

Bioquímica I: Macromoléculas

I. Fraccionando la vida:

Los bioquímicos dividen los organismos en sus componentes y analizan éstos últimos por separado.

1) ¿Cuál es la composición atómica de las células/organismos vivientes?

H: 60%
O: 25%
C: 12%
N: ~5%

P, S, Mg, Mn, Se También están presentes en menores cantidades. A determinados niveles de estudio, y especialmente a nivel celular, la mayoría de los organismos parecen iguales.

2) ¿Cuál es la composición molecular de las células?

Principalmente agua: ~80%

Del peso restante:

Lípidos, grasas: 10%
Carbohidratos: 15%
Proteínas: 50%
Ácidos nucleicos: 15%

****Las proteínas** son macromoléculas esenciales (desempeñan muchas funciones estructurales y funcionales en las células)**

Ácidos nucleicos (ADN, ARN; el ADN almacena la información hereditaria en la célula).

A un cierto nivel, las fuerzas químicas determinan la forma de las moléculas y la forma, a su vez, determina su función.

¿Cuáles son las fuerzas que otorgan a estas moléculas sus respectivas propiedades?

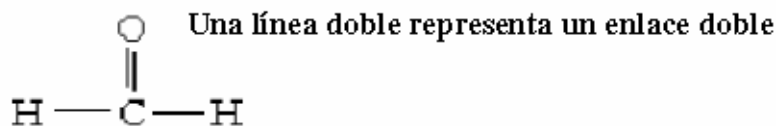
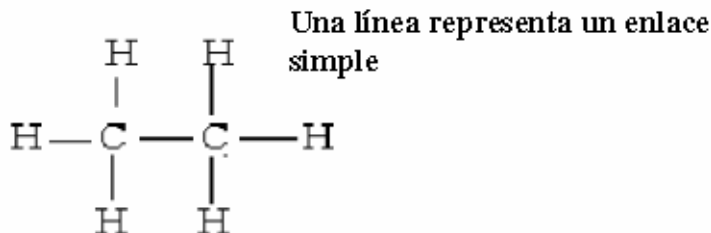
II. Fuerzas covalentes

Los enlaces y las interacciones químicas mantienen las moléculas unidas entre sí:

1) Enlaces covalentes

- es el tipo de enlace más importante.
- también el más fuerte; fuerza ~ 80 kcal/mol

Un enlace covalente consiste en la compartición de un par de electrones:



La energía térmica (vibratoria) media a temperatura ambiente es de ~5 kcal/mol. Dado que se requieren ~ 80 kcal/mol para romper un enlace covalente, se puede afirmar que los dicho enlaces son relativamente estables a temperatura ambiente.

Tipos de enlaces covalentes:

Fuerza:

Individual: C-C (un par de electrones)	80 kcal/mol
Doble: C=C (dos pares de electrones)	150 kcal/mol
Triple: C≡C (tres pares de electrones)	200 kcal/mol

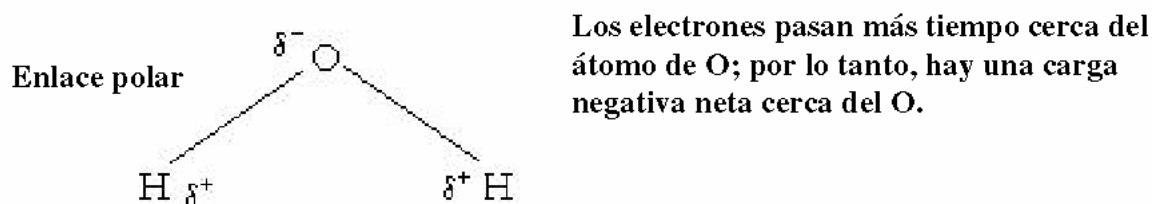
Hay libre rotación en torno al enlace covalente individual, pero no en los enlaces dobles ni en los triples.

Los enlaces covalentes también tienen un ángulo fijo.

Algunos enlaces covalentes implican la compartición desigual de electrones.

Algunos átomos se unen con más fuerza a los electrones que otros. La atracción de electrones es una medida de la electronegatividad de un átomo.

Observe los siguientes enlaces con compartición desigual de electrones:



Los enlaces polares tienen momentos dipolares: tienen polaridad.

El oxígeno es un átomo más electronegativo que el hidrógeno, y por lo tanto, el enlace O-H se considera un enlace polar.

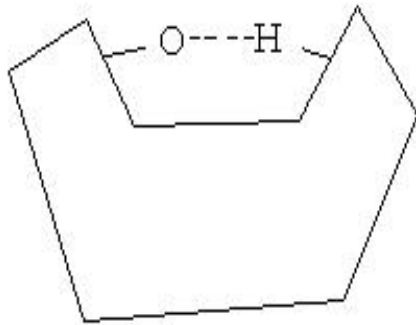
El carbono y el hidrógeno tienen electronegatividades semejantes, de ahí que el enlace C-H se considere apolar.

2) Puentes de hidrógeno

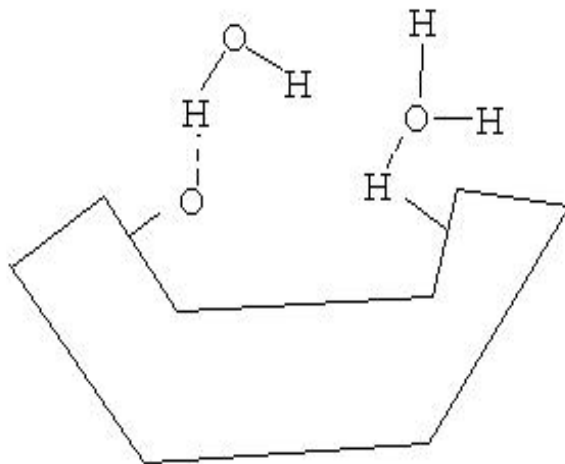
- Atracción entre una carga ligeramente positiva de un átomo de hidrógeno y una carga ligeramente negativa de un átomo cercano.
- Fuerza del enlace ~ 5 kcal/mol (relativamente débil).
- Su variante más fuerte: cuando el donante, el hidrógeno y el receptor están a unos 0,25 nm de distancia.
- Los puentes de hidrógeno dan orden y estructura a las moléculas
- Un único puente de hidrógeno es débil, sin embargo, la mayoría de las moléculas están formadas por muchos puentes de hidrógeno, y eso se traduce en la fuerza global de la molécula.

Las propiedades del agua están determinadas por interacciones entre los puentes de hidrógeno. El agua está altamente estructurada incluso en estado líquido. La formación de hielo se debe a la distribución ordenada de los puentes de hidrógeno.

Los puentes de hidrógeno entre diferentes regiones de una proteína:



En un entorno acuoso, estas regiones formarán puentes de hidrógeno con moléculas de agua. Estas moléculas adoptan una conformación más favorable cuando interactúan con agua.

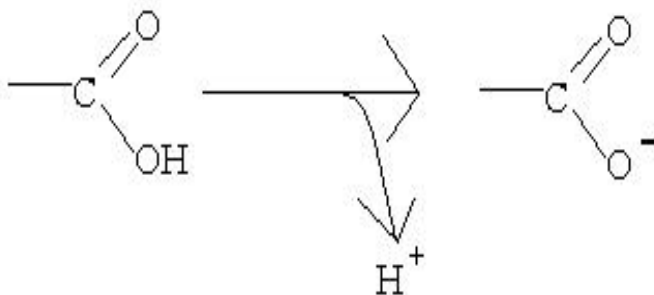


3) Enlaces iónicos

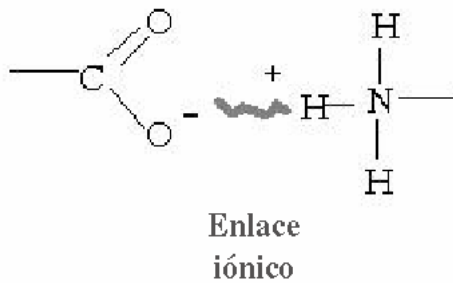
- Interacción electrostática entre dos grupos con carga opuesta en una misma molécula.
- Causa limitante de compartición desigual de electrones; un átomo se queda con el electrón.

$\text{NaCl} \rightarrow \text{Na}^+ + \text{Cl}^-$ compartición desigual de electrones, el Cl se queda con los dos electrones.

En disolución, este grupo se ioniza, pierde un protón y adquiere carga negativa:



Los átomos con carga pueden ser atraídos por átomos con carga opuesta:



Los átomos con carga son regidos por una fuerza denominada Ley de Coulomb:

$$F = q_1 q_2 / (R) (R)$$

La fuerza de atracción es inversamente proporcional a las cargas (q) de los dos grupos y a la distancia (R) entre ellos

-La fuerza del enlace iónico es de aprox. 3-7 kcal/mol. Es más fuerte cuando los dos átomos están a unos 0,28 nm de distancia.

4) Fuerzas de Van der Waals

- Son fuerzas de atracción, no específica, que tiene lugar cuando 2 átomos están muy cerca entre sí.
- Son más favorables cuando los átomos están a 0,2-0,3 nm de distancia.
- Polaridad transitoria inducida entre átomos: un enlace apolar conlleva la atracción con átomos cercanos.
- Interacción muy débil: la fuerza es ~1 kcal/mol. Sin embargo, la suma de muchas interacciones de Van der Waals confieren más fuerza y estabilidad a la molécula.

Ejemplo: La interacción de un ligando con su receptor se consigue mediante muchas interacciones no covalentes, como las interacciones de Van der Waals.

5) Interacciones hidrofóbicas/ Entropía

En conjunto, una molécula mantiene su cohesión gracias a muchas interacciones. Una molécula tiene una forma particular porque adopta el estado que requiere la menor cantidad de energía posible (minimizar la entropía).

A la hora de adoptar esta forma, las conformaciones alternativas se seleccionan, y los grupos que no pueden formar puentes de hidrógeno con agua (los hidrofóbicos) tienden a agruparse en el interior de la molécula (alejados del agua).

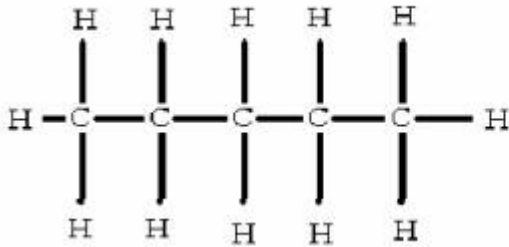
Las moléculas sin carga, apolares, hidrofóbicas: (“que rechazan el agua”), no interaccionan con el agua. Las hidrofilicas (“que aman el agua”): moléculas polares o con carga. Forman puentes de hidrógeno con agua.

