

Proteínas

GENERELIDADES

Las proteínas se pueden definir como polímeros formados por la unión mediante enlaces peptídicos, de unidades de menor masa molecular llamados aminoácidos (aa).

Son macromoléculas, son los compuestos más abundantes de la materia viva, son específicas, a través de ellas se expresa la información genética.

Pueden ser de varios tipos, de defensa, de estructura, de comunicación, de enzimas, de transporte y de almacenaje.

- Reconocimiento específico de otras moléculas: la molécula que se une (el ligando) puede ser tan pequeña como la molécula de oxígeno que se coordina con el grupo hemo de la mioglobina, o tan grande como la secuencia de ADN. La unión específica se rige por la complementariedad de formas, así como interacciones polares e hidrofóbicas.
- Catálisis: todas las reacciones están catalizadas y la mayoría de los catalizadores son enzimas proteicas.

La eficacia catalítica de las enzimas es enorme hasta 17 órdenes de magnitud más. Muchas características estructurales contribuyen al poder catalítico de ellas:

- Mantienen juntos a los grupos reaccionantes en una orientación favorable para la reacción, por proximidad.
- Unen el estado de transición de la reacción más estrechamente que los complejos del estado fundamental, estabilización del estado de transición
- Catálisis de ácido-base
- Switching: sucede en moléculas muy flexibles por lo que su conformación puede cambiar en respuesta a cambios en el pH o la unión de ligandos. Estos cambios pueden usarse como interruptores moleculares para controlar los procesos celulares
 - Ej importante para la base molecular de muchos cánceres sucede cuando hay un *cambio conformacional que ocurre en la pequeña GTPasa Ras cuando el GTP se hidroliza a GDP.*
- Estructural: depende de la asociación específica de las subunidades de proteínas consigo mismas y con otras proteínas.
Permite también que sistemas complejos como las fibrillas de actina se ensamblen espontáneamente. Estas también son importantes fuentes de biomateriales, como *seda, colágeno, queratina.*

AMINOÁCIDOS

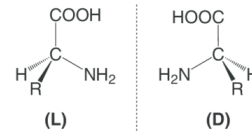
Son las unidades estructurales que constituyen las proteínas. Todos los aa que se encuentran en las proteínas, salvo la prolina, responden a la fórmula general que se observa en la figura. Tenemos 20 aa "estándar":

- α -aminoácidos: tienen grupo amino primario (NH_2) como sustituto del C quiral. Excepción: **glicina**, con H en su cadena lateral y **prolina** con grupo amino secundario (NH)
- β -aminoácidos: demasiado flexibles para formar polímeros ya que se pliegan espontáneamente.

Difieren entre sí por la estructura de sus cadenas laterales.

PROPIEDADES

- Enantiómeros: todas las proteínas naturales son L-aa, se usan frecuentemente en farma como objetivo antimicrobiano. Excepción: **D-aa**
- Tienen isomería óptica.
- Anfóteros: grupos amino = base y carboxílico = ácido esto hace que puedan actuar tanto de ácido como de base ya que el grupo amino está protonado y el carboxílico desprotonado; se ionizan fácilmente ($pK \approx 2.2$ COOH; $pK \approx 9.4$ NH₂). Las cadenas laterales presentan grupos ionizables también (pK_R). A un pH=7 los aa están ionizados adquiriendo forma dipolar
- Punto isoelectrico (pI): es el pH al cual una molécula tiene carga neta cero., es decir el aa es neutro.



$$pI = \frac{1}{2} (pK_i + pK_j)$$

donde K_i y K_j son las constantes de disociación de las dos ionizaciones que involucran las especies neutras

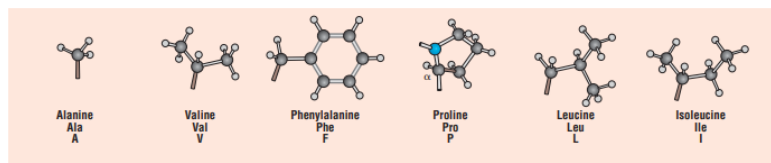
- En cadenas laterales ionizables, el pI se obtiene como la media de los valores de pK_a en los equilibrios en los que participa el ion dipolar.
- El pK_a de un grupo funcional concreto está influido por las características químicas de los grupos funcionales próximos presentes en la molécula.
- Las cadenas laterales de aa tienen diferentes tendencias para participar en interacciones entre sí y con el agua. Estas diferencias influyen en la contribución a la estabilidad y función de las proteínas.

CLASIFICACIÓN DE AMINOÁCIDOS

- **Aa hidrofóbicos**

Participan únicamente en interacciones Van der Waals. Su tendencia es evitar el contacto con el agua y agruparse entre sí es la base del efecto hidrofóbico.

- Alanina y Leucina: son residuos fuertes que favorecen la hélice
- Prolina: se encuentra poco en las hélices porque el N de su columna vertebral no está disponible para los enlaces de H necesarios para formarla.
- Fenilalanina: la cadena lateral aromática a veces puede participar en las interacciones débilmente polares
- Valina, Isoleucina.



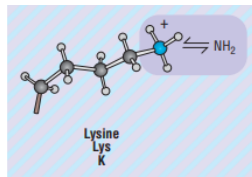
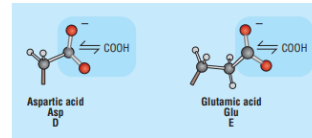
- **Aa hidrofílicos**

Pueden formar enlaces de H entre sí, con el esqueleto peptídico, con moléculas orgánicas polares y con agua, que será determinante en todas las interacciones en las que participan.

Algunos pueden cambiar su estado de carga dependiendo de su pH o del microambiente.

- Ácido aspártico y ácido glutámico: con valores de pK_a cercanos a 5 en dis. acuosa, por lo que no están protonados y tienen carga negativa a pH 7. En el interior hidrofóbico de una proteína, su pK_a puede cambiar a 7 o incluso

más (ocurre lo mismo si tiene cerca carga -), esto les permite funcionar como dadores de protones a pH fisiológico



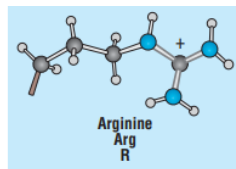
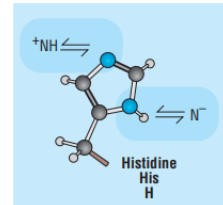
- Lisina: parecido al ac aspártico y glutámico, pero con $pK_a > 10$ en agua por lo que se representa carga +. En entorno no polar o cerca de carga + su pK_a puede cambiar a < 6 y la especie resultante es aceptora de protones

- Histidina: el más versátil, explica porque es el residuo que esta con mayor frecuencia en los sitios activos de las enzimas.

