

3

Bases Macromoleculares de la Constitución Celular

Temario

- *La estructura y el funcionamiento de las células dependen de macromoléculas formadas por la polimerización de monómeros.*
 - *La molécula del agua es un dipolo con características especiales que la hacen indispensable para la vida.*
 - *Las proteínas son polímeros de 20 aminoácidos diferentes.*
 - *La estructura de las moléculas de las proteínas presenta 4 niveles de organización: primario, secundario, terciario y cuaternario.*
 - *El metabolismo celular se debe a la actividad de las enzimas.*
 - *Por la acción del frío, se puede bajar o detener temporalmente la acción de las enzimas.*
 - *Agrupadas en secuencia, muchas veces unidas a las membranas, las enzimas actúan de modo más eficiente.*
 - *Las isoenzimas son moléculas ligeramente distintas que actúan sobre el mismo substrato, sin embargo con velocidades diferentes.*
 - *Los ácidos nucleicos (DNA y RNA) son polímeros de nucleótidos.*
 - *Existen tres tipos de RNA, con funciones diferentes: RNA de transferencia, RNA mensajero y RNA ribosomal.*
 - *El RNA puede tener acción enzimática.*
 - *La hibridación molecular permite caracterizar bien a las moléculas de RNA y de DNA.*
 - *Los lípidos son componentes importantes de las membranas celulares y forman reservas nutritivas.*
 - *Los polisacáridos están presentes principalmente en las reservas energéticas (glucógeno, almidón), en las glicoproteínas y en los glicosaminoglicanos.*
-

Las moléculas que constituyen las células están formadas por los mismos átomos encontrados en los seres inanimados. Sin embargo, en el origen y evolución de las células, algunos tipos de átomos fueron seleccionados para la constitución de las biomoléculas. El noventa y nueve por ciento de la masa de las células está formada por **hidrógeno, carbono, oxígeno y nitrógeno**, mientras que en la corteza terrestre, los cuatro elementos más abundantes son **oxígeno, silicio, aluminio y sodio**. Excluyéndose el agua, existe en las células un predominio absoluto de los compuestos de carbono, extremadamente raros en la corteza de la Tierra. Por lo tanto, la primera célula y las que de ella evolucionaron seleccionaron los compuestos de carbono (compuestos orgánicos), cuyas propiedades químicas son más adecuadas a la vida.

Las células están constituidas de macromoléculas poliméricas

Es característica de la materia viva, la presencia de moléculas de alto peso, o **macromoléculas**, que son **polímeros** constituidos por la repetición de unidades menores, llamadas **monómeros**. Los polímeros formados por monómeros semejantes son llamados **homopolímeros**. Es el caso del glucógeno, que está constituido exclusivamente por moléculas de glucosa. Los **heteropolímeros** están constituidos por monómeros diferentes. Los ácidos nucleicos, por ejemplo, son heteropolímeros.

Las macromoléculas existen en las células con gran diversidad, no sólo en cuanto a su tamaño, sino principalmente en relación a la variedad de sus monómeros constituyentes. Los polímeros encontrados en los seres vivos (**biopolímeros**) serán aquí estudiados en cuanto a su constitución y en relación a su importancia biológica en los procesos de interacción de estas macromoléculas. Los biopolímeros de mayor

importancia son las proteínas, constituidas por aminoácidos; los polisacáridos, que son polímeros de monosacáridos; y los ácidos nucleicos (DNA y RNA), formados por nucleótidos.

Además de los polímeros, moléculas menores como lípidos, agua, sales minerales y vitaminas tienen un papel relevante en la constitución y funcionamiento de las células.

La diversidad estructural y funcional de un polímero depende de la variedad de sus monómeros. En la constitución de las proteínas participan 20 aminoácidos diferentes, mientras que los ácidos nucleicos están formados por apenas cinco tipos de nucleótidos (monómeros). Por eso, las proteínas tienen un mayor polimorfismo y en consecuencia, una mayor diversidad funcional que los ácidos nucleicos.

Frecuentemente, macromoléculas de diferentes tipos se asocian para formar complejos como las lipoproteínas, glicoproteínas y proteoglicanos (proteínas combinadas con polisacáridos) y las nucleoproteínas (ácidos nucleicos más proteínas).

La molécula de agua es asimétrica

Como ha sido visto en el Cap. 1, las primeras células surgieron de la masa líquida que cubría la mayor parte de la superficie terrestre hace billones de años. Probablemente al azar y a partir de moléculas orgánicas originadas antes de la existencia de cualquier ser vivo (origen pre-biótico), se formaron micelas que evolucionaron por el aparecimiento de una membrana, originándose así las primeras células. El origen de las células está asociado al agua de tal forma que ésta es la molécula más abundante en todas las células, sin excepción. Las moléculas de proteínas, lípidos y polisacáridos varían de una célula a otra, pero todas las células contienen agua. Este compuesto no es una molécula inerte, con la única función de llenar espacios;

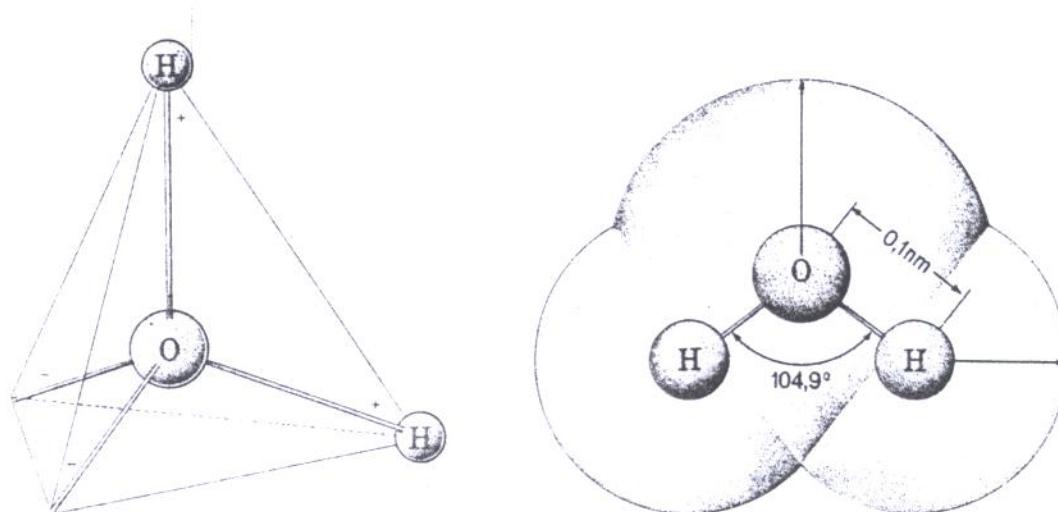


Fig. 3.1. A la izquierda, un esquema del dipolo del agua; a la derecha, la forma tridimensional de su molécula.

al contrario, el agua y sus iones influyen poderosamente en la configuración y propiedades biológicas de las macromoléculas.

La molécula de agua es morfológica y eléctricamente **asimétrica**. Los dos átomos de hidrógeno forman con el del oxígeno un ángulo que en promedio está estimado en $104,9^\circ$. Por lo tanto, a pesar de ser representada por la fórmula H-O-H, la molécula de agua no es un bastón recto. Por otro lado, debido a la fuerte atracción ejercida por el núcleo del oxígeno sobre los electrones, esta molécula es relativamente positiva, en el lado de los dos hidrógenos, y negativa en el lado del oxígeno; es decir, la molécula de agua es un **dipolo**. En el espacio, debido a la forma de las órbitas del hidrógeno y oxígeno, las cargas eléctricas están distribuidas de tal forma que el oxígeno ocupa el centro y los hidrógenos (relativamente positivos) ocupan los dos extremos de un tetraedro, según lo muestra la Fig. 3.1.

Por su naturaleza dipolar, el agua es uno de los mejores solventes conocidos. El disuelve muchas sustancias cristalinas y otros compuestos iónicos porque su tendencia a combinarse con iones negativos o positivos es habitualmente mayor que la tendencia de que los iones se combinen entre sí.

Por ejemplo, los cristales de NaCl se disuelven con facilidad en agua porque, a pesar de la atracción electrostática entre el Cl^- y el Na^+ del cristal, cada uno de estos iones es atraído aún más fuertemente por el dipolo del agua. Así, el cristal se rompe, formándose los iones hidratados de Cl^- y Na^+ , altamente estables.

El grado de afinidad por el agua tiene un papel relevante en las propiedades biológicas de las macromoléculas

Los polímeros celulares contienen en su estructura grupos químicos que presentan afinidad por el agua (**grupos polares**) o que no presentan afinidad por el agua (**grupos apolares**), repeliéndola. Los principales grupos polares son carboxilo, hidroxilo, aldehido, sulfato y fosfato. Moléculas con un alto contenido de grupos polares son frecuentemente solubles en agua y son llamadas **hidrofílicas** (*hidro*, agua y *filos*, amigo). La mayoría de los hidratos de carbono, los ácidos nucleicos y muchas proteínas son hidrofílicas. En contraposición existen moléculas sin o con pocos grupos polares y que en consecuencia son insolubles en agua. Son las moléculas **hidrofóbicas** (*hidro*, agua y *fobos*, aversión). Como ejemplo pueden ser mencionados los lípidos, la parafina y los aceites. Estas moléculas son repelidas por el agua.

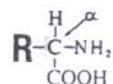
Existen también macromoléculas generalmente alargadas, que presentan una región hidrofílica y otra hidrofóbica. Son las moléculas llamadas **anfipáticas**, dotadas de la capacidad de asociarse simultáneamente al agua y a compuestos hidrofílicos por uno de sus

extremos, y a compuestos hidrofóbicos, por el otro extremo. Las moléculas anfipáticas ejercen importantes funciones biológicas y están presentes en todas las membranas celulares.

El análisis de fuerzas responsables de la cohesión de los monómeros en los biopolímeros demostró que existen dos tipos generales de fuerzas que pueden ser agrupadas de acuerdo a su intensidad. Esta intensidad, a su vez, puede ser evaluada por la energía necesaria para que se realicen o se deshagan uniones (Tabla 3.1.). De un lado están los **enlaces fuertes**, llamados **covalentes**. Son resultantes de la superposición de las órbitas externas de las moléculas y son enlaces fuertes y estables que consumen altas cantidades de energía para su realización. Es el tipo de enlace que se observa en las uniones peptídicas entre los aminoácidos y que sólo pueden ser deshechas por procedimientos drásticos como la hidrólisis en ácido fuerte a alta temperatura.