La forma que adoptan las macromoléculas biológicas depende de un gran número de interacciones moleculares.

III. Las macromoléculas principales

A. Lípidos y fosfolípidos

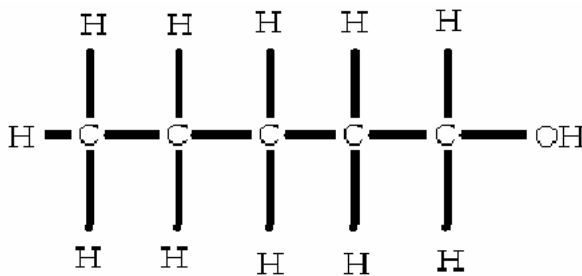
Estructura de un hidrato de carbono: $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$



Hidrocarbano

- Enlaces apolares
- Hidrofóbico
- Insoluble en agua (no puede formar puentes de hidrógeno en agua)

Si se le añade un grupo hidroxilo (OH) a un hidrato de carbono se obtiene un alcohol:

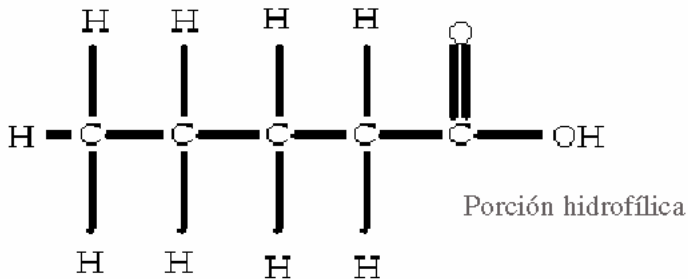
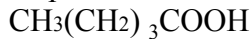


Alcohol

- hidrofilico
- soluble en agua (puede formar puentes de hidrógeno con el agua)

Las cadenas cortas de alcoholes son solubles en agua.

Se puede hacer un ácido graso añadiéndole un grupo carboxilo (COOH) a un hidrocarbano:



Ácido graso

- Hidrofilico
- Algo soluble en agua (puede formar puentes de hidrógeno con el agua)

Porción hidrofílica

Porción hidrofóbica

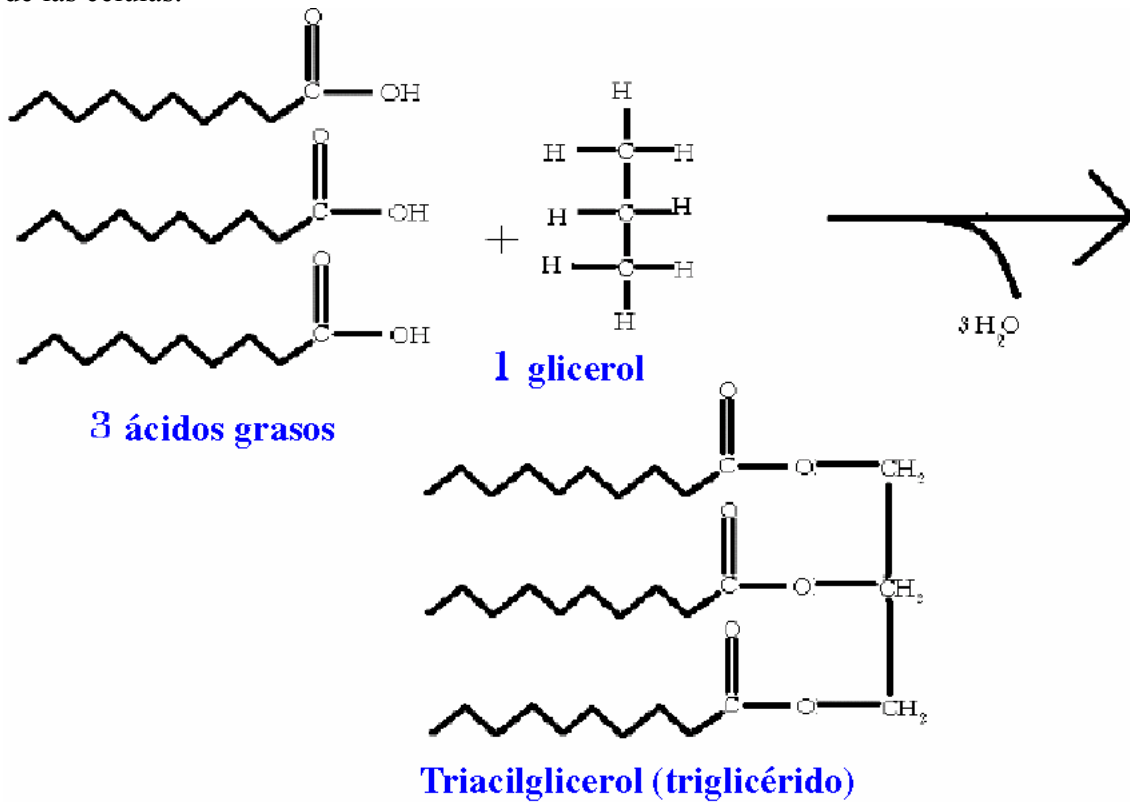
Un ácido graso es una molécula anfipática: contiene tanto porciones hidrofóbicas como hidrofílicas.

El ácido graso también puede representarse del siguiente modo:



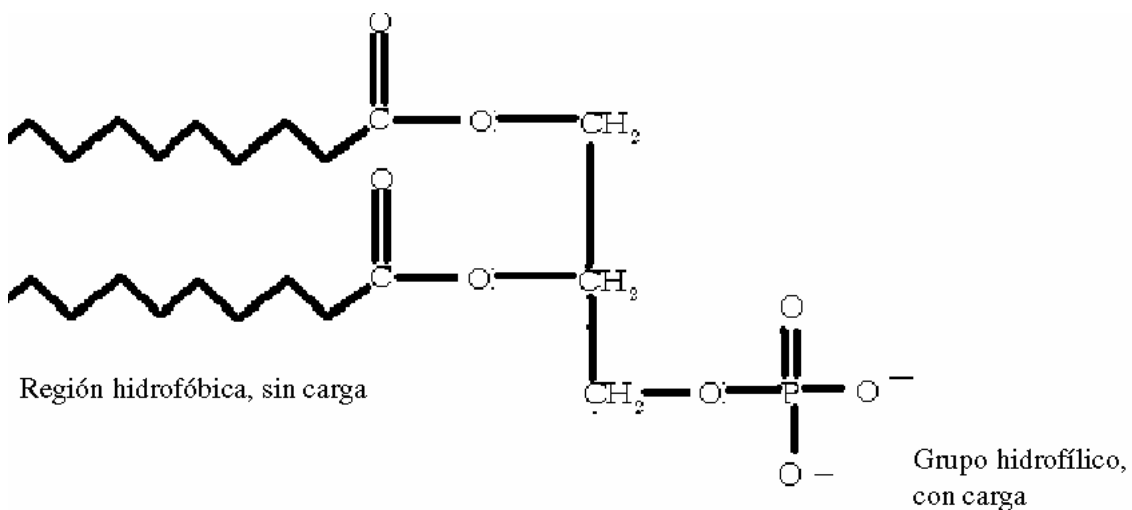
Cola de hidratos de carbono

Tres ácidos grasos y una molécula de glicerol se pueden combinar en una síntesis de deshidratación (*dehydration synthesis*) para formar un lípido (un triglicérido). Los triglicéridos son importantes formas de almacenamiento de ácidos grasos en el interior de las células.

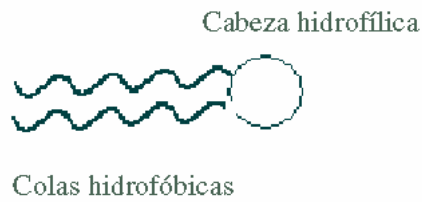


Fosfolípidos:

Los fosfolípidos son un subgrupo de lípidos que desempeña un papel clave en la estructura celular. Los fosfolípidos se forman mediante la combinación de dos ácidos grasos y un grupo fosfato.



Los fosfolípidos también se puede representar del siguiente modo:



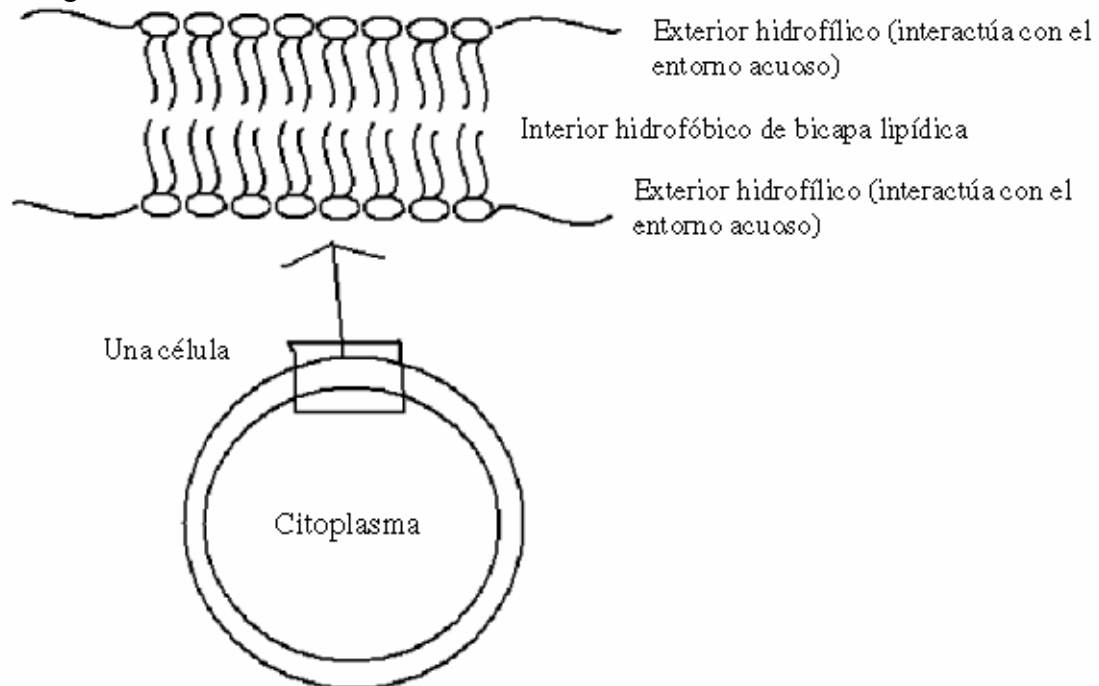
En disolución, los fosfolípidos se agrupan formando micelos.