Tiene dos grupos NH ionizables, cada uno con pK_a cerca de 6, pero cuando uno de estos pierde un proton el pK_a del otro pasa a 10.

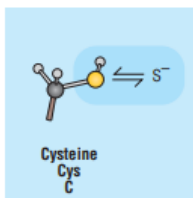
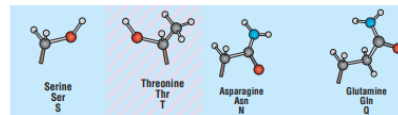
Cuando ambos están protonados, el residuo en su conjunto esta cargado +. Cuando solo esta protonado uno(el que este mas alejado de la cadena principal), la lateral es neutra y tiene la capacidad de donar y aceptar un proton.

La forma desprotonada rara vez ocurre.



- Arginina: siempre protonada a un pH neutro. Su carga + se encuentra principalmente en el átomo de C de la cabeza de guanidio.

- Serina, Treonina, Glutamina, Asparagina: no se ionizan, pero pueden donar y aceptar enlaces H a la vez.

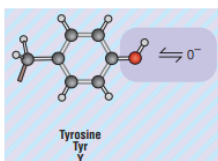
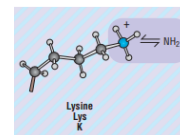


- Cisteína: igual a la histidina, se encuentra en los sitios activos de las enzimas, porque el anión tiolato es el nucleófilo más poderoso disponible de los aa naturales.

• Aa anfipáticos

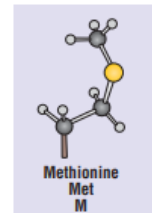
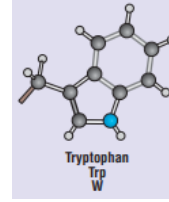
Tienen carácter polar y no polar, por lo que son ideales para formar interfases.

- Lisina: (caso especial) su larga región hidrofóbica está involucrada en interacciones Van der Waals con las cadenas laterales hidrofóbicas.



- Tirosina: no suele ionizarse a pH fisiológico (pK_a aprox. 9), pero en algunos sitios activos de enzimas puede participar en reacciones acido-base porque el medio ambiente disminuye su pK_a . El grupo OH puede donar y aceptar enlaces H, y el anillo aromático puede formar interacciones débilmente polares.

- Trptófano: comportamiento de manera similar, pero el grupo indol-NH no se hidroliza.
- Metionina: es menos polar de estos aa, pero el azufre tioéter es un ligando excelente para muchos iones metálicos.
- Glicina: no tiene isomería espacial, no C*



PROPIEDADES

Unión covalente a elementos metálicos.

- Cationes divalentes: Mg^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+}
- Metales de transición: Fe, Cu, Ni, ...

Esto es común en enzimas, así como *hemoglobina*, *clorofila*, *ferritina*,... Forman entidades de coordinación, formadas por un átomo central (metal), unido a un conjunto de átomos denominados ligandos.

Cadenas laterales de aa como His, Tyr, Cys, Met, Asp y Glu.

Aumenta las posibilidades de las proteínas en participar en nuevas funciones, como las reacciones de transferencia de e-. Las cadenas laterales también pueden coordinar metales a través de enlaces iónicos no covalentes.

- Puentes disulfuro: enlace covalente entre grupos tiol (Cys) por un proceso de oxidación. No habitual intramolecularmente y estabilizador del plegamiento.
- Fosforilación: modificación post-traducciona reversible mediada por quinasas y fosfatasas.
Consiste en la unión de grupo fosfato a su grupo -OH, introduciendo su carga -, promoviendo cambios en el plegamiento. Regula la función proteica.
Aa que la realizan *Ser*, *Thr*, *Tyr*.
- Glucosilación: se forma un enlace covalente O-glucosídico entre el C anomérico del azúcar y el -OH de *Ser* o *Thr*. O también, un enlace covalente N-glucosídico entre el C anomérico del azúcar y el grupo amido de *Asn*

En raras ocasiones, encontramos cadenas laterales no estándar, por ejemplo en las plantas se han localizado un nº significativo de aa inusuales en las proteínas y en mamíferos se limitan a hormonas pequeñas.

A veces, la modificación postraducional de un aa convencional lo puede convertir en uno no estándar. Ejemplo: *Carbamilación no enzimática de lisina, que puede producir un ligando de ion metálico, activando así una enzima*

CÓDIGO GENÉTICO

Formula que convierte la información hereditaria de los genes en proteínas, encontramos relación lineal entre la secuencia de bases de ADN de un gen y la secuencia de aa de la proteína que codifica.

Cada aa se representa por un codón que son tres nucleótidos consecutivos en el gen.

Está degenerado, es decir, algunos aa están especificados por un solo codón, mientras que otros pueden estar especificados por hasta seis codones diferentes.

Hay tres codones que no codifican aa, pero indican la terminación de la cadena polipeptídica, codones de parada. Son UAA, UAS, UGA.

Relación secuencia y aminoácido

En bacterias y organismos inferiores esta relación es estrictamente lineal.

En organismos superiores los genes suelen estar segmentados en regiones codificantes (exones) que están interrumpidas por tramos no codificantes (intrones). El proceso de eliminación de intrones y empalme de exones (splicing) puede producirse de manera diferencial del transcrito primario para dar mas de un ARNm, y por tanto, mas de una proteína.

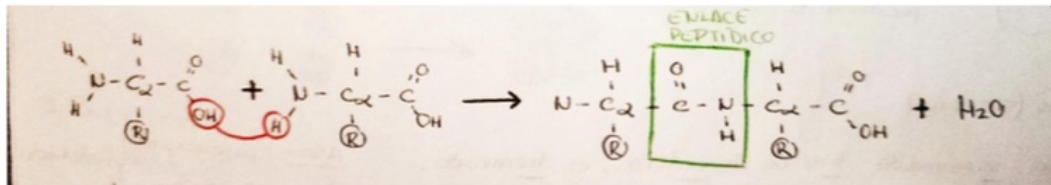
Dependiendo de la disposición de los intrones, el empalme alternativo puede dar proteínas truncadas, con diferentes tramos de aa en el medio, o cambios en el marco abierto de lectura en los que sacamos de una gran parte de la proteína es completamente diferente de la especificada por un intrón.