▼ Tabla 3.1. Energía necesaria para romper algunos enlaces moleculares de interés biológico.

Tipo de enlaces		Energía (Kcal/mol)
Enlaces covalentes (fuertes)	$\text{H}_3\text{C}-\text{CH}_3$	88 (simple)
	$\text{C}=\text{O}$	170 (doble)
	$\text{N}\equiv\text{N}$	226 (triple)
Enlaces no-covalentes (débiles)	-Puente de H	5
	-Enlace iónico	5
	-Interacción hidrofóbica	1-3



▲ Fig. 3.2. Fórmula general de los alfa-aminoácidos.

Estos enlaces necesitan alrededor de 100 kcal por mol para formarse. Por otro lado, están los **enlaces débiles**, de naturaleza variable, que se forman con un pequeño gasto energético y pueden ser deshechos por procedimientos suaves como calentamiento moderado y alteración de la concentración iónica del medio. Los principales enlaces débiles son: los **puentes de hidrógeno**, las **uniones electrostáticas** y las **interacciones hidrofóbicas**. Los **puentes de hidrógeno** ocurren debido al uso en común de un átomo de hidrógeno por radicales diferentes. En el caso de las proteínas, esto tiene lugar entre el nitrógeno y el carbonilo de uniones peptídicas diferentes (Fig. 3.6.). Los puentes de hidrógeno son también importantes en la unión entre las dos cadenas del DNA, unión que ocurre debido a puentes que se establecen entre las dos bases (Fig. 3.19.). Las **uniones electrostáticas** son uniones que se forman cuando un grupo ácido se une a uno básico. Son ejemplos

la unión entre aminoácidos básicos y ácidos, entre colorantes ácidos (generalmente con grupos sulfónicos: SO_3^-) y proteínas básicas de los tejidos o, entre los glicosaminoglicanos (que contienen grupos sulfato: SO_4^{2-}) y proteínas básicas. Las **interacciones hidrofóbicas** ocurren entre moléculas apolares que son comprimidas unas contra las otras debido a la repulsión que experimentan del agua que las envuelve. No es por lo tanto propiamente un **enlace**, como ocurre con los puentes de hidrógeno o uniones electrostáticas, siendo más adecuadamente definida como una **interacción**. El ejemplo más importante de la interacción hidrofóbica en biología tiene lugar en las membranas de la célula (ver Cap. 5), donde las dos capas de lípidos se asocian principalmente debido a este tipo de interacción.

La importancia biológica de estas interacciones y enlaces de baja energía reside en el hecho de que ellas le permiten a la célula alterar, armar y desarmar estructuras supramoleculares como, por ejemplo, los microtúbulos y microfilamentos, aumentando así enormemente su versatilidad y eficiencia funcional sin gran gasto energético. Si las interacciones de las macromoléculas fueran realizadas solamente con enlaces fuertes, la estructura celular sería estable, y las modificaciones de esta estructura implicarían un gasto de energía tan alto que la actividad celular sería imposible.

Las proteínas son polímeros de aminoácidos

Las proteínas son macromoléculas que contienen un número variable de L-aminoácidos, unidos por enlaces peptídicos (Figs. 3.2. y 3.3.). Son, por lo tanto, polímeros de aminoácidos.

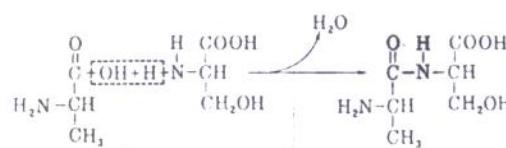


Fig. 3.3. Formación de un enlace peptídico, indicado en sombreado, por la unión de dos aminoácidos y la formación de una molécula de agua.

Las cadenas así constituidas se llaman cadenas polipeptídicas y, al alcanzar cierta dimensión, reciben el nombre de proteína. Es común considerar proteínas los polipéptidos con peso molecular a partir de 6.000 dáltons.

Aunque existen más de 150 aminoácidos, sólo 20 de ellos se encuentran en las proteínas (Fig. 3.4.). Estos 20 aminoácidos celulares son todos de estructura L, lo que refuerza la hipótesis presentada en el Cap. 1, según la cual todas las células actualmente existentes derivan de una célula ancestral única. La célula ancestral habría aprovechado los L-aminoácidos, siendo la capacidad de utilizarlos transmitida a todas las células descendientes.

Los aminoácidos encontrados en las proteínas poseen en común la presencia de un grupo NH_2 (amino) y un grupo COOH (carboxilo) unidos al carbono alfa de la molécula (Figs. 3.2. y 3.3.). Con excepción de la prolina y la hidroxiprolina, que contienen el grupo NH (imino) en sustitución al grupo NH_2 . En realidad, la prolina y la hidroxiprolina son iminoácidos (Fig. 3.4.), pero se incluyen entre los aminoácidos por presentar propiedades semejantes a éstos.

Las proteínas pueden clasificarse en dos categorías. Las **proteínas simples**, cuyas moléculas están formadas exclusivamente por aminoácidos, y las **proteínas conjugadas**, que se caracterizan por la presencia, en sus moléculas, de una parte no proteica denominada **grupo prostético**. Entre las proteínas conjugadas pueden ser mencionados los siguientes ejemplos: **nucleoproteínas**, con grupo prostético constituido por ácidos nucleicos; **glicoproteínas**, que contienen polisacáridos; **lipoproteínas**, que contienen lípidos; **fosfoproteínas**, cuyo grupo prostético contiene fósforo; **hemoproteínas** (catalasas, peroxidasa y citocromos) conteniendo el grupo hem, que es una ferroporfirina; **flavoproteínas** conteniendo riboflavina en su grupo prostético y, finalmente **metaloproteínas**, en las cuales el grupo prostético es un metal (insulina y anhidrasa carbónica, que contienen zinc), o es un compuesto inorgánico que contiene metal, como por ejemplo, la ferritina, cuyo grupo prostético es el $\text{Fe}(\text{OH})_3$.

Los grupos NH_2 y COOH son ionizables, lo que les confiere carga eléctrica a las proteínas y condiciona su migración en un campo eléctrico. Según existe predominio de grupos NH_2 o COOH , las proteínas son básicas o ácidas, respectivamente. Por ejemplo, las histonas, ricas en lisina y arginina (aminoácidos con dos grupos NH_2 por molécula), son eléctricamente positivas en pH 7, por lo tanto, básicas y por eso se combinan con los grupos fosfato del ácido desoxirribonucleico (DNA) para formar nucleoproteínas.

La forma y el papel biológico de las moléculas proteicas dependen principalmente de la secuencia de aminoácidos

La forma tridimensional de la molécula de una proteína depende sobre todo de la secuencia de aminoácidos y del número de cadenas polipeptídicas que constituyen su molécula. Existen proteínas cuya molécula tiene apenas una cadena polipeptídica, mientras que otras poseen múltiples cadenas, en general unas diferentes de las otras. Por ejemplo, la hemoglobina está constituida por dos cadenas alfa (iguales entre sí) y dos cadenas beta (también iguales entre sí).

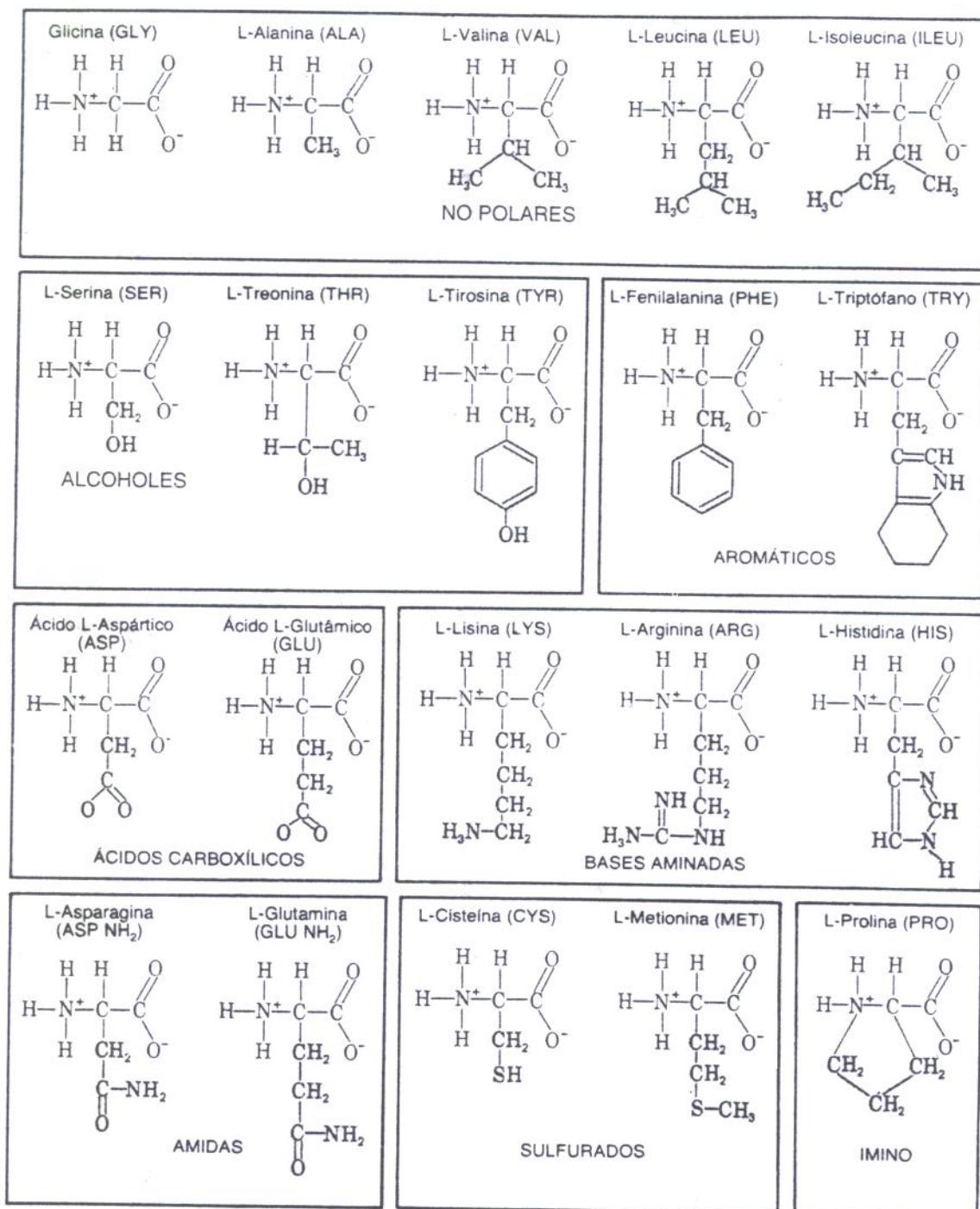


Fig. 3.4. Moléculas de los 20 aminoácidos encontrados en las proteínas. Las cadenas laterales, responsables de ciertas propiedades químicas de los aminoácidos, están indicadas por el sombreado.