Un micelo:



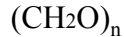
Los fosfolípidos forman bicapas lipídicas en entornos acuosos. Una célula típica está delimitada por una membrana plasmática, constituida por una bicapa fosfolipídica (2 capas de moléculas fosfolipídicas que juntas forman una bicapa lipídica).

El interior hidrofóbico de la membrana plasmática es impermeable a las moléculas polares o con carga.

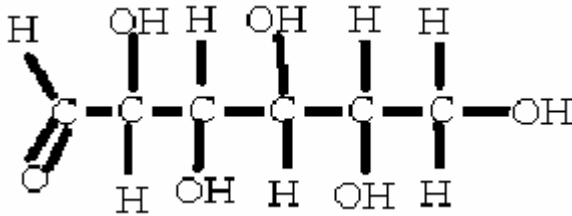


B. Azúcares, hidratos de carbono

1) Composición general de los azúcares:



e.g. Glucosa $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$



En todos los azúcares, el carbono n-1 tiene un grupo hidroxilo (OH) y el carbono C- tiene un grupo carbonilo (C=O). La ubicación del grupo carbonilo y la orientación de los grupos hidroxilo determinan el tipo de azúcar.

Si el grupo carbonilo está al final (un grupo aldehído), estamos ante una aldosa (ej.: glucosa).

Si el grupo carbonilo está en el medio (un grupo cetona), entonces estamos ante una cetosa (ej.: fructosa).

Los glúcidos de seis carbonos se denominan hexosas (ej.: glucosa).

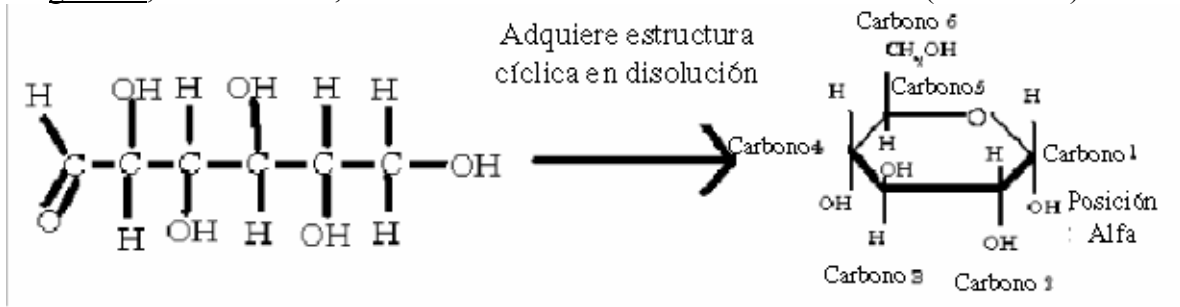
Los glúcidos de cinco carbonos se denominan pentosas (ej.: ribosa).

Los glúcidos de tres carbonos se denominan triosas (ej.: gliceraldehído).

2) La estructura de los azúcares

a) Monosacáridos

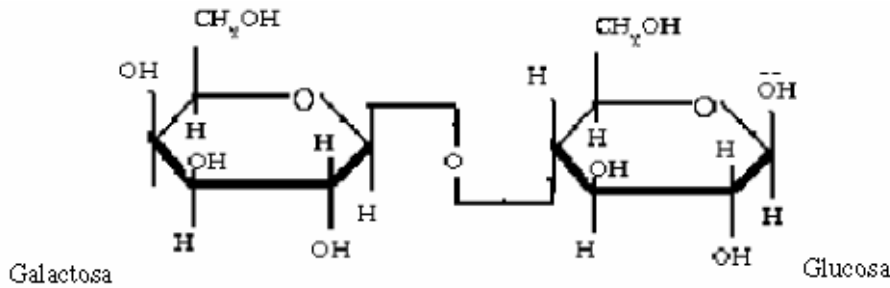
La glucosa, en disolución, se encuentra más a menudo en forma cíclica (o de anillo):



El grupo OH en el carbono C-1 puede estar en las posiciones alfa (debajo del plano del anillo) o beta (encima del plano del anillo).

b) Disacáridos

Los disacáridos consisten en dos monosacáridos unidos mediante un enlace covalente.



Lactosa (forma)
(Galactosa (1→4) Glucosa)

La enzima lactasa rompe la lactosa en moléculas de glucosa y galactosa. Muchos adultos dejan de sintetizar la enzima lactasa. Como consecuencia, un gran porcentaje de personas de determinadas poblaciones se hace intolerante a la lactosa.

c) Polisacáridos

Los polisacáridos están constituidos por muchas unidades monosacáridas unidas (habitualmente monómeros de glucosa) formando largas cadenas.

Ej.: almidón, glucógeno, celulosa.

Los polisacáridos se utilizan como forma de almacenamiento y también desempeñan papeles estructurales.

El almidón es un polímero de n glucosas unidas por enlaces β 1 4.

La celulosa desempeña un papel estructural importante en las plantas; es una de las moléculas más abundantes de la tierra. La celulosa es un polímero de glucosa con enlaces β 1 4 sin ramificaciones.

Las unidades alternantes de glucosa permiten a las moléculas adyacentes de celulosa formar puentes de hidrógeno entre sí. La capacidad que tiene la celulosa de formar puentes de hidrógeno conduce a la fortaleza de las paredes celulares, y crea fibras como la madera.

Bioquímica II: Proteínas

Proteínas

- Tienen muchas funciones en la célula
- Papeles estructurales y funcionales
- Se fabrican 10^5 tipos de proteínas diferentes en las células eucariotas.

Las proteínas son polímeros formados a base de “ladrillos” denominados aminoácidos. 20 aminoácidos diferentes pueden formar 20^n combinaciones de proteínas, de longitud n .

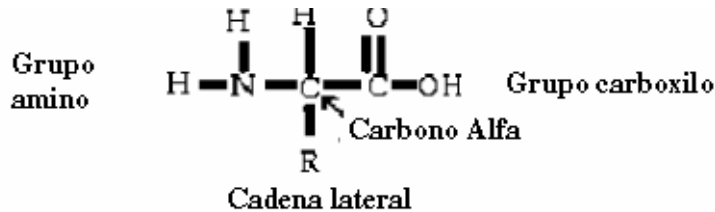
Ácidos nucleicos

- Almacenan y transfieren material genético.

- 4 unidades constituyentes o “ladrillos” (denominados nucleótidos) diferentes pueden fabricar 4^n combinaciones de ácidos nucleicos, de longitud n.

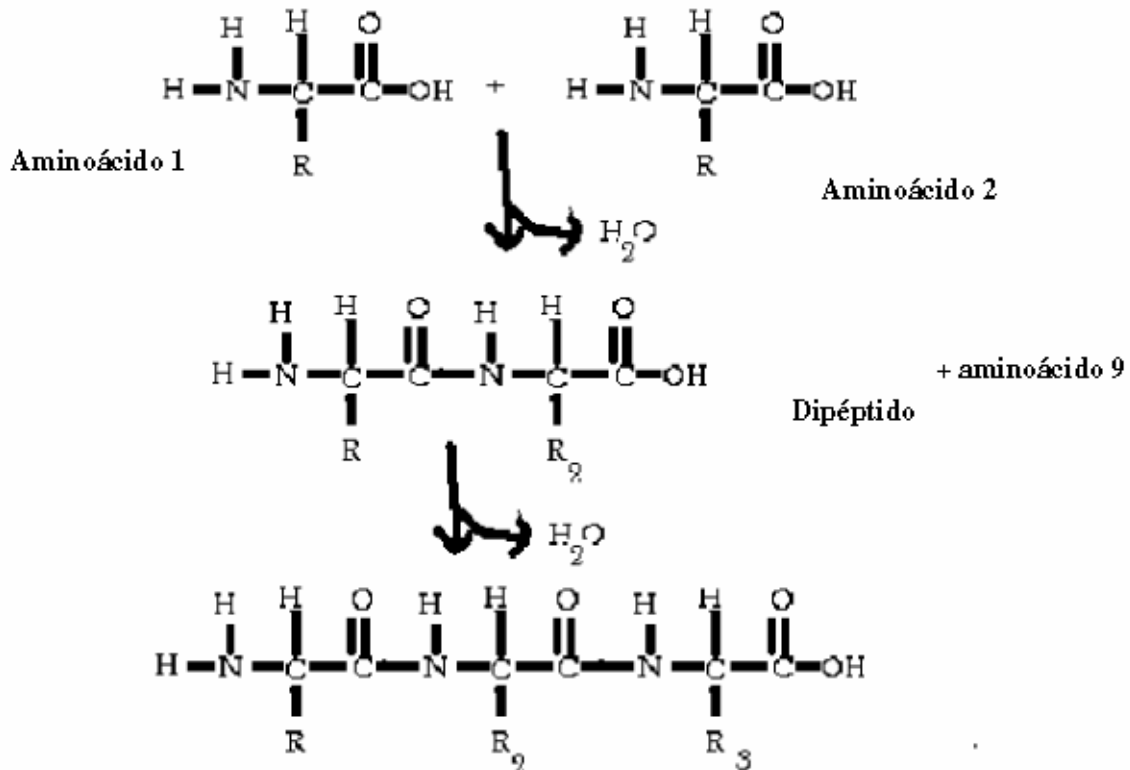
§1. Los aminoácidos y los enlaces peptídicos

La estructura química general de los aminoácidos:



El grupo R (cadena lateral) varía entre los distintos 20 aminoácidos. Estos 20 aminoácidos dan lugar a todas las proteínas.

Los péptidos son oligómeros de aminoácidos formados tras una reacción de deshidratación cuando el grupo carboxilo de un péptido se une al grupo amino de un segundo aminoácido.



El enlace peptídico es plano; funciona parcialmente como un doble enlace y no presenta rotación en torno al enlace amida. La estructura del enlace peptídico es un híbrido de las 2 formas siguientes:



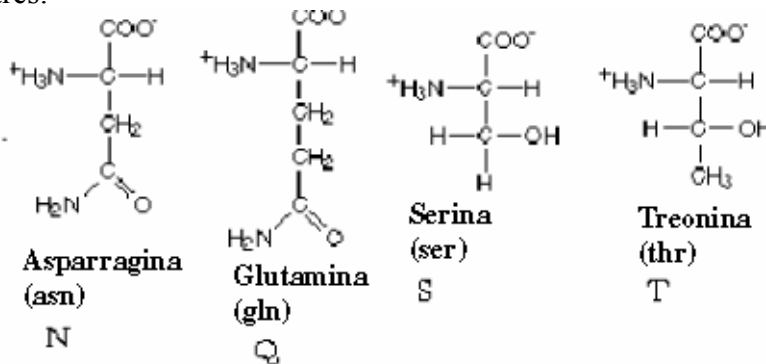
Hay, sin embargo, rotación en torno a los enlaces adyacentes al enlace peptídico. La unidad peptídica es una disposición plana de cuatro átomos.