Organización

Refleja la agrupación físico-química de los aa. Los cambios de una sola base (poliformismo de un solo nucleótido) en la tercera posición en un codón produce el mismo aa.

Sin embargo, los cambios de una sola base en otras partes del codón producirán un aa diferente, pero con las mismas propiedades.

ENLACE PEPTÍDICO



Los aa se unen entre si mediante un enlace peptídico o amida, que se establece por la unión del grupo carboxilo de un aa con el grupo amino del siguiente liberándose una molécula de agua.

Esta síntesis es un proceso controlado enzimáticamente que ocurre en el ribosoma y es dirigido por el ARNm, aunque la formación de ellos puede revertirse añadiendo agua (hidrolisis también se controla enzimáticamente), los enlaces amida son muy estables en agua a pH neutro.

Sus propiedades tienen efectos importantes en la estabilidad y flexibilidad de ellas en el agua.

Los átomos del enlace se encuentran en el mismo plano.

Resonancia: deslocalización de e- sobre varios átomos, establece muchas de las propiedades para su comportamiento. Incrementa la estabilidad del enlace y su polaridad que puede contribuir en el comportamiento de las proteínas plegadas.

La unión entre el C y N tiene carácter de doble enlace por lo que no puede girarse, mientras que los demás si pueden siempre que no haya interferencia estérica. El ángulo del enlace N-Ca con el enlace peptídico adyacente se conoce como ángulo de torsión phi, y el ángulo del enlace C-Ca con el enlace peptídico adyacente se conoce como ángulo de torsión psi. También encontramos en ángulo omega ω .

- PROLINA → tiene estructura cíclica y el ángulo Psi carece de libertad, en las dos configuraciones el grupo α -imino muestra interacciones desfavorables con el carbono α del aminoácido adyacente

En resumen, una proteína es un tipo inusual de polímero, con enlaces covalentes giratorio que se alternan con enlaces de planos rígidos. Esta combinación restringe el número de posibles conformaciones que pueda adoptar una cadena polipeptídica y hace posible determinar a partir de simples consideraciones estéricas los ángulos de conformación de la columna vertebral más probables para residuos polipeptídicos distintos de la glicina

ESTRUCTURA

- Estructura primaria

Secuencia de nucleótidos unido por enlaces peptídicos... aa₁ aa₂ aa₃ aa₄. Esto determina como se plegará en niveles superiores.

- Estructura secundaria

Disposición espacial que puede adoptar la forma de hélices α o hebra β , formadas por interacciones regulares de puente de H.

- Estructura terciaria

Disposición espacial en la cadena peptídica, gracias a los enlaces creados entre radicales adquiriendo forma globular pueden ser hélices α , hebra β , ambos, bucles y enlaces.

- Estructura cuaternaria

Unión de varias cadenas peptídicas para dar un oligómero formado por enlaces débiles.

Para que un polipéptido funcione debe ser capaz de formar la estructura terciaria estable (o de plegarse) en condiciones normales. El número de pliegues es grande pero limitado ya que la función de la proteína requiere que esta plegada no sea demasiado rígida.

Estabilidad

Las propiedades de las cadenas laterales determinan la interacciones no covalentes, su estereoquímica es fundamental para comprender la estructura 3D.

Únicos enlaces covalentes = enlaces amida/peptídico que unen los residuos en mayoría de proteínas. Otros covalentes adicionales, son los puentes disulfuro entre cadenas laterales de Cys.

El resto se debe a interacciones débiles (polares) por atracción electrostática, se reserva para interacciones con carga completa. Contribuyen poco a la entalpía del enlace, pero como puede que haya miles acaban aportando mucho. Las más importantes son van der Waals y puente de H. Todas ellas dependen de su entorno.

Tipos:

- **Van der Waals**

Cuando las nubes de e- fluctuantes de un átomo o grupo de ellos enlazados inducen un dipolo opuesto en un vecino no enlazado → interacción electrostática muy débil.

El efecto aumenta con grupos más polarizables y disminuyen cuando las especies involucradas se alejan, por lo que solo los átomos más próximos pueden interactuar. Contribución energética sustancial.

- **Puentes de hidrógeno**

Se forma cuando un H tiene carga parcial + y es atraído por un átomo mas electronegativo que tiene carga parcial -. Esta interacción atrae átomos distintos de H más cerca de lo que permitirían sus radios, por lo que si hay enlace entre un H y un átomo electronegativo y están separados 3.5 Å, hay puente de H.

El efecto del puente es más favorable energéticamente si el sistema es lineal.

El átomo al que se une al hidrogeno es el donante y el no unido el aceptor; si estos están cargados el puente es mas fuerte y la energía del enlace es mayor y el par de iones unidos se denomina puente salino.

- El agua actúa como donante y aceptor, su capacidad para formarlos con grupos polares tiene efectos importantes sobre la energía o la fuerza de estos puentes formados.

La fuerza de las interacciones polares débiles depende de su entorno. Si ocurre en la superficie puede haber interacciones con agua que casi iguales en energía a otras que puede haber con otros grupos en su superficie, pero si esta ocurre en el interior, la energía refleja la diferencia entre el grupo cuando tiene enlaces H y cuando no.

Energéticamente es muy desfavorables porque dejaría cargas parciales sin compensar por lo que en una cadena polipeptídica de secuencia indeterminada, los grupos que forman parte puentes de hidrógeno más comunes son los péptidos C=O y N-H; dentro de la célula no interaccionan con el agua y los forman entre si dando lugar a la estructura secundaria que estabiliza el plegado.

ESTRUCTURA SECUNDARIA

Contribuye a la estabilización total de la proteína.

La forman conformaciones regulares en las que los ángulos phi y psi se repiten regularmente.