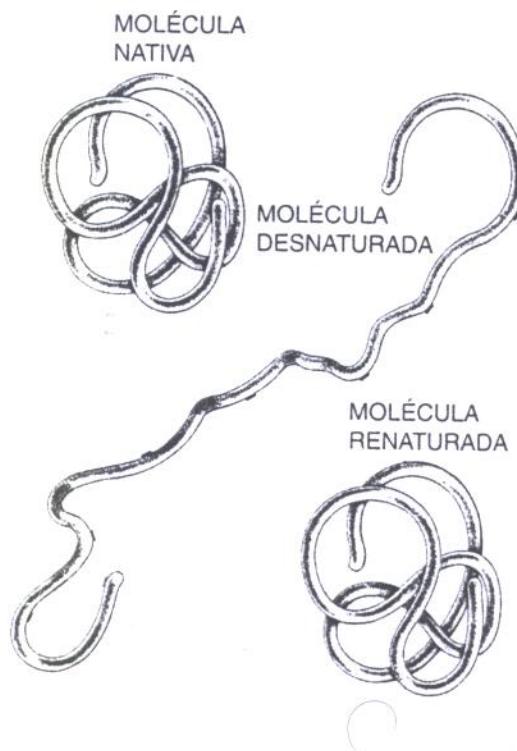
Desde el punto de vista biológico, el conocimiento de la forma tridimensional de las moléculas proteicas en estado nativo (configuración nativa) es muy importante, ya que es así que dentro de la célula las moléculas se integran unas con otras. Se llama configuración nativa a la forma tridimensional que una molécula presenta en las condiciones de pH y temperatura existentes en los organismos vivos (Fig. 3.5.).

La estructura de las moléculas proteicas es mantenida por las siguientes fuerzas de estabilización:

- 1) enlace peptídico, ya explicado, que es resultante del enlace covalente.
- 2) interacción hidrofóbica;
- 3) puentes de hidrógeno;
- 4) enlaces disulfuro o S - S, que son enlaces covalentes entre moléculas del aminoácido cisteína.

El número y la secuencia de los residuos aminoacídicos en una cadena polipeptídica determinan la **estructura primaria** de la proteína. La estructura primaria es mantenida por los enlaces peptídicos, pero si éstos fueran las únicas uniones existentes, las moléculas de las proteínas se doblarían al azar, irregularmente.

Sin embargo, el estudio de las propiedades de las moléculas proteicas, en estado nativo, revela que ellas están constituidas por cadenas polipeptídicas plegadas de forma bastante regular y constante para cada tipo de proteína.



▲ Fig. 3.5. Arriba a la izquierda aparece una molécula proteica globosa, en su configuración nativa. Al centro, la misma molécula, desnaturalizada. Como la desnaturalización es frecuentemente reversible, la molécula puede volver a su forma inicial, como muestra la figura abajo a la derecha. Las pequeñas bandas negras representan los radicales que se unen para establecer la configuración nativa de la proteína.

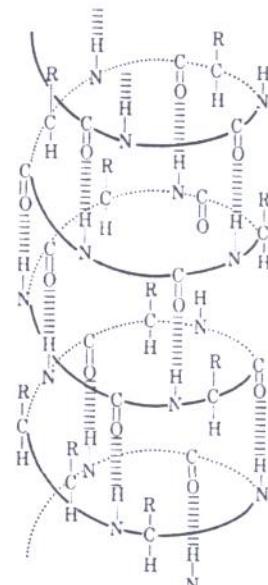
Las cadenas se doblan y se enrollan de un modo complejo, para constituir una disposición espacial definida y típica de la proteína conocida como su **estructura secundaria**. Una estructura secundaria muy frecuente entre las proteínas globulares que forman la mayoría de las proteínas de la célula es la **alfa-hélice** (Fig. 3.6.). Esta configuración se debe a la formación de puentes de hidrógeno entre aminoácidos de una misma cadena, la cual adquiere la forma de un tirabuzón o hélice.

La cadena que contiene la estructura secundaria se dobla nuevamente sobre sí misma, formando estructuras globosas o alargadas, adquiriendo así una **estructura terciaria** (Fig. 3.7.).

Muchas proteínas tienen moléculas constituidas por varias cadenas peptídicas, que pueden ser iguales o diferentes. Estas cadenas se llaman **subunidades** o

monómeros. El modo específico en que estas subunidades se juntan para formar la molécula proteica tiene el nombre de **estructura cuaternaria** de la proteína (Fig. 3.8.). Esta estructura es mantenida gracias a la cooperación de numerosos enlaces químicos débiles, como los puentes de hidrógeno. A través de la organización proteica cuaternaria, se forman diversas estructuras de gran importancia biológica, como los microtúbulos, microfilamentos, capsómeros de los virus y los complejos enzimáticos que serán descritos más adelante, en este mismo capítulo. También las fibras colágenas (Fig. 3.9.) encontradas en el espacio extracelular del tejido conjuntivo están constituidas por la agregación de cadenas polipeptídicas de tropocolágeno.

Se dice que una proteína es **globular** cuando su molécula tiene una relación longitud-ancho menor que 10:1. La gran mayoría de las proteínas de las células es globular, como la hemoglobina, la mioglobina, la hemocianina, las proteínas con actividad enzimática y las proteínas de las membranas celulares. Cuando la relación longitud-ancho es mayor que 10:1, la proteína es denominada **fibrosa**.



▲ Fig. 3.6. Estructura secundaria (alfa-hélice) de una proteína. Los puentes de hidrógeno entre los aminoácidos están representados por guiones paralelos.

Entre las proteínas fibrosas intracelulares, la **queratina** es la mejor estudiada (Fig. 3.10.). La proteína más abundante en el cuerpo de los mamíferos es el **colágeno**, proteína fibrosa extracelular que constituye las fibras colágenas ya mencionadas.

Por lo que ha sido explicado sobre la estructura de las proteínas en nivel primario, secundario, terciario y cuaternario, se puede concluir que la organización estructural de esas moléculas depende exclusivamente de la secuencia de aminoácidos, es decir, de la estructura

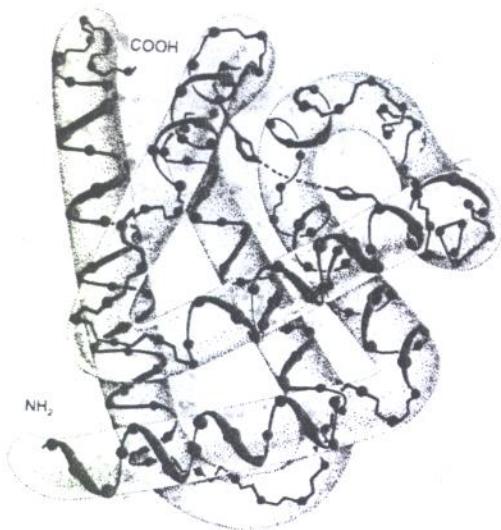


Fig. 3.7. Dibujo esquematizando las estructuras primaria, secundaria y terciaria de una proteína. En la cinta negra están representados los residuos aminoacídicos (estructura primaria) y la hélice formada por ellos (estructura secundaria). Los pliegues de la molécula demostradas por su contorno externo, en punteado fino, constituyen la estructura terciaria.

primaria. Una vez sintetizada por la célula, una molécula proteica con determinada secuencia de aminoácidos (estructura primaria), automáticamente y sin gasto de energía, adoptará su estructura secundaria, terciaria y cuaternaria, como consecuencia de la propia disposición de los aminoácidos a lo largo de la molécula.

A través de las enzimas, los genes controlan el metabolismo celular

Las enzimas son moléculas proteicas dotadas de la propiedad de acelerar intensamente determinadas reacciones químicas, tanto en el sentido de la síntesis como en el de la degradación de moléculas. Son ellas las principales responsables de la eficiencia de la maquinaria química intracelular. Gracias a las enzimas, las células ejecutan, en milésimas de segundo, la síntesis de moléculas que *in vitro*, sin enzimas necesitarían de semanas de trabajo para ser sintetizadas. Además de la rapidez, las síntesis enzimáticas presentan un alto rendimiento, es decir, al final de la reacción, se genera sólo el producto deseado o algunos otros productos, pero todos útiles a las células.

Al contrario, en las síntesis de laboratorio, no enzimáticas, se forman además de las moléculas deseadas, numerosos subproductos, originándose así una mezcla de la cual la molécula deseada debe ser separada. Si eso acontece en el medio intracelular, habría una concentración de productos indeseables que perturbaría el metabolismo.

Siendo catalizadores tan eficientes, las enzimas han

sido usadas para la síntesis *in vitro*, tanto en el laboratorio experimental como en la producción industrial.

Las enzimas son proteínas y, como tales, producidas bajo el control del DNA. Ellas son las efectoras de la información genética contenida en el DNA y es a través de ellas que el DNA dirige todo el metabolismo celular. Aunque prácticamente todas las moléculas enzimáticas sean proteínas, existen algunos RNAs que poseen actividad enzimática, constituyendo una excepción a la regla general.

Acción enzimática. El compuesto que sufre la acción de una enzima se llama **sustrato**. La molécula de la enzima posee uno o más **centros activos**, a los cuales el sustrato se combina para que sea ejercida la acción enzimática. La forma tridimensional de la enzima es importante para su actividad, pues los centros activos son regiones cuya conformación tridimensional es complementaria a la molécula del sustrato. Esta estereocomplementariedad es esencial para que se verifique el encaje tridimensional preciso entre la enzima y sus sustratos (Fig. 3.11.); a través de ese encaje la enzima reconoce sus sustratos y se une con mayor o menor intensidad (afinidad) a ellos.

La especificidad de las enzimas es muy variable. Algunas actúan exclusivamente sobre un tipo de molécula, no atacando siquiera su estereoisómero. Por ejemplo, la deshidrogenasa láctica es específica para el L-lactato, y la D-aminoácido-oxidasa solamente ataca los D-aminoácidos. Por otro lado, hay enzimas que actúan sobre varios compuestos con alguna característica estructural común. Es este el caso por ejemplo de las fosfatases, que hidrolizan diversos ésteres del ácido fosfórico.