Los polipéptidos más largos, compuestos de muchos aminoácidos, se denominan proteínas. Cada proteína tiene un orden específico de aminoácidos y adopta una forma particular, determinada por la secuencia de aminoácidos.

§2. Los veinte aminoácidos diferentes

a. Cadenas laterales polares pero sin carga:

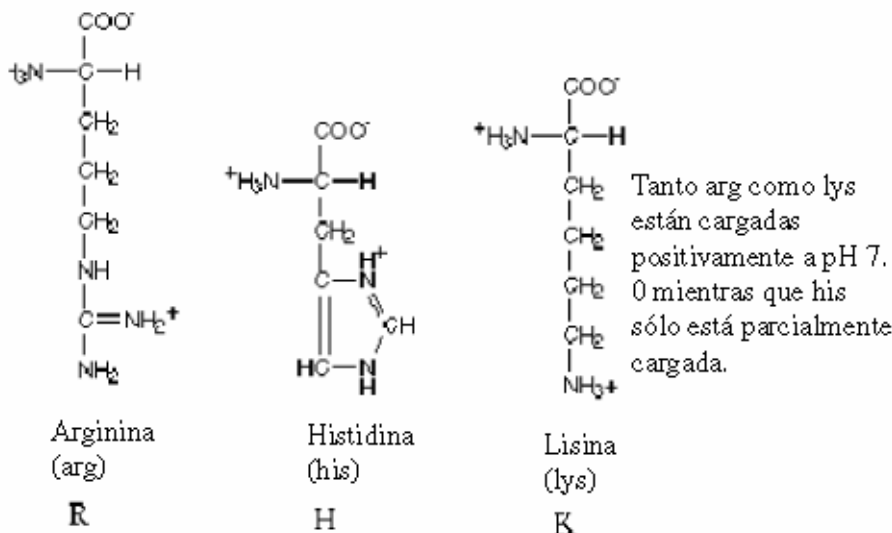
Las cadenas laterales de estos grupos pueden formar puentes de hidrógeno con otros grupos polares:



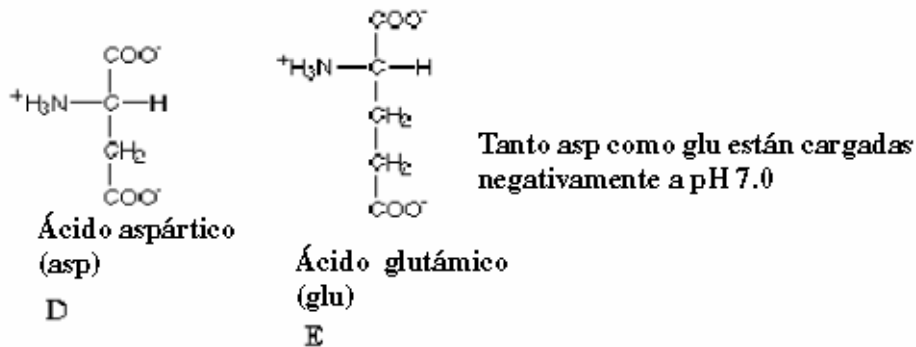
b. Cadenas laterales polares con carga:

Las cadenas laterales de estos aminoácidos pueden formar puentes de hidrógeno o enlaces iónicos:

1. Carga positiva:

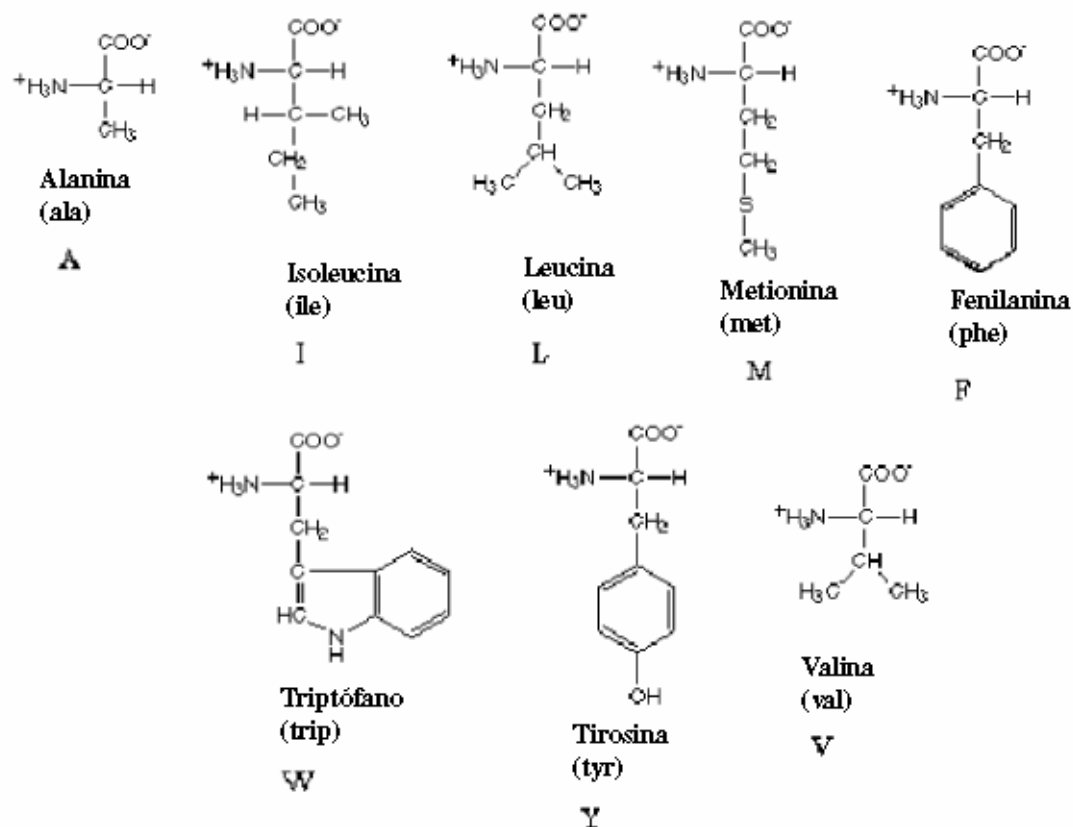


2. Carga negativa:



c. Cadenas laterales hidrofóbicas (apolares, sin carga)

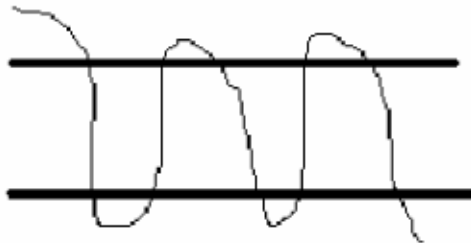
Las cadenas laterales de la mayoría de estos aminoácidos no pueden formar puentes de hidrógeno ni enlaces iónicos y prefieren estar en un entorno apolar. Estos aminoácidos prefieren estar en el interior de las proteínas en una solución acuosa.



Aunque la tirosina es principalmente apolar, su cadena lateral tiene un grupo polar hidroxilo capaz de formar puentes de hidrógeno.

Algunas proteínas se denominan proteínas transmembrana. Una región de la proteína transmembrana atraviesa la membrana de la célula o el compartimento celular en el que se encuentran.

Compartimento exterior de la célula

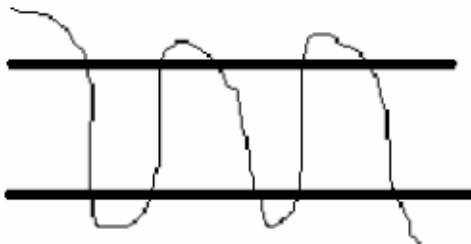


Membrana plasmática

Las regiones de la proteína que atraviesan la membrana están formadas por aminoácidos con cadenas laterales principalmente hidrofóbicas

Compartimento interior

Compartimento exterior de la célula

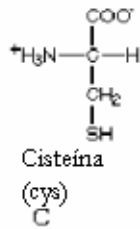


Membrana plasmática

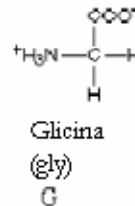
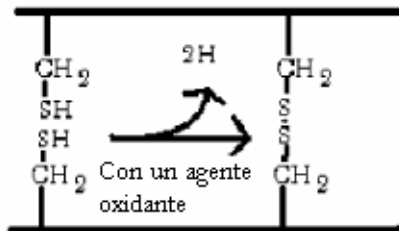
Las regiones de la proteína que atraviesan la membrana están formadas por aminoácidos con cadenas laterales principalmente hidrofóbicas

Compartimento interior

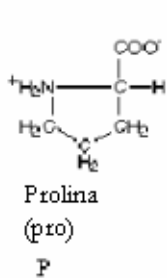
d. Casos especiales



Dos cisteínas pueden formar un enlace disulfuro en determinadas condiciones



La cadena lateral de la glicina es pequeña y flexible pero no interactúa químicamente



La cadena lateral de la prolina está ligada al nitrógeno y al carbono alfa. La prolina es un aminoácido. A pesar de que el grupo amino y el grupo carboxilo pueden formar enlaces peptídicos con otros aminoácidos, la cadena lateral constriñe el ángulo de enlaces adyacentes – constriñe la proteína. La prolina se encuentra con frecuencia en las dobleces de las proteínas plegadas.

§3. La estructura de las proteínas.

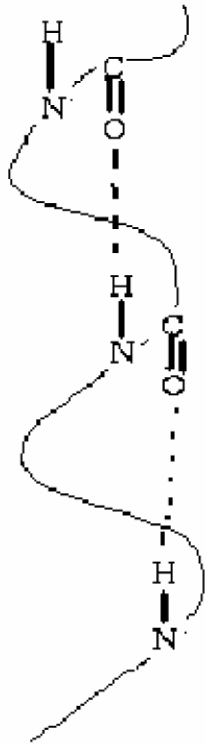
Una combinación de fuerzas determina la estructura de las proteínas:

- Efecto hidrofóbico
- Enlaces iónicos
- Puentes de hidrógeno
- Enlaces disulfuro

- Década de 1930: Linus Pauling propuso que el grupo NH en un aminoácido y el grupo C=O en otro aminoácido podían interactuar para formar un puente de hidrógeno.