Tres tipos de elementos son las Hélices (+ común → hélices α); Hojas o Láminas β (hay dos formas, paralelas y anti) y Giros β (cadena es forzada a invertir la dirección y hacen posible el plegamiento compacto)

HÉLICE α

Elementos mas comunes porque se generan por puentes de H locales entre los grupos C=O y N-H cercanos a la secuencia. El átomo del O del carbonilo de cada residuo n acepta un enlace H del N de la amida cuatro residuos mas adelante n+4. Todos los grupos amida polares en la hélice están unidos por enlaces de hidrógeno entre sí excepto por el grupo N-H del primer residuo en el segmento helicoidal (el extremo aminoterminal) y el grupo C=O del último (el extremo carboxi- terminal)

Resultado → estructura cilíndrica donde la pared esta formada por la columna vertebral unida por H y el exterior salpicado de cadenas laterales determinan las interacciones de la hélice con otras partes de otra cadena plegada.

Características

- Estructura compacta con valores de phi y psi entre 60°-50° y la distancia entre residuos sucesivos es de 1,5 Å.

- Suelen ser dextrógiras debido a que todos los aminoácidos son D por lo que las restricciones estéricas la favorecen (grafico de Ramachandran)
- No hay limite para su longitud y hay variantes con parámetros helicoidales algo diferentes, pero son mucho menos comunes y no son muy largas porque son menos estables
- El patrón de enl.H hace que las amidas y momentos dipolo estén en la misma dirección paralelas al eje helicoidal. Resultado → los dipolos peptídicos individuales en una se suman y forman macrodipolo con el extremo amino-terminal polarizado + y el extremo carboxi-terminal polarizado -. Aumenta al incrementar la longitud
- Tiene 3,6 residuos/vuelta corresponde a rotación 100° por residuo. Cada residuo esta separado por 4 aa en la secuencia lineal se proyectarán desde la misma cara. En muchas de ellas los residuos polares e hidrófobos se distribuyen para formar cara hidrofílica y otra hidrofóbica → hélice anfipática (aparecen en superficie, donde las caras polares están en contacto con el agua o donde los residuos polares interactúan entre si)

TRIPLE HELICE DE COLÁGENO

Hélice especial, consta de un tripéptido repetido en el que cada tercer residuo es GLICINA (GlyXY)_n donde X e Y suelen ser residuos de PROLINA, aunque a veces hay LISINA. Muchos de ellos de hidroxilan después de la traducción.

Cada hebra forma una conformación helicoidal (levógira) y tres de esas hebras se enrollan una alrededor de otra.

Efecto → crear proteína fibrosa de gran resistencia a la tracción

LÁMINA PLEGADA EN β

Cadena polipeptídica extendida, involucra enl.H entre grupos de la columna de residuos distantes entre si en la secuencia lineal, por lo que dos o + cadenas muy separadas se disponen una al lado de la otra con enl.H entre ellas.

Pueden ir en misma dirección (paralelas) o distinta (antiparalelas) o también ser mixtas (paralelas+anti).

Casi todos los grupos amida polares están unidos entre si por puentes H excepto N-H y C=O en lados exteriores de la hebras de borde. Estas forman los enl. H de varias maneras:

- Con agua si se exponen a disolvente.
- Empaquetarse contra cadenas laterales polares, hélice alfa vecina
- Con hebra de borde en otra cadena formando estructura beta extendida con + de una unidad y estabiliza la estructura cuaternaria.

Lamina paralela: siempre enterradas y nunca se producen pequeñas. Siempre son no contiguas

Laminas antiparalelas: expuestas al medio acuoso en una cara, son mas estables con sus enl.H lineales. Estas pueden tener vueltas β que conectan las hebras o pueden provenir de regiones no contiguas de la secuencia lineal. Conexión mas común entre ellas hélices alfa.

La cadena en este elemento esta casi extendida, distancia entre residuos es de 3,3 Å con total de 8 o 9 y los ángulos phi y psi están entre -130° y 125°.

Suelen tener un giro pronunciado hacia la derecha por los efectos estéricos que surgen de la configuración de L-aa. Forman estructura de barril con las hebra bordes uniéndose entre si y crear cilindro cerrado y las paralelas están menos torcidas que las antiparalelas.

Generalmente, es mas fácil identificar tramos helicoidales en secuencias que en estructura beta

Distribución de composición → pueden ser anfipáticas, casi todos los enlaces peptídicos son trans, las cadenas laterales van en direcciones opuestas y si tienen residuos hidrofílicos o hidrofóbicos se van alternan en la superficie

Preferencias: cadenas laterales largas que están en hélices, porque pueden sobresalir de la región central del cilindro helicoidal. Debido a la estructura lamina se extiende y las cadenas de *valina* y *isoleucina* que se ramifican, se acomodan fácilmente en beta antes que en alfa fuertemente enrollada.

GIRO β

Elemento más simple, involucra cuatro residuos, pero a veces solo requiere tres.

Consiste en un puente de H entre el O del carbonilo de un residuo n y la amida N-H del residuo n+3 invirtiendo dirección de cadena. El patron de enlaces no suele continuar debido a que el giro es muy cerrado. Pocas veces hay interacción entre residuos n y n+2, el giro es tenso.

Las moléculas de agua pueden donar y aceptar puentes de H si el giro no esta enterrado, estos giros se encuentran en la superficie de proteínas plegadas en contacto con medio acuoso y al invertir dirección se limita el tamaño y se vuelve compacta.

Predicción estructura

Chou-Fasman y otros métodos estadísticos, se escanea una ventana móvil de unos cinco residuos a lo largo de una secuencia y se cuentan las preferencias promedio. Luego se aplican reglas empíricas para asignar características estructurales secundarias basadas en las preferencias promedio.

Excepciones:

- PROLINA: desfavorecida tanto en hélices como en laminas al no tener N-H en el esqueleto que participe en el enlace. A veces esta en hélices alfa, interrumpiendo la red helicoidal de enlaces de H y crea una torcedura
- GLICINA: con menos frecuencia en hélices y laminas porque carece de cadena lateral y puede adoptar un rango de ángulos de torsión mas amplios.

Estos dos residuos se encuentran en el giro beta y secuencias como *Pro-Gly* o *Gly-Pro* se consideran indicativos de giro.

Estas secuencias en esta estructura no son muy estables aisladamente en soluciones acuosas. Su formación es impulsada por el entierro de grupos peptídicos cuando las cadenas laterales se asocian entre ellas y excluyen el agua.

