendan para el material contaminado el hidróxido de sodio 1N durante una hora o el autoclave a 134-138° C durante 2 h o, mejor aún, la combinación de ambos.



Proteína PrP

PrP sc (infecciosa)

Centre la discusión en:

- Cambios conformatacionales de la proteína infecciosa respecto a la normal.
- ¿Los cambios conformatacionales podrían explicar la diferencia de solubilidad y resistencia parcial a las proteasas de Pr sc? Generalice como la estructura afecta a la función.