- Predijo que la interacción de estos grupos formaría una estructura polipeptídica denominada hélice α (hélice alfa). En una hélice α , el grupo CO del aminoácido n está unido mediante puente de hidrógeno al grupo NH del aminoácido $(n+4)$.

Estructura hélice α :

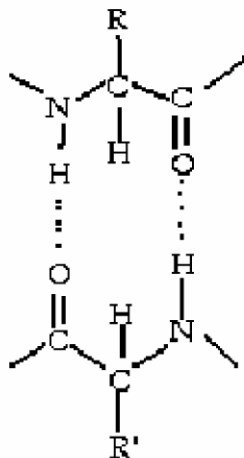


Esta unión de los hidrógenos tiene lugar dentro de una cadena polipeptídica.

3.6 aminoácidos (aa) por vuelta de hélice

Cada aa contribuye 0.15 nm (1.5 Å) a la longitud de la hélice

Pauling también predijo otra estructura polipeptídica denominada lamina plegada (lámina β plegada). En una estructura plegada, hay atracciones intermoleculares entre dos o más cadenas polipeptídicas.



Los puentes de hidrógeno se forman entre dos cadenas polipeptídicas antiparalelas.

Los niveles de la estructura proteica:

a) Estructura primaria:

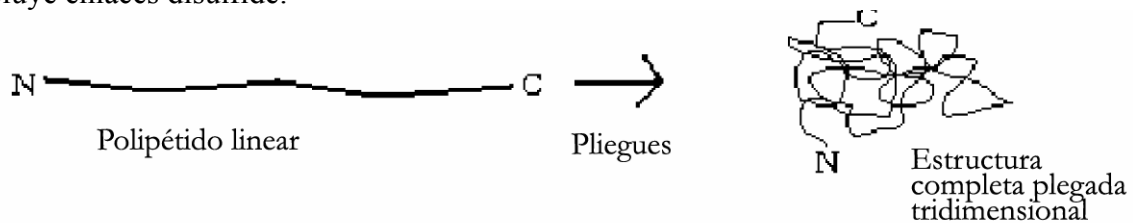
-La secuencia lineal de aminoácidos (ej. NH_3^+ ..met-cys-leu-lys-glu... COO^-)

b) Estructura secundaria

- Distribución local de aminoácidos que están próximos entre sí en la cadena lineal para formar estructuras entre las que se incluyen las hélices α , las láminas plegadas y bucles y enrollamientos al azar.

c) Estructura terciaria

- Distribución espacial de aminoácidos que están alejados entre sí en la cadena polipeptídica lineal para formar la estructura completa (plegada) tridimensional de la proteína. También incluye enlaces disulfide:

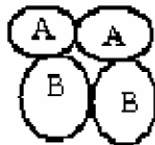


d) Estructura cuaternaria

- Interacción de más de una cadena polipeptídica; asociación de diferentes proteínas para formar complejos tales como los dímeros, trímeros y tetrameros.

Ej.

Hemoglobina
(proteína
oligomérica)



Consiste en 4 cadenas
polipeptídicas:
2 cadenas A
2 cadenas B

§4. Estructura y función proteica

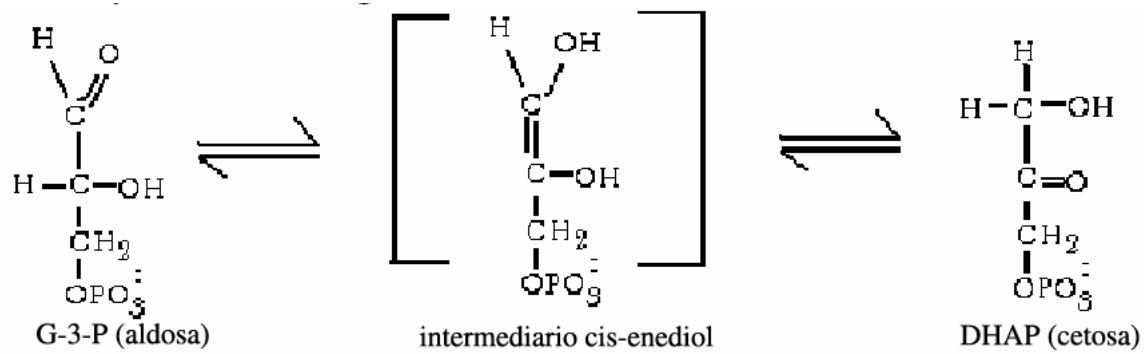
- La estructura proteica determina la función proteica.
- Véase un ejemplo de una proteína que cataliza una reacción bioquímica.

Triosa fosfato isomerasa (TPI)

La TPI es un dímero proteico constituido por dos cadenas polipeptídicas, cada una de 247 aminoácidos de longitud. El polipéptido se pliega para formar una enzima con forma de cesta con una hendidura en el centro.

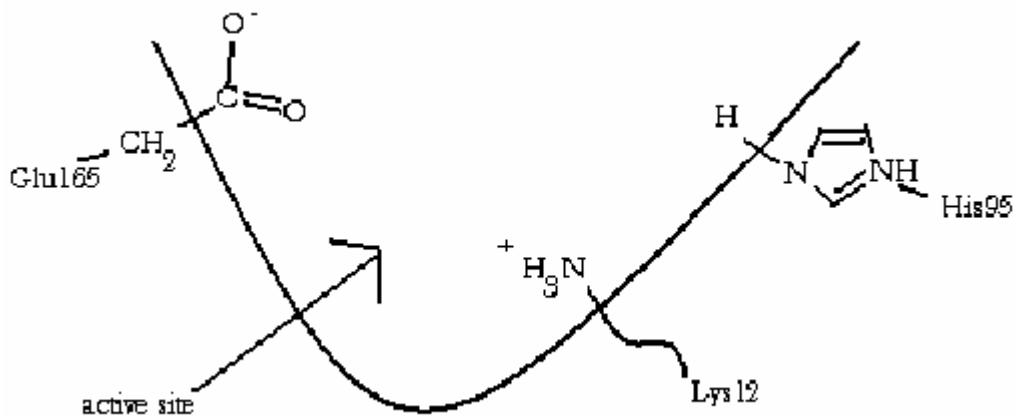
¡SÓLO EL DIMERO ES ACTIVO ENZIMÁTICAMENTE!

La TPI cataliza la siguiente reacción:



Aunque esta proteína tiene una longitud de 247 aminoácidos, sólo 3 de éstos (Glu165, His95 y Lys12) son importantes para la función catalizadora de la TPI. El sitio catalítico (activo) se forma cuando la proteína adquiere su forma completa tridimensional y los tres aminoácidos se ubican en posiciones próximas entre sí.

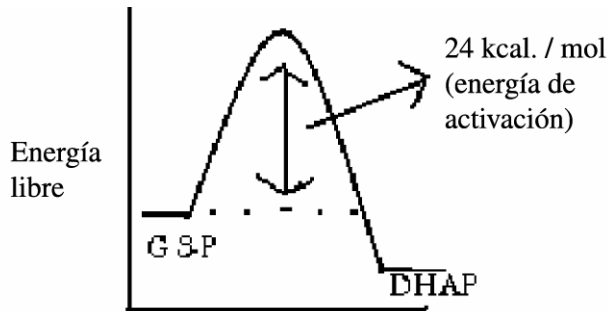
Observe el sitio activo de la TPI:



Mecanismo:

- 1) G 3-P se une al sitio activo de la TPI (N de His95).
- 2) Lys12 estabiliza G 3-P en el sitio activo.
- 3) Glu165, actuando como un catalizador básico (B-), recoge un H⁺ del grupo C₂ (el carbono próximo al carbonilo) de G 3-P.
- 4) His95 dona un H⁺ al grupo C₁ (el carbonilo) de G 3-P para formar el grupo OH en C₁ (y facilita la formación del intermediario enediol).
- 5) Glu165 recoge el H⁺ al grupo C₁ del intermediario.
- 6) His95 recoge el protón del grupo OH en el grupo C₂ en el intermediario.

La TPI estabiliza disminuyendo la energía del intermediario altamente desfavorable, que tiene mucha más energía libre positiva que el G 3-P o el DHAP.



Progreso de la reacción

El TPI también multiplica por diez la velocidad de la reacción. El aminoácido que estabiliza el estado de transición es Glu165. Si sustituye Glu165 en TPI con Ácido Aspártico (el cual es sólo un carbono más corto, en longitud, que la Glu) reduce 1.000 veces la actividad de la enzima (el TPI se hace 1.000 veces menos efectivo).

ARTÍCULOS DEL WASHINGTON POST, 5/21/93 p.3 “Influenza’s Burglary Tools” por Boyce Rensberger y del NY TIMES, 5/21/93 “Breakthrough on Flu Viruses Reported” por Warren E. Leary.

Bioquímica III: Energía libre y cinética de las reacciones

La TPI cataliza la siguiente reacción:

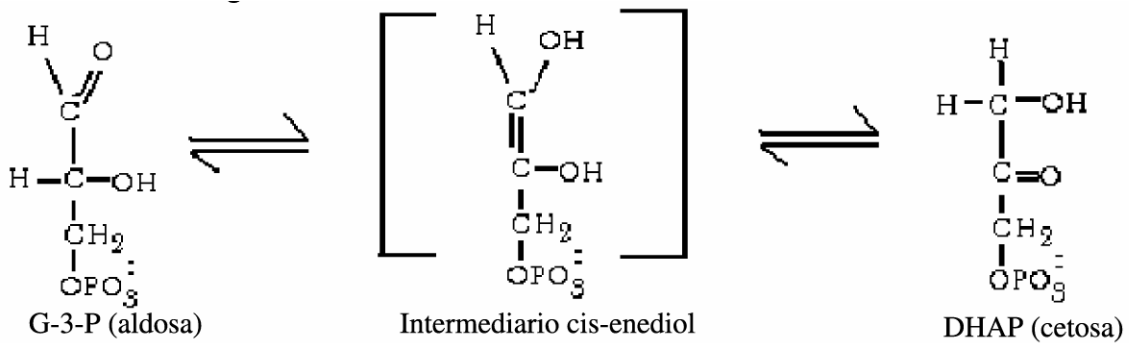
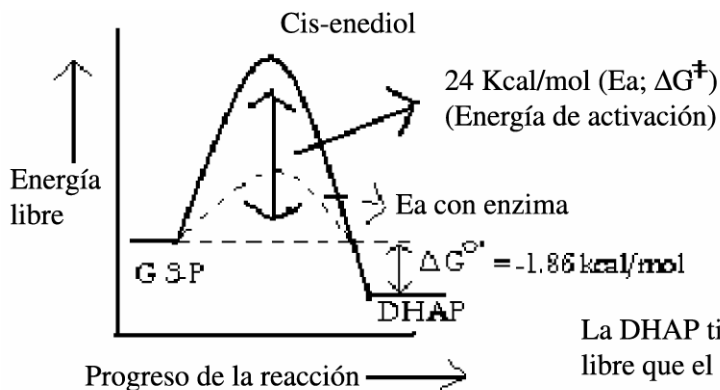


Diagrama de energía libre para la reacción anterior:



La DHAP tiene menos energía libre que el G 3-P, estado más

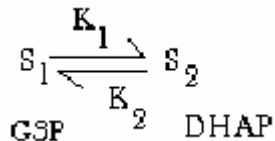
La TPI disminuye la energía de activación (E_a) para la reacción.