- Hélice alfa es estable en el interior hidrofóbico de una membrana, ya que sin agua compite por enlace H, los grupos amida tienden fuertemente a formarlos. Muchas proteínas transmembrana atraviesan la membrana por esa hélice (20residuos hidrofóbicos)

- Láminas beta transmembrana forman barriles o poros, problema las hebras del borde de una hoja beta en una membrana tendrían grupos de puentes de hidrógeno insatisfechos, sin agua ni cadenas laterales polares para interactuar con ellos

PLEGAMIENTO DE PROTEÍNAS

La estructura terciaria está determinada por la secuencia de aa codificada por el gen específico de la proteína (hay veces que es asistido por otras proteínas= chaperonas)

Tenemos uno o más estadios intermedios parcialmente plegados, de forma transitoria, a lo largo de la estructura final. Estas no están bien caracterizadas como las estructuras nativas.

- Estado nativo: cuando la estructura secundaria de la proteína plegada sin el interior compacto y con interacciones débiles tienen muchos elementos

Presencia de aa hidrofóbicos alterará la estructura de puentes de H del agua sin poder hacer puentes compensadores con el solvente.

Efecto hidrofóbico: agrupamiento de cadenas laterales de varias partes de la secuencia para volverlo compacto. Para minimizar su efecto en la estructura del agua. Desde un punto de vista energético la compactación hace que se reduzca el área superficial hidrofóbica y permite que se creen van der Waals y que las cadenas laterales polares tienden a distribuirse en el exterior.

Si hay colapso tendrá consecuencia negativa → grupos polares del esqueleto forman puentes H cuando se formó, pero ahora no pueden hacerlo y dejar esto realiza una penalización energética negativa.

Como resultado mayoría de péptidos N-H y grupos carbonilo se unen por puentes de H entre sí y es la tendencia de los grupos amida a satisfacer su potencial de enlace vía interacciones propias lo que origina la ESTRUCTURA SECUNDARIA.

Algunas cadenas laterales hidrofóbicas están en la superficie en contacto con el agua lo que es desfavorable compensa con muchas de las interacciones favorables dando estabilidad neta a la proteína (normalmente aa aislados y cuando se agrupan en la superficie forman parte de un sitio de unión específico para otras moléculas, o una trama de grupos no polares que interactúan entre sí).

ESTRUCTURA TERCIARIA

Los elementos de la estructura secundaria se pliegan en un objeto compacto y casi sólido estabilizado por interacciones débiles que involucran grupos polares como no polares. De difícil descripción debido a su irregularidad, según la disposición de los elementos de la secundaria a medida que se agrupan y estos dependiendo de la secuencia pueden unirse de muchas maneras.

Efecto → crear una topografía de superficie compleja que permita que una proteína interactúe específicamente con moléculas pequeñas uniéndose en hendiduras o con otras macromoléculas con las que pueden tener regiones de topología y cargas complementarias. Los sitios de reconocimiento a menudo se forman a partir de tramos de aa que se unen a elementos de la secundaria

- Bucles: largos tramos de aa entre elementos de la secundaria que no adoptan conformaciones regulares de la columna vertebral (*no confundir con los giros de la secundaria*). Se encuentran en la superficie de las proteínas y sobresalen del solvente.

Proporcionan sitios adecuados para el reconocimiento de proteínas, unión de ligandos e interacción de membranas. Ejemplo: *sitio de unión al antígeno*, son *serie de bucles proyectados hacia arriba desde la estructura beta central y contribuyen a la estabilización del pliegue pudiendo tolerar mutaciones más fácilmente*.

Las estructuras de resolución atómica muestran una capa de moléculas de agua unidas en las superficies de todas las proteínas solubles plegadas. Las moléculas de agua forman puentes de H con la columna vertebral polar y grupos de cadena lateral dando los siguientes subgrupos en varias posiciones:

- En posiciones fijas y se observan cada vez que se determina la estructura, aquí el agua se considera parte de la estructura
- En posiciones no únicas, reflejan conjunto de interacciones agua-proteína que hidratan la superficie
- Atrapadas dentro de proteína en cavidades internas.

Los elementos individuales de la secundaria se juntan para enterrar las cadenas laterales hidrofóbicas (efecto hidrofóbico), formando molécula compacta con poco espacio en el interior. El empaquetamiento cercano de átomos maximiza tanto la probabilidad de que ocurran estas interacciones como su fuerza.

El mantenimiento de un interior compacto se logra mediante muchos modos de empaquetamiento llamados arreglos o motivos de empaquetamiento y tenemos:

- hélices entre si
- laminas entre si
- entre hélices y laminas

Que ocurre en la membrana

Una proteína cuando se inserta en una membrana se expone a un entorno completamente no polar (el interior no polar tiene 30Å de ancho y las capas del grupo de cabeza contribuyen con 5 o 10Å en cada lado del espesor total de la membrana)

Las cadenas laterales de aa que forman segmentos transmembrana suelen ser hidrofóbicas y se acomodan sin coste energético. Mientras que los grupos carbonilo y amida del esqueleto polar tendrán interacciones desfavorables con las colas lipídicas no polares, habiendo misma fuerza impulsora para que formen enlaces H entre si.

En su interior la formación de elementos secundarios alfa-helicoidales y beta-laminares son fuertemente favorecidos. Cualquier cadena lateral polar estará en:

- Superficie de proteína que sobresale de ella interactuando con grupos polares de lípidos.
- Núcleo de la parte de la proteína incrustada en ella, donde pueden interactuar entre si
- Formando superficie polar que constituye un poro o canal iónico a través de la bicapa.

Proteínas de membrana de la estructura secundaria: hélices alfa, laminas beta. No se han encontrado proteínas integrales de membrana con estructura secundaria helicoidal ni de lamina beta debido a que es muy difícil satisfacer la estructura mixta por la necesidad de formar enlaces de H en grupos polares de las hebras de borde

Tipos de desdoblamientos

- Por temperatura:

Altas temperaturas rompen las interacciones débiles estabilizan la forma plegada o nativa se vuelve desnaturalizada y las interacciones son reemplazadas por enlaces de H con agua.

El estado desnaturalizado se define empíricamente como pérdida de actividad biológica o por señales espectroscópicas características de un polipéptido desplegado.

No hay interacción o efecto que genere termoestabilidad, algunas proteínas termófilas pueden tener + puentes salinos y otras tienen + interacciones hidrofóbicas y bucles sobresalientes + cortos.

- Productos químicos:

Por el uso de desnaturalizantes químicos como urea o cloruro de guanidinio o detergentes como SDS.