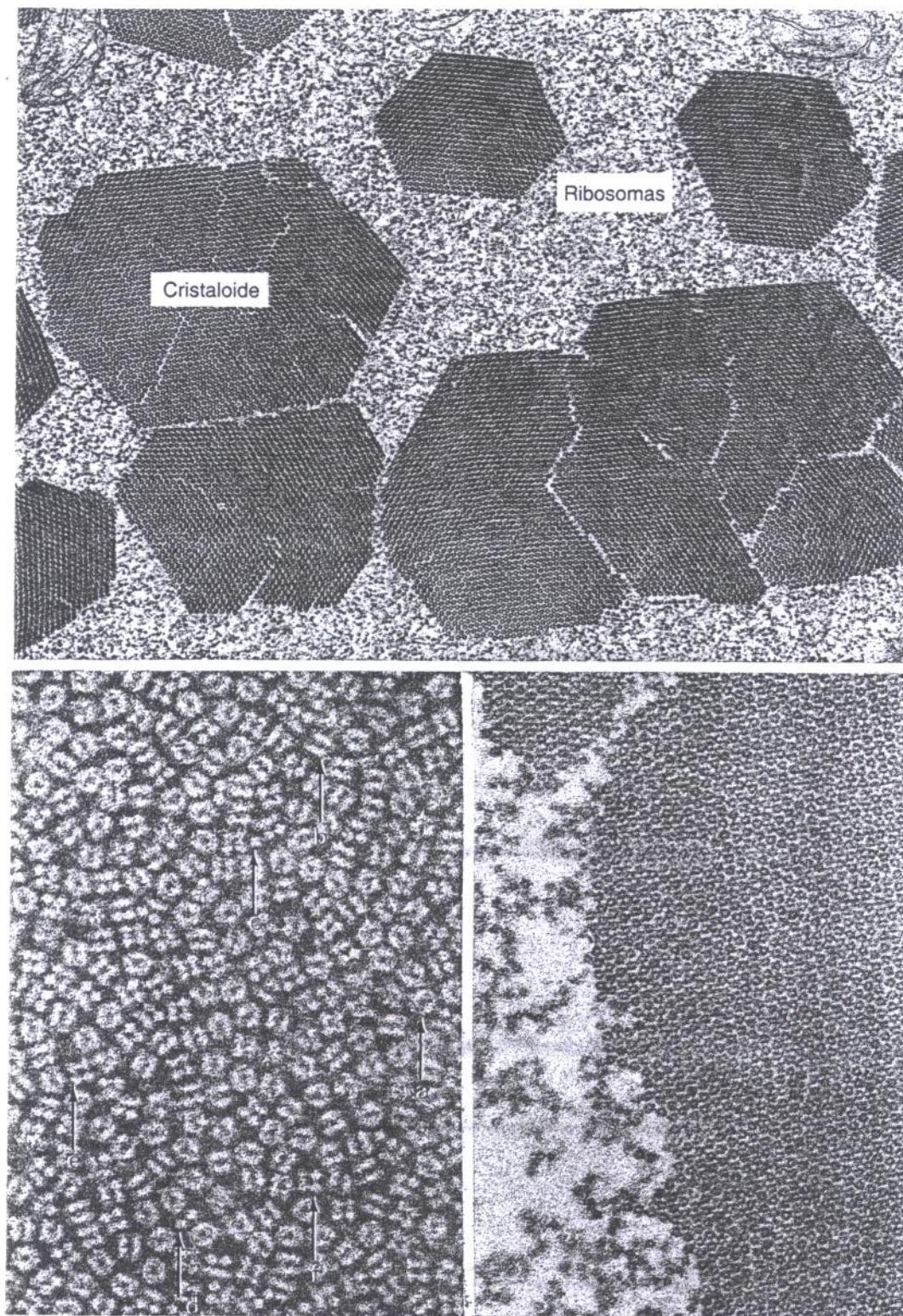
Para que ejerzan su actividad, muchas enzimas necesitan de **co-factores**, que pueden ser un ion metálico o una molécula. Cuando el co-factor es una molécula, recibe el nombre de **coenzima**. Al contrario de la propia enzima, que siendo proteína es desnaturalizada e inactivada por temperaturas muy elevadas, en general las coenzimas son termoestables.

Algunos co-factores están ligados de forma íntima y permanente a la molécula de la enzima, mientras que otros se unen a ella temporalmente, durante la acción enzimática. El complejo formado por la enzima con el co-factor, independientemente del grado de unión química entre ellos, se llama **holoenzima**. Removiendo el co-factor, queda la parte proteica de la enzima, que es entonces inactiva y se llama **apoenzima**.

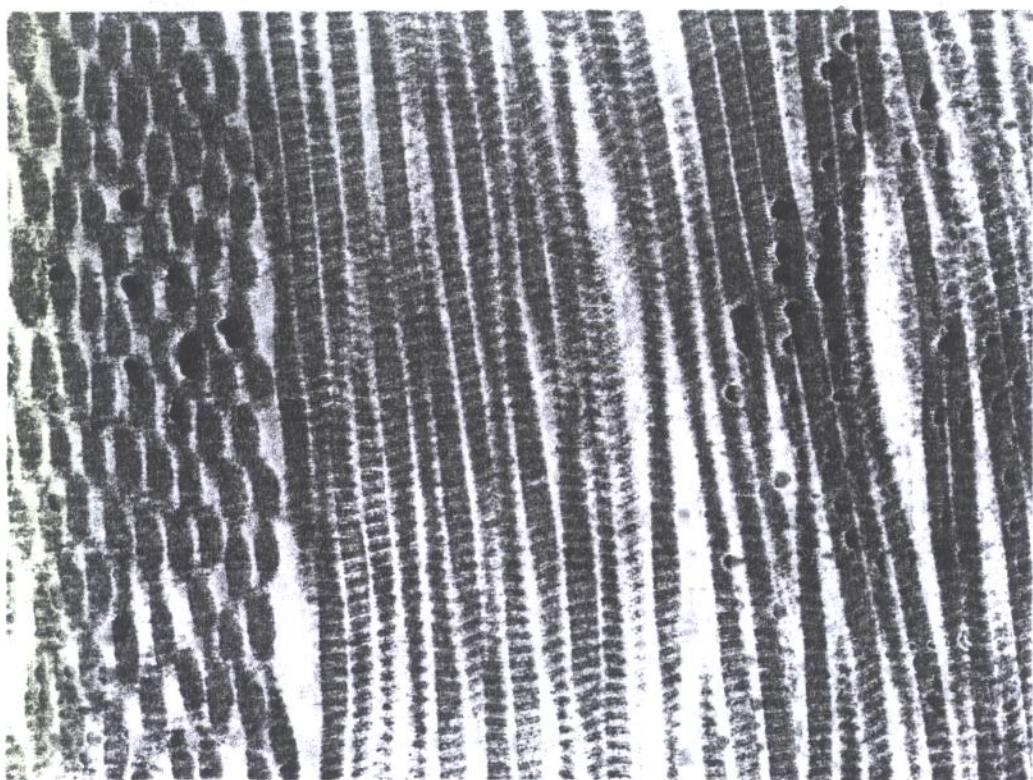
Cuando el co-factor está fuertemente ligado a la molécula de la apoenzima, constituye un grupo prostético y la enzima debe ser considerada una proteína conjugada.

La parte activa de muchas coenzimas contienen vitaminas del grupo B, como riboflavina, tiamina, ácido pantoténico y nicotinamida.

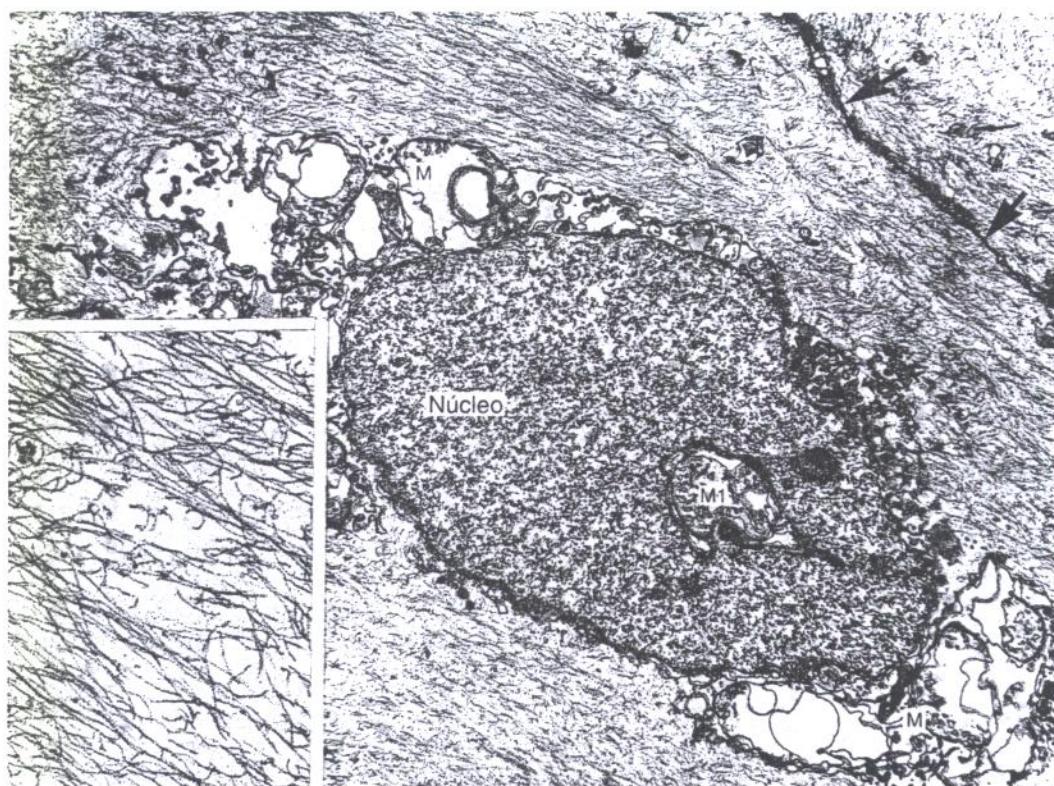
Nomenclatura. Muchas enzimas son designadas por el nombre del sustrato sobre el cual actúan más el sufijo



▲ Fig. 3.8. Estas microfotografías electrónicas muestran un ejemplo de la estructura cuaternaria de una proteína, la hemocianina, presente en la sangre de *Limulus polyphemus*. Arriba, corte de la célula productora de hemocianina, cuyas moléculas se agrupan formando cristaloides (43.000X). Abajo a la derecha, con un mayor aumento (80.000X) las moléculas componentes de los cristaloides (hemocianina) son visibles. A la izquierda, con un aumento aún mayor (210.000X) se observa claramente que la molécula de hemocianina es un tetramero que aparece con aspectos diferentes según la posición en que es observado (a y b). Su subunidad o monómero está indicada en c. Observar aún dímeros (d) y los tetrameros con sus cuatro monómeros globulares bien visibles (e y f). (Microfotografías de W.H. Fahrenbach, Journal of Cell Biology, 44:445, 1970. Reproducción autorizada.)