La TPI hace esto estabilizando el estado de transición (cis-enediol)

El TPI (al igual que todas las enzimas) no afecta a los valores G° de la reacción química.

§1. Equilibrio de reacción, constante de equilibrio (Keq) y energía libre

En equilibrio, las moléculas tienden a permanecer en su estado más bajo de energía. Dos estados, S_1 y S_2 , con diferencias de energía entre los dos, expresado como $G^\circ =$ cambio en energía libre en condiciones normales.



La ecuación que relaciona G con las concentraciones de S_1 y S_2 es la siguiente:

$$\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln \frac{[S_1]}{[S_2]}$$

G = Diferencia de energía libre en reacción

ΔG° = Energía libre en condiciones normales específicas.

RT = la constante de los gases x Temperatura (en grados Kelvin)

$[S_1]/[S_2]$ = razón de productos con respecto a los reactivos

Cuando la reacción está en equilibrio, $G = 0$ (reacción neta: 0)

$$\Delta G^\circ = -RT \ln \frac{[S_1]}{[S_2]}$$

$RT = 0.59$ kcal/mol a 25°C , $RT = 0.61$ kcal/mol a 37°C , por lo que $RT \sim 0.6$

$$\frac{-\Delta G^\circ}{RT} = \ln \frac{[S_1]}{[S_2]} \rightarrow \frac{[S_1]}{[S_2]} = e^{\frac{-\Delta G^\circ}{RT}} = Keq$$

$Keq =$ equilibrio constante

$$Keq = e^{\frac{-\Delta G^\circ}{RT}}$$

$Keq =$ ratio de constantes

$$Keq = \frac{K_1}{K_2}$$

Razón neta de la reacción hacia la derecha = Razón neta de la reacción hacia la izquierda

Razón de la reacción hacia la derecha = $K_1 [S_1]$

Razón de la reacción hacia la izquierda = $K_2 [S_2]$

$K_1 [S_1] = K_2 [S_2]$

$$\frac{K_1}{K_2} = \frac{[S_2]}{[S_1]} = Keq$$

Ejemplo: $G3P \leftrightarrow DHAP$ ($\Delta G^\circ = -1.86 \text{ kcal/mol}$)

$$Keq = \frac{[DHAP]}{[G3P]} = e^{\frac{-1.86 \text{ kcal/mol}}{0.6 \text{ kcal/mol}}}$$

En equilibrio $\frac{[DHAP]}{[G3P]} = e^{3.1} = 22$

$Keq = 22$

En equilibrio habrá 22 veces más DHAP que G3P.

Dado G3P puro: la reacción trae consigo la creación de DHAP (síntesis neta de DHAP).

Dado DHAP puro: la reacción trae consigo la creación de G3P (síntesis neta de G3P).

Cuando $G3P = DHAP$ $G_{Rxn} = 0$ (no hay cambio neto)

Proporción 22:1

~ 7:1

La reacción avanza hacia la derecha \rightarrow DHAP

La dirección de una reacción depende de:

1) La diferencia intrínseca de energía entre productos y reactivos.

2) Las concentraciones de las reacciones y de los productos.

Esto se describe en la ecuación:

$$\Delta G = \Delta G^0 + RT \ln \frac{[\text{PRODUCTOS}]}{[\text{REACTIVOS}]}$$

Si $G_{\text{rxn}} < 0$, rxn avanzará hacia la derecha (reacción exoergónica)

Si $G_{\text{rxn}} > 0$, rxn avanzará hacia la izquierda (reacción endoergónica)

Si $G = 0$, rxn está en equilibrio, no hay reacción neta.

Ejemplo: Si el ratio de DHAP: G3P fuese 7.4:1, ¿cuál sería el valor de la G del rxn y en qué dirección procedería?

$$\Delta G = \Delta G^0 + RT \ln \frac{[\text{PRODUCTOS}]}{[\text{REACTIVOS}]}$$

$$\Delta G = -1.86 \text{ kcal/mol} - .60 \text{ kcal/mol} \text{ En } 7.4$$

$$G = -0.66 \text{ (} G < 0 \text{)}$$

Por lo tanto, la reacción avanzará hacia la derecha (\rightarrow) para producir DHAP.

§2. Reacciones emparejadas

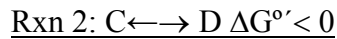
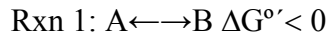
Observe la reacción $A \rightarrow B$.

La reacción tenderá a avanzar en la dirección de la molécula con el nivel más bajo de energía libre.

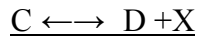
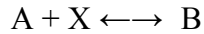
¿Cómo conducimos una reacción hacia la derecha teniendo un $\Delta G^0 > 0$?

Se puede emparejar una reacción desfavorable ($G > 0$) con una favorable ($G < 0$).

A veces, el emparejamiento todavía puede resultar en condiciones desfavorables, pero la reacción emparejada generalmente es más favorable que la reacción original, desemparejada.

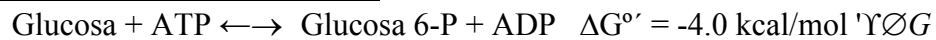
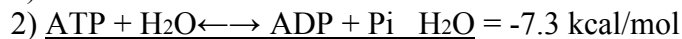


Ejemplo:



Las células emplean este mecanismo de emparejamiento de reacciones desfavorables con favorables para que las reacciones avancen hacia la derecha.

Ejemplo:



Las células utilizan la energía de la hidrólisis del ATP para fraguar la reacción 1, que es energéticamente desfavorable



El ATP es una fuente esencial de energía. El ATP almacena energía agrupando cargas negativas en enlaces altamente energéticos y soltando esta energía cuando se rompen dichos enlaces.

Todas las reacciones (que se contarían por millares) que tienen lugar en las células tienen un $G < 0$.

* Las enzimas aumentan la tasa de reacción. Sin embargo, no alteran ni las concentraciones en el equilibrio, ni la G de la reacción.

§3.1 Tasas de reacción y el papel de las enzimas

Para la reacción $\text{G3P} \rightleftharpoons \text{DHAP}$

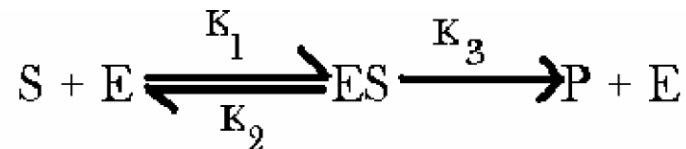
Véase el perfil energético de la reacción:

- Una reacción puede ser endoérgica, no pudiendo avanzar si no se empareja a una reacción exergónica. Una enzima puede catalizar la reacción emparejada, permitiendo así el avance de la reacción.

Reacciones exoérgica ($G < 0$), Reacciones endoérgica ($G > 0$).

§4. Cinética enzimática (Cinética de Michaelis-Menten, 1913)

Podemos ilustrar el mecanismo de reacción de las enzimas del siguiente modo:



S = sustrato

E = enzima

ES = complejo enzima-sustrato

P = producto

k_1 = Constante de la reacción directa (hacia la derecha)

k_2 = Constante de la reacción inversa (hacia la izquierda)

k_3 = Tasa de la reacción directa

$$k_1 = \frac{(\# \text{ moles/L de S formados})/\text{seg}}{(\# \text{ moles/L de S})} = 1 / (\text{mol/L} \times \text{seg}) \text{ unidades}$$

$$k_2 = \frac{(\# \text{ moles/L de S formados})/\text{seg}}{(\# \text{ moles/L de ES})} = 1/\text{seg} \text{ unidades}$$

$$k_3 = \frac{(\# \text{ moles/L de P formados})/\text{seg}}{(\# \text{ moles/L de ES})} = 1/\text{seg} \text{ unidades}$$

1) Tasa catalítica

La tasa catalítica equivale al producto de las concentraciones de ES y k_3 .

$$V = k_3[ES] \quad V = \text{velocidad o tasa de reacción}$$

2) La fracción (f) de enzima unida al sustrato es:

$$f = \frac{[ES]}{[E_T]} \quad [E_T] = \text{concentración total de enzimas}$$

$$f = \frac{[S]}{[S] + K_m} \quad [ES] = \text{Concentración de enzimas ligadas}$$

f = porcentaje de enzimas ligadas al sustrato

$$[ES] = [E_T] \frac{[S]}{[S] + K_m}$$

$$k_m = \frac{k_2 - k_3}{K_1} \text{ Constante de Michaelis}$$

$$k_m = \frac{\frac{1}{\text{sec}} + \frac{1}{\text{sec}}}{\frac{l}{(\text{moles})(\text{seg})}} = \frac{\text{moles}}{l} \text{ unidades}$$

K_m es una medida de la afinidad de una enzima por su sustrato.