Competen por enlaces H con los grupos polares de la columna vertebral y las cadenas laterales

Todos los enlaces químicos tienen cierta flexibilidad por encima del cero, ya que los átomos pueden vibrar y los grupos rotar entre sí. También encontramos suficiente energía térmica a temperaturas normales para romper las interacciones y reformar la frecuencia dado que la mayoría de las fuerzas que estabilizan el estado nativo NO son COVALENTES.

Fluctúan continuamente en torno a la conformación de equilibrio observada por RMN. Estas fluctuaciones impulsadas térmicamente varían en magnitud de pocas centésimas de Å a muchos Å para movimiento de un segmento completo de una estructura. Deben ser suficientemente grandes para que entren moléculas pequeñas en su interior. Además de ser ESENCIALES para sus funciones como unión de ligandos o catálisis, permiten que la estructura se ajuste a la unión de otra o a cambios en el sustrato mientras la reacción avanza.

MODIFICACIONES POST-TRADUCCIONALES

Fuerzas no covalentes estabilizan la estructura terciaria proporcionan un entrecruzamiento entre segmentos de la secundaria en el estado nativo, pero no son las únicas.

- Puentes disulfuro:

Más común, se forma entre dos cadenas laterales de Cys que se acerca a la terciaria como una oxidación de grupos sulfhidrilo siendo reacción redox acoplada al retículo endoplasmático.

Muy sensibles a su entorno se pueden romper por reducción comunes en proteínas que secretan.

Segunda interacción de entrecruzamiento es la coordinación de un ion metálico con varias cadenas laterales de proteínas. Se forma un quelato metálico interno entre proteína e iones mediante enlaces covalentes, su fuerza de unión varía de muy débil a muy fuerte, dependerá de la naturaleza del ion y ligandos.

No todos los ligandos los aporta la proteína. Una proteína tiene más de un sitio de unión de iones metálicos estabilizadores los más comunes de formar quelatos son el calcio y zinc aunque también el K^+ y el Na^+ .

No llevan a cabo ninguna reacción química.

Otras se estabilizan mediante unión del cofactor orgánico disociable en el sitio activo, es decir, con la parte orgánica de algún cofactor; con ion metálico que es parte de la integral de algunos cofactores; con ambos;...

Otras por la formación de enlace cruzado covalente entre cadenas laterales de aa casi siempre en el sitio activo donde contribuyen a la función química de la proteína.

Unión covalente de 1 o + cadenas de carbohidratos en 3 sitios específicos de serina, treonina, asparagina, ya que las proteínas deben colarse en la superficie o secretarse en el medio ambiente → glicosilación importante para su estabilidad.

En muchos casos su eliminación da lugar al desdoblamiento, lo que limita el uso de sistemas procariotas en la aplicación del ADN recombinante. Generalmente no altera la estructura terciaria, pero puede influir en la estabilidad térmica, estabilidad a la degradación y estructura cuaternaria.

Otras que alteran la función son:

- fosforilación y N-acetilación: reversibles y actúan como interruptores conformacionales.
- Proteólisis limitada en uno o más sitios: irreversibles, cambian la estructura y función de forma permanente, a veces genera proteína activa a partir de precursor inactivo.

Aunque muchos tipos pueden aumentar o disminuir la estabilidad de la proteína, también cumplen funciones adicionales como señalización o activación de catálisis.

Proteínas globulares

La mayoría de las proteínas lo son, sus cadenas polipeptídicas están enrolladas en formas compactas, pero también las hay fibrosas, sin 3ª estructura.

El tamaño de los pliegues no es proporcional al peso molecular.

- $PM < 20000$ → globular simple con diámetro medio de 20 a 30 Å
- $PM > 20000$ → suelen plegarse en dos o más glóbulos independientes o dominios estructurales.

DOMINIOS

Región compacta de la estructura que no siempre está formada por un segmento continuo de la secuencia de aa, y a menudo es capaz de plegarse lo suficientemente estable como para existir por sí misma en una solución acuosa.

En algunas proteínas, un dominio es interrumpido por un bloque de secuencia que se pliega en un dominio separado, después de lo cual continúa el dominio original.

Varían en tamaño, tienen alrededor de 200 aa o menos y el dominio mono catenario más grande tiene 907 residuos. El mayor nº de dominios encontrados fueron 13. Se les aplica los mismos principios de plegamiento que a las proteínas

Núcleos hidrofóbicos son esenciales para la estabilidad, su concentración de grupos en el núcleo favorece energéticamente

- Minimiza el nº de interacciones desfavorable de grupos hidrofóbicos con agua.
- Maximiza el nº de van der Waals que crean los grupos hidrofóbicos entre sí

Mientras se van determinando las estructuras se descubren más que se parecen la antiguas, es decir, el pliegue polipeptídico general será “nuevo” y la división en una serie de dominios muestra que uno de ellos es similar a la estructura 3ª.

Por lo que el número de pliegues de diferentes naturaleza es limitado, se usan repetidamente en diferentes combinaciones para diversidad de proteínas y su número es mucho más pequeño que el número total de productos génicos. Además se puede describir una proteína especificando pliegues de cada dominio y como interactúan entre sí.

- Pliegue de dominio: disposición topográfica particular de elementos secundarios que caracteriza solo a un dominio, *disposición antiparalela de 4 hélices en conjunto, sándwich beta retorcido abierto*

La mayoría de ellas se construyen de forma modular a partir de 2 o + dominios fusionados. Cada uno tiene una función bioquímica característica y su función completa determina la suma de propiedades individuales de ellos. El orden en el que aparecen no es siempre importante.

A menudo las familias estructurales no comparten función común. Hay proteínas muy parecidas que contienen un barril beta paralelo de ocho cadenas con hélices alfa circundantes con funciones totalmente diferentes, al igual que las hay que realizan la misma función no contiene los mismos dominios. Por tanto, la correlación entre estructura general y función es difusa.

Se componen de elementos de estructura secundaria que se empaquetan y forman la terciaria. Los bucles que unen las hélices y láminas generalmente se hallan en la superficie y hacen poco contactos con resto del dominio. Dentro de una familia determinada, las inserciones y deleciones siempre ocurren aquí donde la variación de la longitud tiene poco efecto sobre el empaquetamiento.

Modelos para la evolución → *shuffling* de segmentos codificados por exones para crear nuevas proteínas. Estos análisis demuestran que muchos límites de exón se encuentran en posiciones de secuencia correspondientes a bucles.