▲ Fig. 3.9. Microfotografía electrónica del tejido conjuntivo de la piel humana. Las estructuras alargadas son fibrillas colágenas constituidas por la agregación de moléculas de tropocolágeno (proteína fibrosa). Las fibrillas son estructuras proteicas cuaternarias cuyo monómero es el tropocolágeno. A la izquierda, cortes oblicuos de estas fibrillas. Aumento: 33.000X.



▲ Fig. 3.10. Microfotografía electrónica de célula epidérmica de un pez. Las flechas indican el límite entre las dos células. Observar los numerosos filamentos de queratina (proteína fibrosa), M, mitocondria. M1, mitocondria en pliegue (invaginación) de la envoltura nuclear. Aumento: 10.000X. La microfotografía menor, a la izquierda, muestra los filamentos de queratina aumentados 200.000 veces.

▼ Tabla 3.2. Principales clases de enzimas según la Nomenclatura de Comisión de Enzimas, Unión Internacional de Bioquímica.
En la clasificación completa, cada clase de este cuadro está subdividida.

Clase	Nombre	Catalizan	Ejemplos
1	Oxirreductasas	Reacciones en las cuales un compuesto es reducido y otro, oxidado.	Deshidrogenasas, oxidases, peroxidases.
2	Transferasas	Transferencia de grupos químicos de una molécula a otra.	Transaminasas, transmetilasas.
3	Hidrolasas	Rompimiento de moléculas con adición de agua.	Peptidasas, fosfatadas, esterasas.
4	Liasas	Eliminación de un grupo químico, originando un enlace doble en el sustrato; o adición de un grupo a un enlace doble que es así quebrado.	Descarboxilasas, desaminasas.
5	Isomerasas	Reorganizaciones intramoleculares que modifican la estructura tridimensional del sustrato.	Racemasas, epimerasas.
6	Ligadas	Unión de dos moléculas, con hidrólisis de ATP u otro compuesto rico en energía.	Acetil-coenzima A sintetasas, piruvato carboxilasa.

asa. Por ejemplo, el **ácido ribonucleico** (sustrato) es hidrolizado por una enzima que recibió el nombre de **ribonucleasa**. Otras enzimas, incluso algunas entre las mejor estudiadas, son conocidas por nombres que no siguen a esa regla. Son ejemplos la **pepsina** y la **tripsina**, que hidrolizan proteínas.

La Comisión de Enzima de la Unión Internacional de Bioquímica adoptó una clasificación de las enzimas en seis categorías principales (Tabla 3.2.), cada una de ellas con subdivisiones, y estableció normas para la designación más precisa e informativa de cada enzima. Por ejemplo, por la nomenclatura de la Comisión, la enzima en general llamada hexoquinasa y que cataliza la reacción $\text{ATP} + \text{glucosa} \rightarrow \text{glucosa-6-fosfato} + \text{ADP}$ debe ser llamada **ATP: hexosa-fosfotransferasa**. Esta última denominación indica más precisamente la acción de la enzima, que es transferir un grupo fosfato del ATP a una hexosa (Fig. 3.11.). Sin embargo, la nomenclatura internacional es poco usada en la práctica, porque las enzimas reciben designaciones muy largas, en comparación con sus nombres comunes.

La actividad enzimática es muy sensible a la acción de diversos factores

La actividad de las enzimas, muy sensible a diversos agentes químicos y físicos, es capaz de ser inhibida de varias maneras. La inhibición puede ser **competitiva** o **no-competitiva**.

Entre los factores que afectan la actividad enzimática llaman la atención la temperatura, concentración del sustrato y la presencia de activadores o inhibidores que alteran la velocidad de actuación de las enzimas.

El efecto de la temperatura tiene gran importancia práctica, toda vez que el frío deprime la actividad enzimática, retardando los procesos de lisis celular y el deterioro de muestras de tejidos, sangre, orina, etc.

utilizadas en exámenes de laboratorio. En el trasplante de órganos es común el uso de temperaturas bajas para una mejor preservación de los tejidos que serán transplantados.

Temperaturas muy bajas obtenidas generalmente con el uso del nitrógeno líquido (punto de ebullición - 195,8°C) son utilizadas de rutina en la preservación de cultivos de tejidos, muestras de tejidos para un posterior análisis bioquímico, semillas de plantas, espermatozoides para inseminación artificial y embriones para trasplante.

1. **Inhibición competitiva.** Cuando una sustancia resistente a la acción enzimática, sin embargo de molécula muy parecida a la del sustrato de la enzima, se fija a los centros activos de la molécula enzimática, se dice que la inhibición es **competitiva**. En este caso, el inhibidor compite con el sustrato para localizarse en el centro activo, y el grado de inhibición está influenciado por la concentración del sustrato. Mientras mayor es la concentración del sustrato, menor será la probabilidad de que el inhibidor colisione con las moléculas de la enzima y que ocupe sus centros activos.

2. **Inhibición no competitiva.** Este tipo de inhibición no es afectado por la concentración del sustrato, dependiendo exclusivamente de la concentración del inhibidor. El caso más frecuente de inhibición no competitiva está representado por la combinación reversible de metales pesados con los grupos - SH de la molécula enzimática. Esto altera la forma tridimensional de la molécula de la enzima e impide su actividad. Ocurre también inhibición no competitiva cuando la enzima necesita ciertos iones y éstos son removidos de la solución. Por ejemplo, las enzimas que necesitan de Mg^{2+} son inhibidas por el EDTA (etilenodiaminetetraacetato de sodio), ya que este compuesto forma un complejo con cationes divalentes, y de ese modo, remueve el Mg^{2+} de la solución. La inhibición es reversible por la adición de cationes Mg^{2+} .

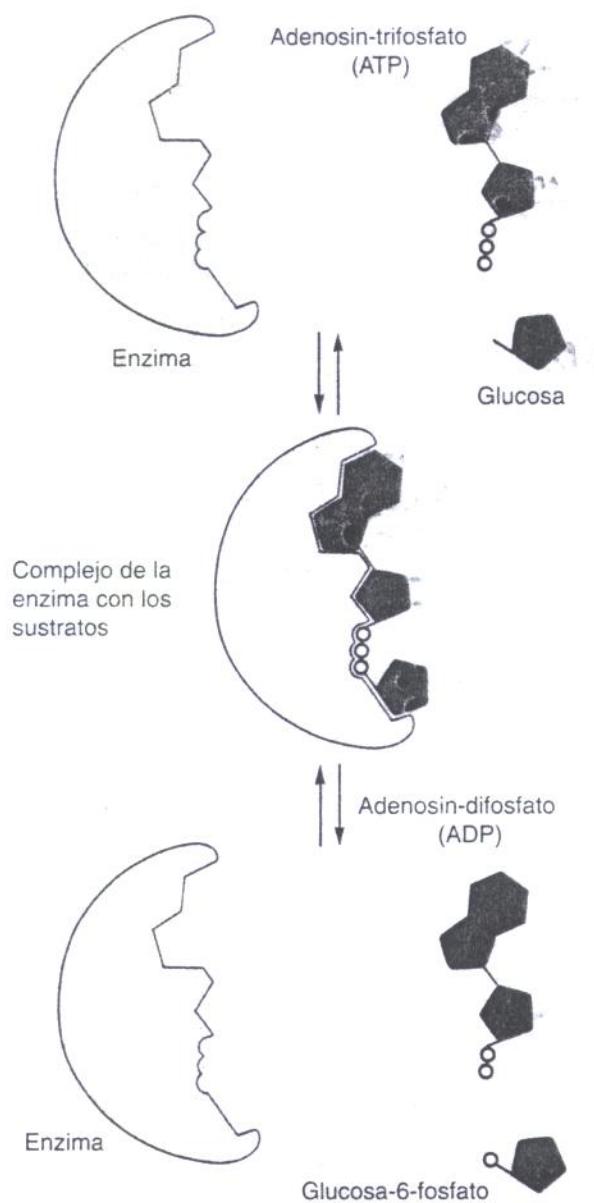


Fig. 3.11. Combinación reversible entre los sustratos y el centro activo de la enzima. Se demuestra también la acción enzimática ($\text{ATP} + \text{glucosa} \rightarrow \text{ADP} + \text{glucosa-6-fosfato}$). Esta figura ilustra la importancia de la estructura tridimensional de una proteína (enzima) para su actividad biológica. Es necesario que el sustrato encaje en la molécula enzimática para que la enzima actúe.

Para aumentar su eficiencia, las enzimas se agrupan en complejos y/o se unen a membranas

En la célula viva, la mayoría de las enzimas funciona en secuencia, de modo que el producto resultante de la acción de una enzima es el sustrato para la enzima siguiente. Ese conjunto de enzimas trabajando en cooperación es denominado **cadena enzimática**.

Un sistema muy eficiente y frecuente en las células es aquel representado por los **complejos de moléculas**

enzimáticas. Aquí, todas las enzimas de la cadena se asocian para formar un conjunto de moléculas que se mantienen unidas por fuerzas químicas débiles (estructura proteica cuaternaria). En la célula de la levadura, por ejemplo, las enzimas que sintetizan ácidos grasos a partir de pequeñas moléculas forman una cadena que consiste en siete enzimas que se asocian para formar un complejo multienzimático. Las reacciones se procesan en secuencia y las moléculas intermedias se mantienen unidas al complejo hasta la formación de la molécula del ácido graso. Esto hace al sistema más rápido, pues los sustratos no necesitan desplazarse mucho de una enzima a otra.