¿Cuál es la fracción (f) de enzima ligada cuando:

1) $[S] = K_m$ Fracción de enzima ligada = $\frac{1}{2}$

$$f = \frac{[S]}{[S] + K_m} = \frac{[S]}{[S] + [S]} = \frac{[S]}{2[S]} = 1/2$$

2) $[S] \ll K_m$ Fracción de enzima depende de la afinidad de la enzima por el sustrato

$$f = \frac{[S]}{K_m}$$

3) $[S] \gg K_m$ Fracción de enzima ligada es 1 (la enzima está limitada – toda unida al sustrato)

$$f = \frac{[S]}{[S]} = 1$$

La tasa de reacción es $V = K_3[ES]$; si la sustituimos en la ecuación:

$$[ES] = [E_T] \frac{[S]}{[S] + K_m}$$

$$[V] = k_3 [E_T] \frac{[S]}{[S] + K_m}$$

La máxima tasa de reacción (V_{\max}) la obtenemos cuando la enzima está saturada con el sustrato (cuando $[S] \gg K_m$) y se aproxima a 1 ($f=1$).

$$\frac{[S]}{[S] + K_m}$$

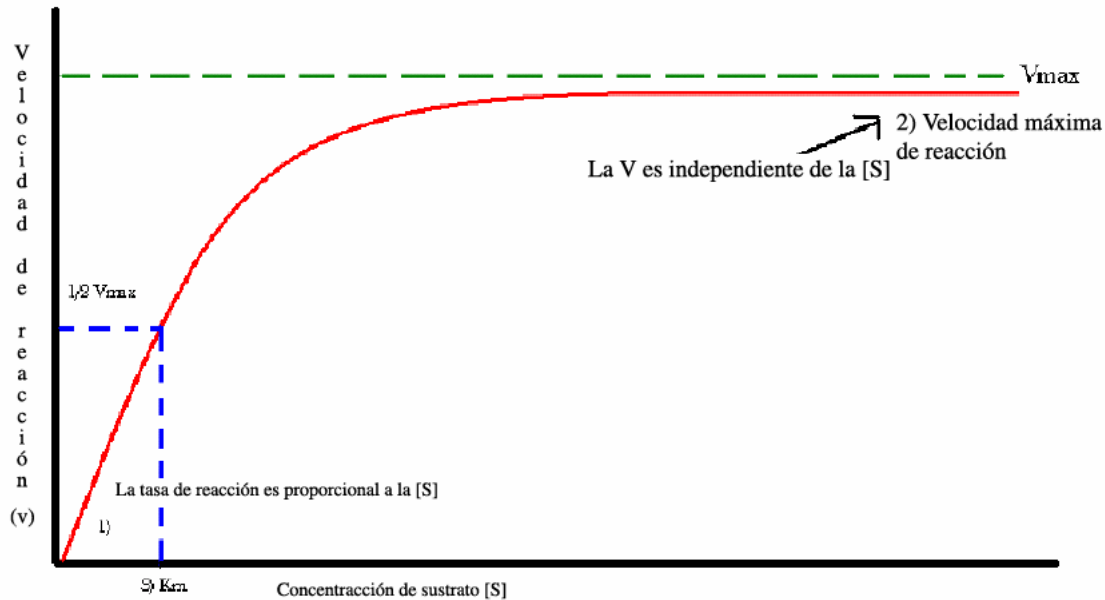
$$V = K_3 [E_T] \quad (1)$$

$$V_{\max} = K_3 [E_T]$$

Por tanto, esta es la ecuación Michaelis-Menten:

$$V = \frac{V_{\max} [S]}{[S] + K_m}$$

Observe la gráfica de la velocidad de reacción como una función de la concentración de sustrato [S] para una enzima que obedece la cinética de Michaelis-Menten:



- 1) Cuando la [S] es baja: $V = \frac{V_{\max} [S]}{K_m}$ (La [S] en el denominador ya no es significativa).
- 2) Cuando la [S] es alta: $V = \frac{V_{\max} [S]}{[S]}$ (El valor de Km en el denominador no es significativo, así que $V = V_{\max}$).
- 3) Cuando la [S] = Km: $V = \frac{V_{\max} [S]}{[S] + [S]}$ (Ya que Km = [S]), por lo que $V = \frac{1}{2} V_{\max}$

Km es la [S] a la cual la mitad de la enzima está ligada al sustrato.

¿Cuál es la velocidad de formación de productos?:

Para la [E], para la [S]:

$$[V] = k_3 [E_T] \frac{[S]}{[S] + K_m}$$

Cuando la [S] es pequeña, la mayor parte de la enzima está libre: $[E] = [E_T]$

$$V = \frac{K_3 [S][E]}{K_m}$$

Resultados (*turnover*): N° de moléculas de sustrato “tocadas” por la enzima por unidad de tiempo para formar producto.

$$V = K_3 / K_m = K_{cat}$$

Para la Triosa fosfato isomerasa:

$$K_1 = 10^8 \text{ l}/(\text{moles} \times \text{seg})$$

$$K_2 = 430/\text{seg}$$

$$K_3 = 430/\text{seg}$$

$$K_3 / K_m = K_{cat} \approx (10^8 \text{ productos})/(\text{reactivos} \times \text{enzimas} \times \text{seg})$$

$$K_m = \frac{K_2 K_3}{K_1} = 4.7 \times 10^{-5} \text{ M}$$

$$K_3 / K_m = \frac{4300}{4.7 \times 10^{-5} (\text{moles})(\text{seg})/\text{l}}$$

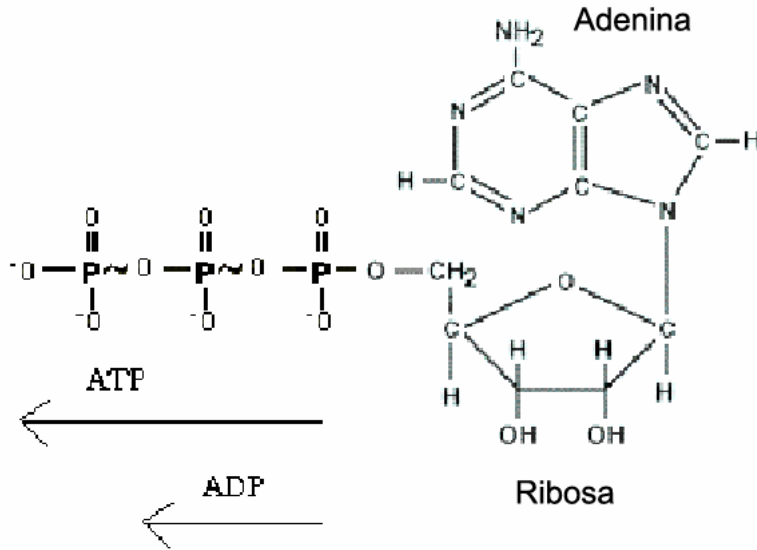
- La tasa de reacción de la TPI sólo está limitada por la difusión; cada vez que la TPI encuentra G3P, lo convierte en DHAP
- La tasa de difusión es $\sim 10^8$ (por tanto, la enzima rara vez se encuentra con sustrato).
- La TPI es, sin embargo, cinéticamente perfecta: cada vez que encuentra sustrato, lo convierte en producto.

7.012 Información adicional de Cinética enzimática (fecha: 9/10/97)... véase el suplemento del Capítulo 6 del libro de texto de Purves et al.

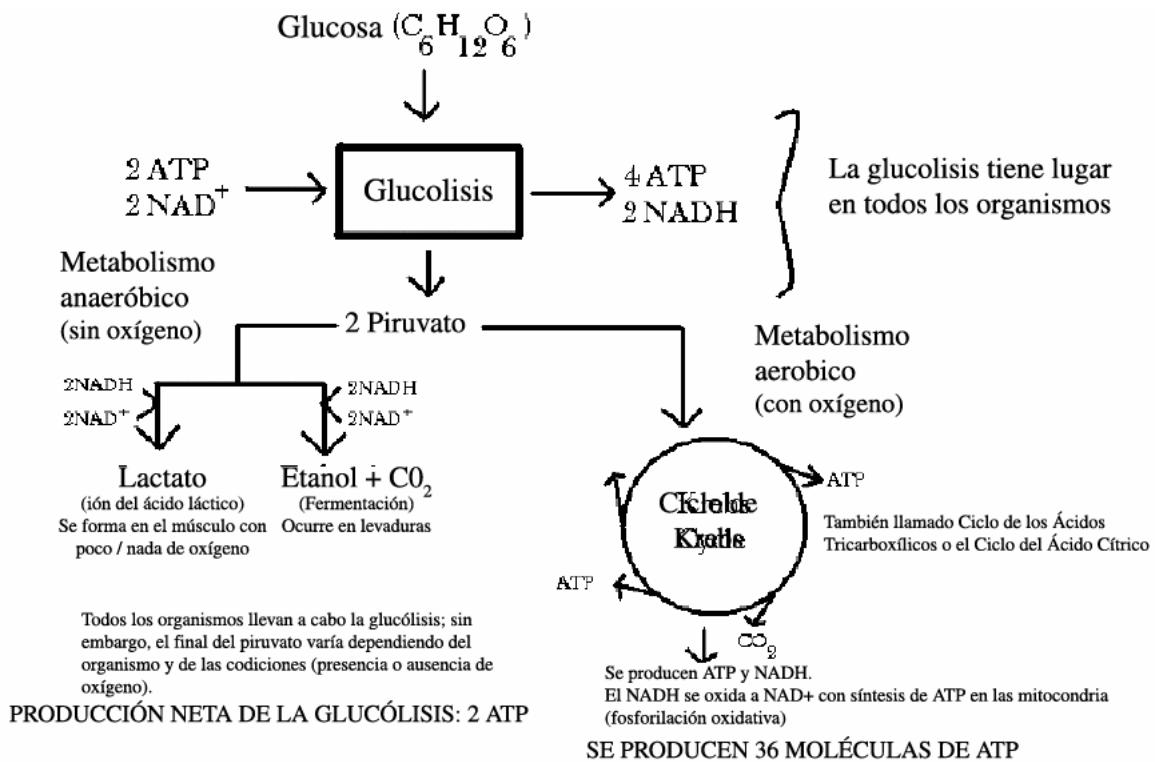
Bioquímica IV: Metabolismo de Energía

Revisión de Cinética

Estructura del ATP a pH 7.0:



Hay una gran repulsión electrostática entre los grupos fosfato con carga negativa. La hidrólisis del ATP en ADP + P_i libera energía libre y reduce el nivel de repulsión. ¿Cómo se fabrica el ATP (la moneda de energía para la célula)? A través de un proceso denominado glucólisis (“gluco” – azúcar, “lysis” – romper) En la glucólisis, 1 molécula de glucosa se convierte en 2 moléculas de piruvato.



Eficiencia energética de este proceso:

Con oxígeno: $C_6H_{12}O_6 - 6CO_2 - 6H_2O$ produce 686 kcal/mol
36 ATPs

Sin oxígeno: $C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2$ lactatas $\rightarrow 2$ ATPs
 $C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2$ etanol + $CO_2 \rightarrow 2$ ATPs

La glucólisis tiene lugar en el citoplasma de las células, no requiere oxígeno y sucede en todos los organismos.

~ Hace unos 3.500 millones de años: no había suficiente oxígeno, por lo que los organismos llevaban a cabo un metabolismo anaeróbico.