- *Shuffling*: consiste en que la inserción de un nuevo exón en un dominio existente podría cambiar sus propiedades. Es requisito indispensable que la nueva molécula se pliegue establemente y será más probable si el nuevo exón se inserta en un bucle de superficie.

Motivo: se usa de dos maneras diferentes.

1. Secuencia particular de aa que es característica de una función específica, por ejemplo el motivo de zinc es el de secuencia y a menudo estos se pueden reconocer vía un simple análisis de secuencia y cuando se detecta proporciona una fuerte evidencia de la función.
2. Conjunto de elementos de estructura 2ª contiguos con significado funcional particular o definen una porción de un dominio plegado de forma independiente. Son los motivos funcionales o estructurales, estos la mayoría de veces no se corresponden o sugieren una función

Complicaciones en la identificación de motivos estructurales

- Pueden ser discontinuos, con espacio entre sus elementos que puede variar,
- El orden en el que aparecen puede ser muy diferentes

Por tanto, muchas secuencias de aa diferentes son compatibles con la misma estructura secundaria, por lo que la similitud entre ellas no puede usarse para la identificación de estos motivos.

Familias de plegamientos de dominios en base a los elementos de estructura 2ª predominantes que tengan:

- Dominios alfa: compuestos totalmente por hélices alfa
- Dominios beta: solo una hoja beta.
- Dominios alfa/beta: hebras beta con segmentos helicoidales de conexión.
- Dominios alfa+beta: hojas beta y regiones helicoidales separadas
- Dominios *cross-linked*: poca o ninguna estructura 2ª, pero estabilizados por puentes disulfuro o iones metálicos.

Dentro de cada clase, hay muchos motivos diferentes de los mismos; cada arreglo = motivo estructural

Dominios alfa

En función de ángulos de cruce de hélice hay dos motivos comunes que interactúan:

- Conjunto de 4 helices alfa antiparalelas: cada una se cruza con la siguiente formando un ángulo de -20° , el motivo tiene un giro rodo hacia la izquierda con funciones muy diversas como transporte de oxígeno, unión ácidos nucleicos y transporte e-.
- Pliegue de la globina: bolsa de 8 helices alfa puestas entre si formando ángulos 90° y 50° . El motivo lleva a la formación de un bolsillo hidrofóbico en el interior del dominio en el que se unen grandes grupos orgánicos y organometálicos hidrofóbicos.

Dominios beta

Dominios con solo una hoja beta, giros cerrados y estructuras de bucle irregular. Estas incluyen inmunoglobulinas, que son varias enzimas como la superóxido dismutasa y proteínas que se unen a azúcares en la superficie.

Los patrones de conexiones entre hebras → laminas beta con 2 topologías distintas.

Su direccionalidad dicta que una hebra en una hoja beta antiparalela solo puede unirse a una hebra de numero impar de hebras de distancia. Las conexiones mas comunes son a hebra inmediatamente adyacente o a uno que esta a 3 hebras de distancia:

- Motivo estructural de arriba-abajo: Si en la hoja beta todas las conexiones enlazan hilos adyacentes. Ejemplo *enzima neuraminidasa del virus de la influenza, motivo estructural repetitivo de 4 hebras antiparalelas, cada motivo crea dominio "hélice-beta"*.
- Motivo llave griega: la conexión con la tercera hebra, se llama así por su similaridad al diseño de llave griega en los vasos antiguos. Ejemplo *pre-albúmina pliegue característico de las inmunoglobulinas*.

Lamina tiene a ser anfipática, con cara predominante hidrófila mientras que la opuesta son aa hidrófobos. La cara interna se empaqueta contra otra sección de lamina con las cadenas orientadas hacia adentro formando un núcleo hidrofóbico. Permite el reconocimiento de tales dominios a partir de la distribución de residuos polares y no polares en la secuencia.

Formas de construir estructuras empaquetables de laminas beta anti:

- Barriles beta: una sola lamina beta forma estructura cilíndrica cerrada en la que todas las hebras están unidas entre si por enlaces H. La ultima hebra esta unido por H a la primera y es compatible con ambos motivos estructurales.
- Sandwiches beta: dos laminas beta separadas se empaquetan cara a cara. Esta disposición difiere un barril porque las hebras de los extremos de cada segmento no están unidas entre si. Sus potenciales de puentes de H se satisfacen por interacciones con cadenas laterales o con otras moléculas de agua.
A menudo las dos laminas conforman un ángulo recto, también compatible con ambos motivos estructurales.

Dominios alfa-beta

Lamina beta compuesta por hebras paralelas o mixtas.

Las paralelas deben unirse por conexiones larga ya que el segmento de enlace tiene que atravesar la longitud de la hoja, se hacen por hélices alfa que las conectan. La conexión entre las dos cadenas beta paralelas es hacia la derecha el 95% de los casos y 5% a la izquierda. Esta regla de cruce se cumple también cuando no son adyacentes o el segmento de conexión es un bucle.

Motivos que los explican:

- Barril alfa/beta: motivo alfa-beta-alfa se repite 4 veces o +, el orden de las hebras es consecutivo. La combinación de torsion de la propia hoja beta y la disposición de la hebras → barril cerrado. Es estable cuando hay 8 hebras en el barril.
Se le llama TIM barril porque describió por primera vez la estructura 3d de una enzima (*triosafosfato isomerasa*).
El núcleo es la lamina beta paralela, rodeada de hélices alfa que la protegen del solvente, las hojas son casi completamente hidrofóbicas
 - Hélice son anfipáticas y sus lados no polares se empaquetan contra la cara hidrofóbica de un lado; el centro esta lleno de cadenas laterales hidrofóbicas de la otra cara.

Uno de los pocos plegamientos de dominio relativamente fácil de reconocer

- Giro alfa/beta o “*nucleotide-binding fold*”: estructura beta retorcida abierta parecida a silla de montar, las hebras beta paralelas forman una hoja abierta que se tuerce y forma una silla de montar. El orden de las hebras no es consecutivo porque la hoja esta en dos mitades.
 - Primera → la primera hebra beta en la secuencia primaria forma una cadena en medio de la hoja.
 - Las adicionales → van consecutivamente hacia afuera hasta un borde, después del cual la cadena regresa a la mitad de la hoja y forma la hebra que se une por puente de H al exterior de la primera hebra. Desde allí continua hasta el otro borde.