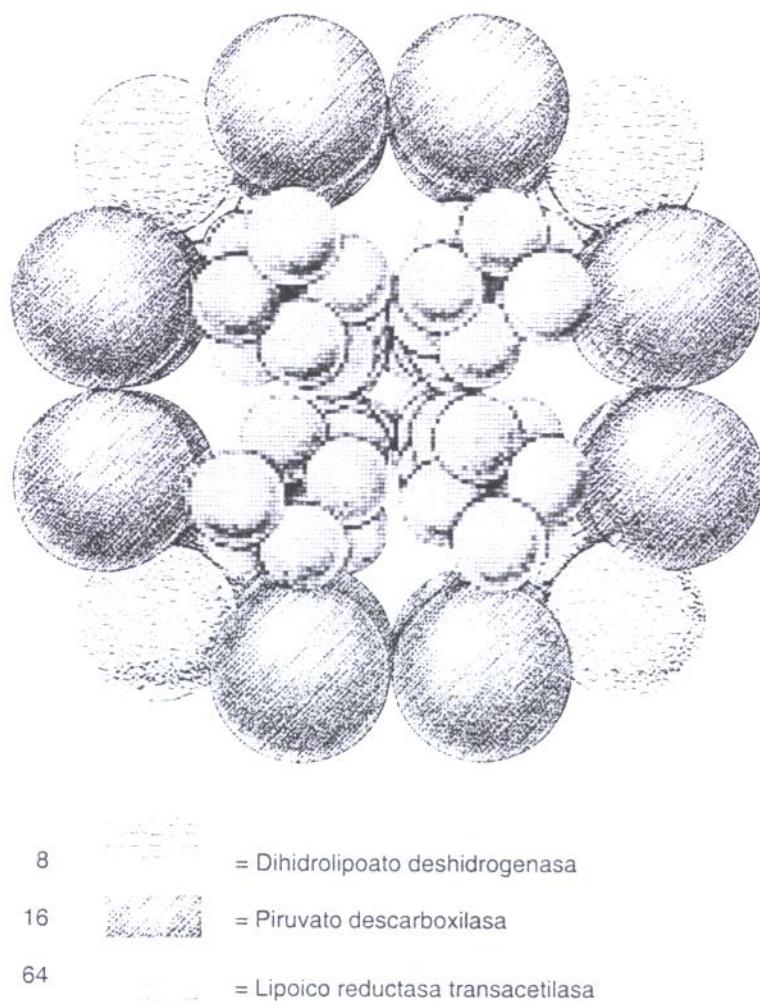
Otro complejo enzimático bien estudiado es el de la piruvato deshidrogenasa. En el microscopio electrónico, el complejo enzimático de la piruvato deshidrogenasa muestra un aspecto poliédrico, y ha sido sugerido un modelo según el cual sus enzimas deben estar organizadas (Fig. 3.12.).

Las cadenas enzimáticas más bien organizadas y por lo tanto más eficientes son las que están ligadas a membranas, como por ejemplo, la cadena de las enzimas respiratorias (transportadoras de electrones) que están unidas a la membrana interna de las mitocondrias. En estos casos no hay separación entre molécula enzimática y molécula estructural, ya que las diferentes proteínas son al mismo tiempo parte de la membrana y también están dotadas de actividad enzimática.

Las cadenas enzimáticas funcionan bajo regulación

Muchas cadenas enzimáticas son autorregulables, principalmente por el efecto del producto final de la cadena sobre la primera enzima de la secuencia. Por ejemplo, la L-treonina es transformada en L-isoleucina a través de una cadena de cinco enzimas (Fig. 3.13.). La primera enzima de esta cadena (E1) es la L-treonina-desaminasa, cuya actividad es disminuida o suprimida por la L-isoleucina. De este modo, la falta de L-isoleucina provoca el funcionamiento de la cadena en toda su intensidad, mientras que el exceso de L-isoleucina hace que la cadena disminuya el ritmo, o incluso detiene la producción de más L-isoleucina. Así, la concentración de ese aminoácido en la célula permanece dentro de los límites normales. Este tipo de control es conocido como **retroinhibición** o **inhibición alóstérica**. La enzima sensible a este tipo de control -en el ejemplo dado, la L-treonina-desaminasa- se llama **enzima reguladora**, y la sustancia inhibidora -en este caso la L-isoleucina- es conocida como **efector o modulador**.

En la regulación alóstérica, el efector se combina con la enzima en un lugar diferente del centro activo, denominado **centro alóstérico**. En consecuencia, ocurre una modificación en el centro activo de la enzima, cuya actividad catalítica es inhibida (Fig. 3.14.).



▲ Fig. 3.12. Modelo del complejo enzimático de la piruvato deshidrogenasa. Cada esfera de color representa una molécula enzimática.

Además de la regulación alostérica típica ya descrita, las enzimas son reguladas por otros mecanismos. Por ejemplo, en las enzimas que poseen más de un centro activo, la unión del sustrato a uno de ellos puede aumentar la afinidad de los otros por el sustrato, acelerando así la actividad enzimática.

Isoenzimas son moléculas ligeramente diferentes de una misma enzima

Ciertas enzimas existen bajo formas moleculares ligeramente distintas en los diversos tejidos, o en la misma célula de determinada especie animal. En esos casos, la molécula de la enzima está constituida por cadenas polipeptídicas (monómeros) diferentes, agrupadas en proporciones variables. Las diferencias de actividad entre las enzimas son consecuencia de las diversas proporciones de los monómeros en sus moléculas. Las enzimas de una misma especie animal que atacan al mismo sustrato pero que exhiben diferencias en la actividad, en el pH óptimo de acción,

en la movilidad electroforética u otras, son llamadas **isoenzimas**.

Un ejemplo bien estudiado es la isoenzima **deshidrogenasa del ácido láctico**. En el ratón, la molécula está constituida por cuatro cadenas polipeptídicas (monómeros), de dos tipos diferentes, llamados M y H. Según la proporción de esos dos monómeros, existen cinco deshidrogenasas del ácido láctico, cuyas moléculas pueden ser así representadas:

1º	4 cadenas M	(M_4H_0)
2º	3 cadenas M + 1 cadena H	(M_3H_1)
3º	2 cadenas M + 2 cadenas H	(M_2H_2)
4º	1 cadena M + 3 cadenas H	(M_1H_3)
5º	4 cadenas H	(M_0H_4)

Estas cinco deshidrogenasas lácticas fueron aisladas en forma pura. Todas atacan al mismo sustrato (ácido láctico), sin embargo lo hacen a velocidades diferentes. Por lo tanto, desde el punto de vista biológico, la principal distinción entre las isoenzimas es el grado de actividad de cada una.

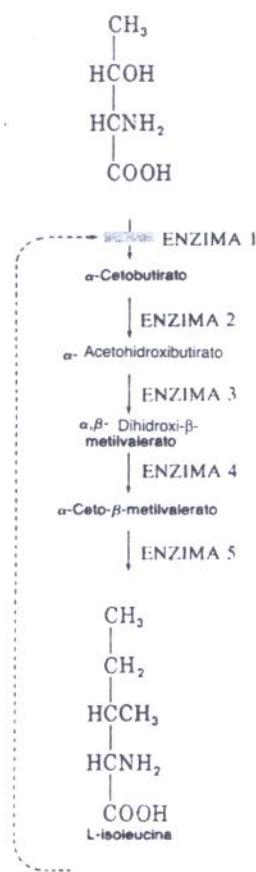


Fig. 3.13. Regulación (inhibición) aloscérica. La L-treonina es transformada en L-isoleucina a través de una cadena de cinco enzimas. Pero la primera enzima de esta cadena es inhibida por la L-isoleucina. Así, el exceso de L-isoleucina bloquea y su falta estimula la síntesis de ese aminoácido.

Está demostrado que existe un gen que determina la secuencia de aminoácidos del monómero M y otro que determina la del monómero H. Mientras mayor o menor es la actividad de cada uno de estos genes, habrá mayor producción del mRNA para M o para H y los polirribosomas producirán diferentes cantidades de M y H. Como estos monómeros se unen espontáneamente, al azar, para constituir las enzimas, las proporciones de M y de H van a depender de la actividad de aquellos genes. Se trata de un control génico, por el cual, alterando las proporciones de los monómeros producidos (cadenas polipeptídicas), los genes influyen en la estructura cuaternaria de las proteínas y pueden modular su actividad enzimática.

Los 20 aminoácidos posibilitan la construcción de una enorme variedad de moléculas proteicas, con funciones diversificadas

Las proteínas son los componentes químicos más diversificados de la célula, por estar constituidas por 20

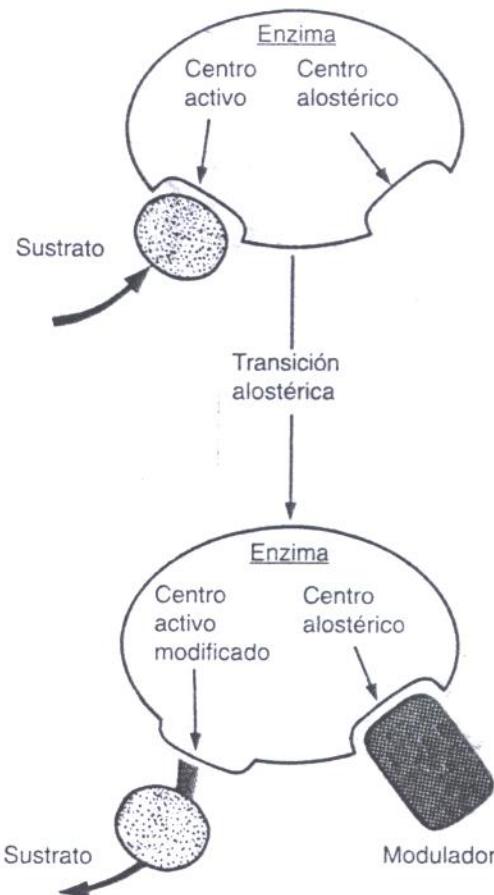


Fig. 3.14. Regulación aloscérica. La fijación del modulador en el centro aloscérico modifica el centro activo, impide la fijación del sustrato e inhibe la acción enzimática.

aminoácidos diferentes. Esta diversificación estructural se refleja en sus múltiples funciones biológicas (Tabla 3.4.), pues de los componentes macromoleculares de las células son los más polifuncionales. Además de la actividad enzimática, las proteínas tienen una importante

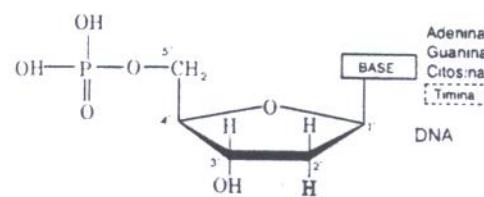
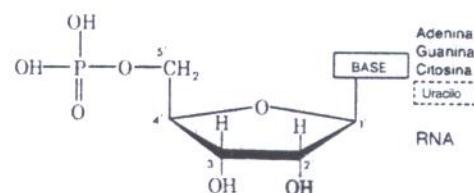


Fig. 3.15. Nucleótidos del RNA y del DNA. Se señalan las bases diferentes (uracilo y timina). En el carbono 2', la desoxirribose posee un átomo de oxígeno menos (observar los rectángulos grises).