~ Hace unos 2.500 millones de años: ya había el oxígeno necesario para el metabolismo aeróbico.

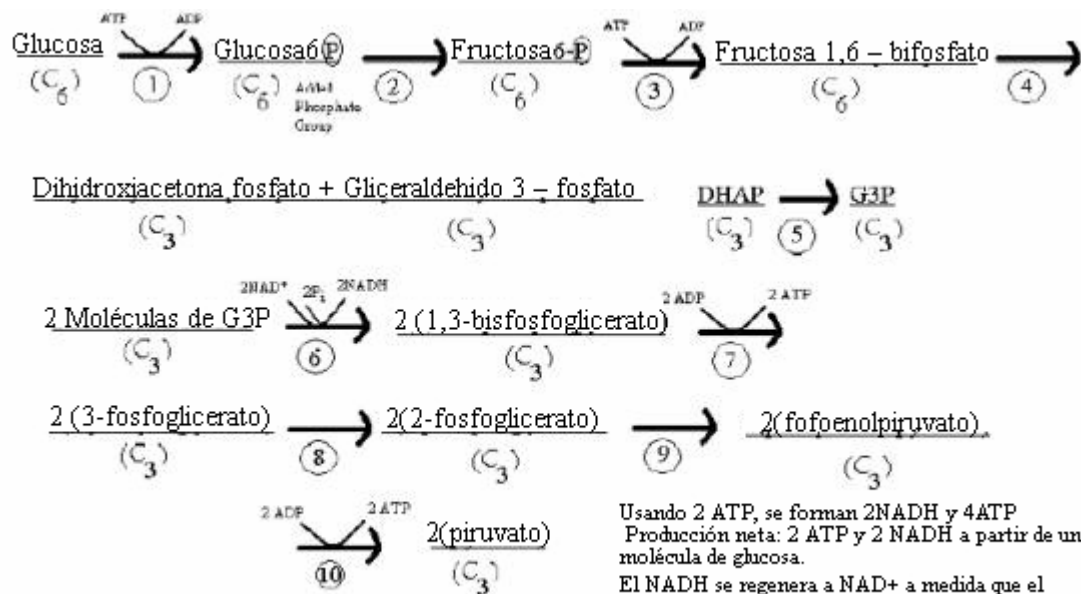
La glucólisis puede realizarse en extractos de levadura (esto es, no hace falta levadura viva, sino solamente enzima. La palabra “enzima” quiere decir “en levadura”).

La glucólisis tiene dos fases:

- 1) Fase de inversión de energía (utiliza ATP).
- 2) Fase de generación de energía (fabrica ATP).

Resumen de las reacciones de la glucólisis:

Consiste en 10 pasos: el carbono 16 del azúcar es transformado en moléculas de carbono 2 y 3.



Nota importante:

La reacción $G3P \leftrightarrow DHAP$ tiene un $G^{\circ} = -1.86$ kcal/mol.

Sin embargo, en la glucólisis, la DHAP se convierte en G3P; por lo tanto, el G° de esta reacción es de $\Delta G^\circ = +1.86 \text{ kcal/mol}$!

¿Cómo se desarrolla esta reacción en las células?

Como el G3P se usa en más reacciones, el [G3P] disminuye, lo que desplaza la reacción a la derecha, creando más G3P.

Aunque el $G^\circ > 0$, el valor $G < 0$ debido a la tasa de productos / reactivos.

$$\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln \frac{[\text{PRODUCTOS}]}{[\text{REACTIVOS}]}$$

En la célula, todas las reacciones avanzan hacia adelante porque $G < 0$ (que se logra manteniendo un ratio óptimo de productos / reactivos).

TABLA de los valores G° y G de las reacciones en la glucólisis.

Observe que muchos $G^\circ > 0$, y sin embargo, todos los valores G son < 0 .

Por lo tanto, ¡la reacción procede a formar piruvato!

Una kinasa es una enzima que añade un grupo fosfato a una molécula.

Regulación de rutas

El objetivo de la glucólisis es fabricar ATP. El ATP fabricado se utiliza para otras reacciones celulares (reacciones biosintéticas, transporte, etc.)

- La célula percibe el ratio de ATP / ADP.

Ej. Cuando los músculos están esforzándose, el ATP se convierte en ADP.

- Si el [ATP] es alto, la glucólisis es baja.

- Si el [ATP] es bajo, la glucólisis se pone en marcha (un aumento del ADP activa la glicólisis).

Las velocidades de reacción (v) de las enzimas en la glucólisis se pueden cambiar modificando las variables en la ecuación:

$$[V] = k_3[E_T] \frac{[S]}{[S] + K_m}$$

Para aumentar la tasa de la glucólisis:

1) Aumento $[E]$, fabricar más enzimas (nueva síntesis).

Ej. Tras comer muchos carbohidratos – los niveles de piruvato celular aumentan.

2) Aumento $[S]$, si se aumenta la cantidad de sustrato, entonces aumenta la fracción (f) de enzima ocupada con sustrato:

$$f = \frac{[S]}{[S] + K_m}$$

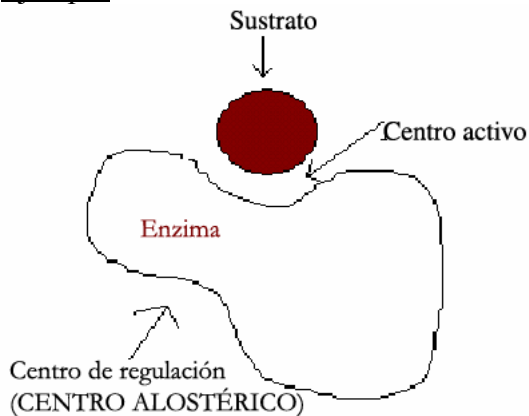
3) Si se cambia K_m – la tasa de reacción puede verse afectada.

o Si K_m es más alto \rightarrow tasa más lenta.

o Si K_m es más bajo \rightarrow tasa más rápida.

El K_m de una enzima puede ser modificado cambiando la forma del sitio activo (sitio catalítico) de la enzima.

Ejemplo:



El sustrato se une al centro activo y se convierte en producto.

Las moléculas también se pueden unir al centro alostérico.

La unión al centro alostérico produce que la enzima adopte una conformación diferente.

“alo” – otro
“stérico” – conformación

La unión de los reguladores al sitio alostérico conduce a un cambio en la forma de la enzima – lo que afecta al K_m de la enzima.

-Si disminuye $K_m \rightarrow$ aumenta el ratio (v) porque f también aumentará.

-Si aumenta $K_m \rightarrow$ disminuye el ratio (v) porque disminuye f .

La ligazón de los reguladores en el sitio activo hace que el sitio activo cambie. La posición de algunos aminoácidos cambia unos pocos angstroms – suficiente para inactivar la enzima.

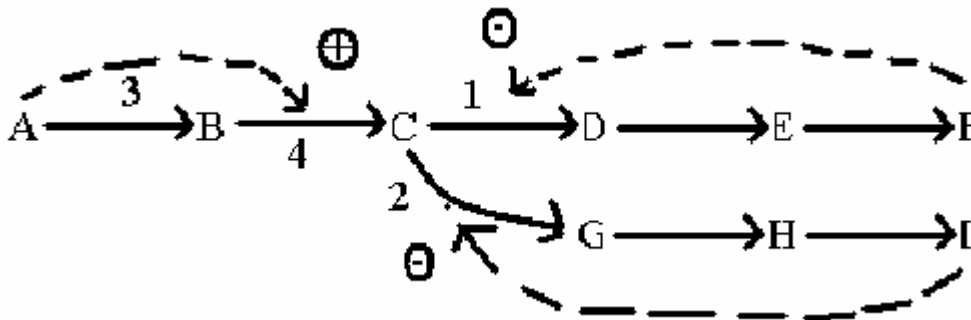
Regulación de rutas:

Regulación por retroalimentación (feedback) y proalimentación (feed-forward o retroalimentación positiva)

Se regulan la mayoría de las enzimas que catalizan reacciones en rutas bioquímicas.

Ejemplo de ruta:

1) F puede actuar como un inhibidor de la retroalimentación de la enzima que cataliza el paso $C \rightarrow D$ (1º paso limitante en la síntesis de F).



2) I puede actuar como un inhibidor de la retroalimentación de la enzima que cataliza el paso $C \rightarrow G$ para ralentizar la tasa de ese paso.

3) Tanto I como G, juntos o por separado, pueden actuar como inhibidores de la retroalimentación del paso $A \rightarrow B$.

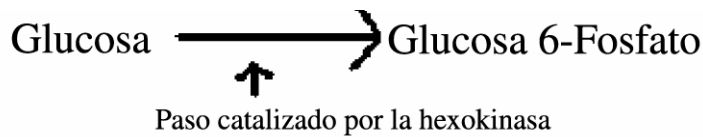
4) A puede actuar como inhibidor de la proalimentación (o retroalimentación positiva) del paso B→ C para aumentar la tasa de esa reacción.

Ej. Si se tiene demasiado A (esto es, si A se está acumulando), la reacción puede ir al paso que limita la tasa, disminuir el Km de la enzima y acelerar la reacción.

En general, el producto final de una ruta suele regular el 1º paso limitante de la ruta (o el primer paso que requiere una enzima).

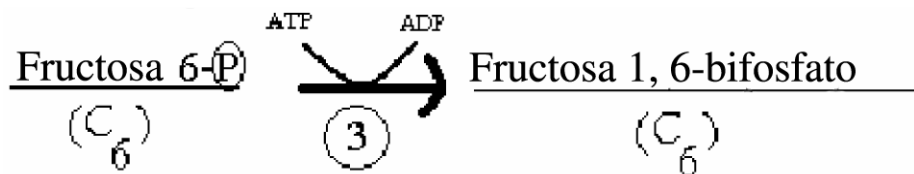
En la glucólisis, determinadas enzimas son reguladas para que la tasa de glucólisis se pueda aumentar o disminuir en función de los requisitos energéticos de la célula.

Regulación de la enzima hexokinasa:



La G6-P inhibe a la hexokinasa si la glucólisis es bloqueada o ralentizada.

Regulación de la enzima fosfofructokinasa (enzima PFRK):



- El ATP actúa como inhibidor de la enzima PFK.
- A una alta [ATP], el ATP se une al centro alostérico y cambia la actividad catalítica de la PFK (aumenta el Km).
- A una baja [ATP], el ATP se une al centro activo de PFK y activa la PFK.
- Una alta [ADP] activa la PFK.