Las hélices tienden a ser anfipáticas mientras que la hoja es hidrofóbica. En su forma clásica el motivo tiene 6 hebras beta paralelas y 5 helices conectadas.

Cada vez que se produce este pliegue, la región de cambio siempre forma parte del sitio catalítico de la proteína

A diferencia de la antiparalela, las paralelas están protegidas de la interacción directa con el agua por sus revestimientos de hélices alfa

Dominios alfa+beta

Contienen hojas beta y hélices alfa, pero están segregadas. No se pueden establecer un orden especial, pero sus regiones de estructura 2ª siguen todos los principios de hélices alfa y laminas beta por separado.

Motivos helicoidales suelen ser solo grupos de hélices que interactúan. Las hojas beta tienden a ser antiparalelas o mixtas.

Dominios irregulares entrecruzados

Se encuentran en pequeñas proteínas intra y extracelulares de un solo dominio. Hay dos subclases que representan soluciones distintas al problema de estabilidad en un dominio que es demasiado pequeño para tener un núcleo hidrofóbico extenso o una gran cantidad de interacciones estructurales secundarias.

Ambas soluciones implican el entrecruzamiento de diferentes partes del dominio a través de interacciones covalentes.

- En pequeños dominios extracelulares irregulares, este entrecruzamiento se deriva de la formación de enlaces disulfuro, que generalmente involucran varios pares de cisteínas.
 - Son a menudo toxinas que inhiben las proteínas esenciales y evitan que funcionen, la mayoría son inusualmente estables a la digestión proteolítica y la desnaturalización por calor. Ejemplo *Factor de alergia al polen*
- En pequeños dominios intracelulares irregulares, los iones metálicos (generalmente zinc pero a veces hierro) forman los enlaces cruzados, conectando diferentes partes del dominio a través del ligamiento mediante cadenas laterales nucleófilas. Los encontramos en:
 - Factores de transcripción con dedos de zinc.
 - Proteínas de hierro y azufre llamadas ferredoxinas

Se han encontrado otros dominios estabilizadores con metales, aunque sus estructuras no estén bien caracterizadas como las del zinc, pueden reconocerse al nivel secuencial debido a patrones de secuencia característicos en entorno/conjunto de residuos que aportan ligandos metálicos.

ESTRUCTURA CUATERNARIA

Oligómeros: conjuntos de proteínas compuestos por más de una cadena polipeptídica. Las cadenas individuales de las que están hechos se llaman monómeros o subunidades. Estos oligómeros contienen 2,3,4,5,6,... subunidades se conocen como dímeros, trímeros, tetrameros, pentámeros,...

Los compuestos por solo un tipo de monómero reciben el prefijo homo- y los compuestos por monómeros codificados por diferentes genes son hetero-.

El número y tipo de subunidades en un conjunto, junto a sus posiciones relativas en la estructura forma esta estructura

Heteroproteínas: muy común que las subunidades se parezcan entre sí a pesar de estar codificadas por diferentes genes y no tener similitud en la secuencia. Se cree que el patrón refleja el origen de ellos en la duplicación de un gen que codifica la subunidad única de una

homoproteína ancestral. Sus ensamblajes macromoleculares se forman espontáneamente cuando hay cantidad correcta de componentes y las interacciones entre subunidades son estrechas y específicas y excluyen que las moléculas “incorrectas” interfieran con el autoensamblaje.

La superficie irregular permite que se unan a ligandos específicos y se asocien específicamente a otras. Siendo así:

- La base de formación de esta estructura.
- El “ajuste” entre superficie y otra depende de mas que de la forma.
- Enlaces débiles mantienen unidos los complejos
- La propiedad de complementariedad se observa en todas las interacciones de unión, ya sea entre proteína y una molécula pequeña o entre una proteína y otra macromolécula. Se necesita porque una interfaz molecular se compone de muchas interacciones débiles
 - o Para que sea estable durante el tiempo suficiente para funcionar, la fuerza de unión debe ser $> 15-20\text{kJ/mol}$, como las energías libres son aditivas, se puede lograr unión fuerte con muchas interacciones, además la cantidad y fuerza se maximizan si la superficie de contacto encajan muy juntas.

Por lo que garantiza que se realicen todos los contactos posibles

Ejemplo **Reptición heptada**: *Hélices que interactúan a través de cadenas laterales hidrofóbicas (a menudo leucinas) que se repiten a intervalos de siete aminoácidos en la cadena, formando la "cresta" que encajan en las hendiduras de la hélice interactante.*

No todas las interacciones intermoleculares ocurren entre superficies complementarias preexistentes, una de las superficies involucradas o ambas puede ser una región desplegada del péptido en ausencia de su pareja, y asumen su estructura plegada solo en la oligerización.

- Interacciones de reticulación : como interacción de disulfuro y iones metálicos también ocurren en algunas interfaces, los puentes salinos se encontrarían en la superficie expuesta son muy comunes. Es muy importante el efecto hidrofóbico porque la porción del área superficial de una subunidad que queda enterrada cuando se forma un oligómero es menos polar de lo que suele ser el caso en las solubles.

Existe una correlación aproximada entre la estabilidad del oligómero y el tipo de interacción que predomina en la interfase. Los oligómeros muy estables tienden a enterrar una gran superficie hidrofóbica entre subunidades, mientras se ensamblan y desensamblan mas fácilmente parecen usar interacciones polares

La densidad de empaquetamiento en la interfase entre subunidades por lo general se aproxima a la del interior de una proteína monomérica.

- Las del agua están presentes con mas frecuencia en la interfase de subunidades que en el interior de molécula. Puede que estas sean esenciales para preservar las estructuras de las unidades de monómero parcialmente plegadas antes de la agregación.

Los potenciales de puentes de H en la interfase entre las subunidades deben satisfacerse tal como lo hacen en cualquier proteína plegada, muchos de los puentes se encuentran entre subunidades y el resto con aguas interfaciales.

La unidad repetitiva a partir de la que se construye el complejo simétrico puede ser un monómero o una asociación de cadenas diferentes, por ejemplo la *hemoglobina*

La unidad asimétrica a partir de la cual se construye el complejo simétrico se llama protómero.

Si la unidad tiene un segundo conjunto de regiones de unión complementarias, B y B' además de A y A' puede asociarse para formar complejos mas elaborados.