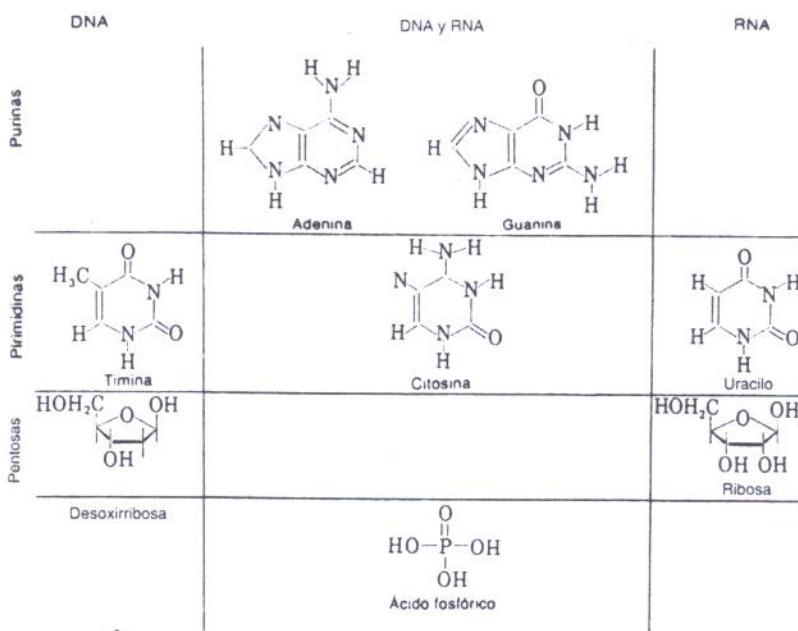


Fig. 3.16. Componentes de los ácidos nucleicos (RNA y DNA).

función estructural (en los filamentos intermedios, microfilamentos y microtúbulos), informacional (en las hormonas proteicas), en el movimiento de las células (ejemplificado por la actividad motora del complejo actina-miosina) y finalmente, una pequeña importancia como fuente energética. La casi totalidad de la energía consumida por las células es proporcionada por las moléculas de lípidos e hidratos de carbono.

Los ácidos nucleicos son polímeros de nucleótidos

Los ácidos nucleicos están constituidos por la polymerización de unidades llamadas **nucleótidos**.

Cada nucleótido contiene residuos de una molécula de ácido fosfórico, una de pentosa y una de base púrica o pirimidínica (Fig. 3.15.).

Las bases púricas más encontradas en los ácidos nucleicos son la **adenina** y la **guanina** (Figs. 3.15. y 3.16.), en general designadas por las iniciales A y G, respectivamente. Las principales bases pirimidínicas son la **timina**, la **citosina** y el **uracilo** (Fig. 3.16.), designadas por las letras T, C y U.

Además de los polímeros de nucleótidos, que constituyen las moléculas de los ácidos nucleicos, las células contienen cantidades relativamente grandes de nucleótidos libres, que desempeñan principalmente las funciones de coenzimas.

Por hidrólisis parcial es posible retirar el radical fosfato de los nucleótidos. Aparecen entonces compuestos denominados **nucleósidos**, constituidos por una pentosa y una base púrica o pirimidínica (Fig. 3.17.).

Los ácidos nucleicos son moléculas informacionales que controlan los procesos básicos del metabolismo celular, la síntesis de macromoléculas, la diferenciación

celular y la transmisión del patrimonio genético de una célula a sus descendientes.

Cada molécula de ácido nucleico contiene por lo menos una cadena de nucleótidos (polinucleótido), formada por uniones diéster-fosfato entre los carbonos 3' y 5' de la pentosa, de acuerdo con lo que muestra la Fig. 3.18.

Se distinguen dos tipos de ácidos nucleicos: el **desoxirribonucleico** o DNA y el **ribonucleico** o RNA. En el DNA la pentosa encontrada es una desoxirribosa y las bases son adenina, guanina, citosina y timina. En el RNA, la pentosa es una ribosa y existe uridina en sustitución de la timina; las otras bases son comunes a los dos tipos de ácidos nucleicos (Tabla 3.3.).

El DNA es el depositario de la información genética y la transmite a las células-hijas

El ácido desoxirribonucleico o DNA es el responsable del almacenamiento y la transmisión de la información genética. Se encuentra principalmente en los cromosomas

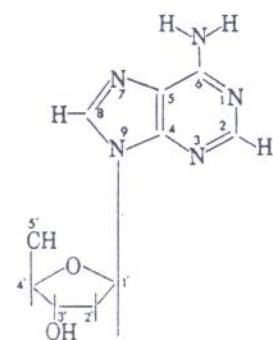
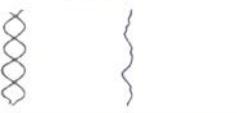


Fig. 3.17. Estructura molecular de los nucleósidos. En el ejemplo, el nucleósido constituido por la adenina combinada a la desoxirribosa.

▼ Tabla 3.3. Características de los principales tipos de ácidos nucleicos

	DNA	tRNA	mRNA	rRNA
COMPONENTES	Ácido fosfórico, desoxirribosa, adenina, guanina, citosina y timina.	Ácido fosfórico, ribosa, adenina, guanina, citosina, uracilo, timina, ácido pseudouridílico, metil citosina dimetil-guanina.	Ácido fosfórico, ribosa, adenina, guanina, citosina y uracilo.	Ácido fosfórico, ribosa, adenina, guanina, citosina y uracilo.
FUNCIONES	Dirige todo el funcionamiento de la célula; transmite la información genética a otras células.	Transporta los aminoácidos uniendo su anticodón al codón del mRNA; determina la posición de los aminoácidos en las proteínas.	A través de la secuencia de sus bases, determina la posición de los aminoácidos en las proteínas.	Se combina con el mensajero, para formar los polirribosomas.
LOCALIZACIÓN	Núcleo de las células eucariotas; nucleoide de las procariotas; mitocondrias y cloroplastos; algunos virus.	Principalmente en el citoplasma; en menor cantidad en el núcleo.	Principalmente en el citoplasma; en menor cantidad en el núcleo.	Principalmente en el citoplasma; en menor cantidad en el núcleo.
TAMAÑO DE LA MOLECULA	Muy grande; difícil de determinar.	25.000 a 30.000 daltons.	Depende del tamaño de la proteína que codifica; variable entre 5×10^4 y 5×10^{16} daltons.	5 S a 28 S
FORMA	Doble filamento hélice simple, en algunos virus. 	«Hoja de trébol». 	Filamento simple 	Ribosomas tamaño: - células eucariotas 2,3 nm (80 S) - células procariotas 1,8 nm (70 S) 

y en pequeñas cantidades, en las mitocondrias y en los cloroplastos. En los cromosomas de las células eucariotas, el DNA está asociado a proteínas básicas, principalmente a las **histonas**.

La molécula de DNA consiste en dos cadenas de nucleótidos dispuestas en hélice alrededor de un eje. La orientación de esta hélice está dirigida en el sentido de izquierda hacia la derecha (Figs. 3.19. y 3.20.). La dirección de las uniones 3' y 5' diéster-fosfato de una cadena es inversa en relación a la de la otra cadena, como muestra la Fig. 3.19. Se dice que esas cadenas son antiparalelas. En función de este hecho, en cada extremo de la molécula, una de las cadenas polinucleotídicas termina en 3' y la otra en 5' (Fig. 3.19.).

Las bases púricas y pirimídicas de cada cadena polinucleotídica se ubican dentro de la hélice doble, en planos paralelos entre sí y perpendiculares al eje de la hélice, como si fueran escalones de una escalera. En cada plano o escalón de la escalera, la base de una cadena forma par con la base de la cadena complementaria. Debido a las dimensiones de las moléculas de las bases, el apareamiento sólo tiene lugar entre la timina y la adenina, o entre la guanina y la citosina, en las cadenas complementarias. Por lo tanto, considerando a los dos polinucleótidos que constituyen la molécula de DNA, las bases están siempre apareadas en la secuencia T-A o

G-C. Esto explica la existencia, en el DNA, de un número igual de moléculas de T y A, así como de G y C.

En la hélice doble, las bases se unen a través de puentes de hidrógeno (Fig. 3.19.), principales responsables de la estabilidad de la hélice. Cuando los puentes de hidrógeno son rotos -por ejemplo, por el calentamiento del DNA en solución-, los dos filamentos polinucleotídicos de la hélice sufren desnaturización, separándose; cuando baja la temperatura, ellos se unen nuevamente.

La desnaturización por la ruptura de los puentes de hidrógeno puede ser completa o parcial (Fig. 3.21.). Esta desnaturización ocurre primero en las uniones AT, que tienen dos puentes de hidrógeno, siendo las uniones CG más resistentes, ya que poseen tres puentes de hidrógeno (Fig. 3.19.). La desnaturización parcial permite la identificación de las zonas ricas en AT y de las zonas ricas en CG, siendo estos últimos segmentos más resistentes a la desnaturización.

En moléculas simples de DNA, como las de los bacteriófagos, esta técnica posibilita la localización de zonas con diferentes frecuencias de nucleótidos a lo largo del filamento de DNA.

A lo largo de la molécula de DNA, la distancia entre las bases es de 0,34 nm, y cada vuelta completa de la hélice contiene 10 nucleótidos (Fig. 3.20.). La hélice doble

tiene un diámetro de 2 nm y su superficie muestra dos surcos, uno de los cuales es más acentuado que el otro.

Las bases (hidrofóbicas) se ubican adentro de la hélice, y los residuos de desoxirribosa (hidrofílicos) y de ácido fosfórico (ionizado e hidrofílico) se localizan en la periferia, en contacto con el agua intracelular. Al lado de los puentes de hidrógeno que representan al elemento principal de unión entre los dos filamentos polinucleotídicos de la doble hélice, la interacción hidrofóbica de las bases pareadas contribuye para mantener la estabilidad de la hélice de DNA. Los grupos fosfóricos, ionizados negativamente, permiten al ácido desoxirribonucleico combinarse con proteínas básicas, es decir, cargadas positivamente, o con otras moléculas eléctricamente positivas.

Debido a su fragilidad y enorme longitud, ha sido difícil determinar el tamaño exacto de las moléculas de DNA. Se sabe, por ejemplo, que la molécula de DNA del bacteriófago lambda, que infecta a la bacteria *Escherichia coli*, tiene un peso de 32 millones de daltons y una longitud de 17,2 µm. En la *Escherichia coli*, el cromosoma es una molécula de DNA, con longitud de 1,2 mm y un peso molecular de 2.800.000.000 de daltons.

El RNA transfiere la información genética del DNA hacia las proteínas

Al contrario del DNA, cuya molécula casi siempre está formada por dos cadenas polinucleotídicas, la molécula de RNA es un filamento único, y sólo existe excepcionalmente, bajo la forma de filamentos dobles complementarios. En los dos casos, las excepciones son encontradas en los virus: algunos tienen DNA en filamento único, mientras otros tienen RNA en cadena doble complementaria.

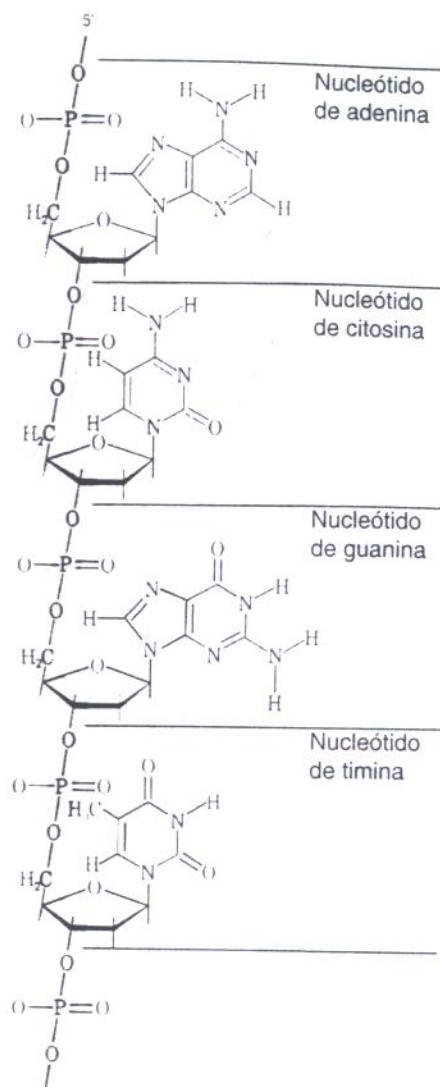
Desde los puntos de vista funcional y estructural, se distinguen tres variedades principales de ácido ribonucleico:

1. RNA de transferencia o tRNA;
2. RNA mensajero, brevemente mRNA; y
3. RNA ribosomal o rRNA.

RNA de transferencia

De los tres tipos de ácidos ribonucleicos, el tRNA es el que posee moléculas menores. Estas están constituidas por 75 a 90 nucleótidos y tienen un peso molecular comprendido entre 25.000 y 30.000 daltons. Su función es transferir los aminoácidos hacia las **posiciones correctas** en las cadenas polipeptídicas en formación, en los complejos de ribosomas y RNA mensajero (polirribosomas).

Para esto, el tRNA posee la propiedad de combinarse con aminoácidos y es capaz de reconocer determinados lugares de la molécula del mRNA constituidos por una secuencia de tres bases. Estas secuencias, típicas para



▲ Fig. 3.18. Polinucleótido del DNA.

cada aminoácido, son denominadas **codón** (ver Cap. 9). La secuencia de tres bases en la molécula del tRNA y que reconoce el codón se llama **anticodón** (Fig. 3.22.). Para cada aminoácido existe al menos un tRNA.

La molécula del tRNA es un filamento con una extremidad terminando siempre por la secuencia CCA, es decir, por el ácido adenílico (A) precedido de dos moléculas de ácido citidílico (C).

Gracias a un proceso enzimático que consume energía liberada por hidrólisis de ATP (ver Cap. 4), un hidroxilo del ácido adenílico de la extremidad CCA es esterificado por un L-aminoácido, formándose así una molécula de **Acil-tRNA**. La enzima catalizadora de esta esterificación es específica para cada aminoácido. La molécula del tRNA posee una región que es reconocida por la enzima, y de este modo, cada aminoácido es ligado a su tRNA.

Debido a los puentes de hidrógeno que se establecen entre sus bases, todos los tRNAs presentan segmentos de las moléculas formados por una doble hélice. La

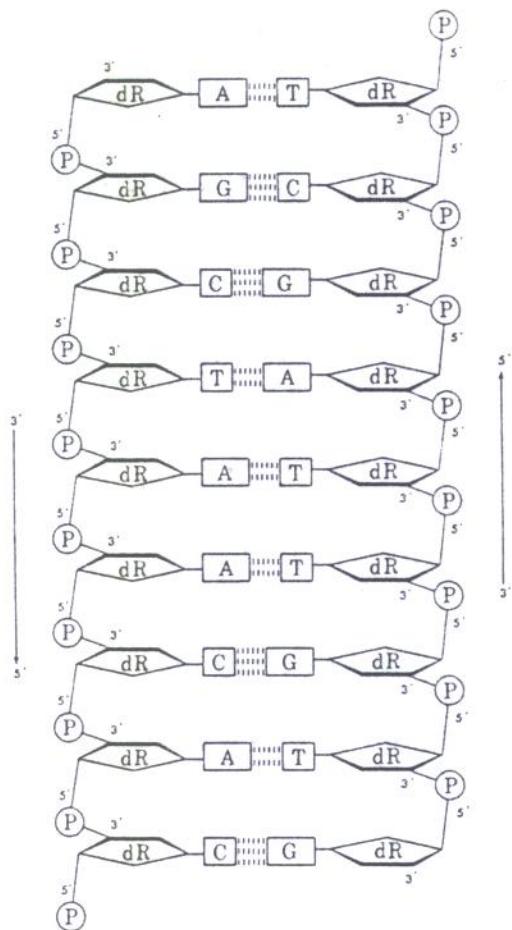


Fig. 3.19. Pequeña parte de una molécula de DNA mostrando la disposición antiparalela de los polinucleótidos. Entre T y A existen dos puentes de hidrógeno y entre G y C, tres.

representación plana, esquemática, de la molécula del tRNA (Fig. 3.22.) tiene el aspecto de una hoja de trébol, la cual muestra el anticodón en uno de sus lados.

Además de las bases adenina, guanina, citosina y uracilo, comúnmente encontradas en el RNA, el tRNA contiene otras bases que no aparecen en los otros tipos de ácido ribonucleico (Tabla 3.3.). Entre las bases típicas del tRNA están, por ejemplo, la **hipoxantina** y la **metilcitosina**.

El tRNA posee además **ácido ribotimidílico**, que es un nucleótido constituido por ácido fosfórico, ribosa y timina, base generalmente encontrada en el DNA. Además, el tRNA presenta en su molécula el **ácido pseudo-uridílico**, que difiere del ácido uridílico común por presentar la ribosa unida al carbono 5 del uracilo, y no al nitrógeno 3, como es habitual (Fig. 3.23.). En conclusión, se ve que el tRNA posee una serie de características que lo diferencian de los otros tipos de RNA, facilitando su identificación.

Las regiones del tRNA que contienen las bases no habituales tal vez sean importantes para determinar el formato de la molécula, ya que en estas regiones no se forman puentes de hidrógeno entre las bases (Fig. 3.22.)

Los tRNAs son inicialmente sintetizados sobre los filamentos de DNA, como moléculas mayores que pasan por un procesamiento (*splicing*) haciendo menores, antes de migrar hacia el citoplasma. Este procesamiento del tRNA consiste en la remoción de determinados pedazos de la molécula mayor y la unión de los fragmentos que van a constituir la molécula final del tRNA. Es un proceso semejante al que será descrito más adelante, en este capítulo, al examinar el mRNA, donde este asunto ha sido mejor estudiado.

RNA mensajero

El mRNA es sintetizado en los cromosomas, como los demás RNAs de la célula, y representa la transcripción de un segmento de una de las cadenas de la hélice de DNA. Obsérvese que durante la síntesis del mRNA, los filamentos de un segmento de la molécula de DNA se separan temporalmente. El peso molecular del mRNA varía de acuerdo al tamaño de la molécula proteica que va a codificar en el citoplasma. Evidentemente, la molécula de mRNA es bastante mayor que la proteína formada por él, porque son necesarios tres nucleótidos para codificar un aminoácido. Además, muchas proteínas son sintetizadas con un segmento extra, formado por varios aminoácidos que son removidos en la síntesis final de la proteína. Por eso, el peso molecular de los mRNAs es del orden de centenares y hasta miles de daltons. En las células procariontes, las moléculas de mRNA pueden ser aún mayores, porque, en las bacterias, una larga molécula de mRNA puede ser traducida a partir de lugares diferentes, originando más de una proteína, según el lugar del mRNA donde la traducción tuvo su inicio.

Cada molécula de mRNA tiene una prolongación (*tail*) de poli-A que es adicionado en el interior del núcleo celular, en el momento exacto en que la molécula de mRNA es transcrita, por una enzima que no requiere de molde (*template*) de DNA. Por lo tanto, este segmento del mRNA no está codificado en el DNA. En el otro extremo del mRNA (extremo 5'), un pequeño capuchón (*cap*) nucleotídico es adicionado por otras enzimas.

Los mRNAs citoplasmáticos derivan de precursores nucleares conocidos como los hnRNAs (*heterogeneous RNAs*), así llamados por presentar una gran heterogeneidad en los pesos moleculares y en la composición de nucleótidos. La mayoría de los hnRNAs tienen moléculas enormes, conteniendo hasta 50.000 nucleótidos. Estas moléculas son partidas en el núcleo, de forma ordenada. Algunos pedazos son removidos y los extremos de los segmentos que codifican proteínas se unen (*splicing*), formándose la molécula terminada de mRNA que migra hacia el citoplasma.

De lo anteriormente expuesto, queda claro que en las células eucariontes, el DNA que transcribe los mRNAs está constituido por partes que van a ser traducidas en proteínas, denominadas **exones** y en partes que

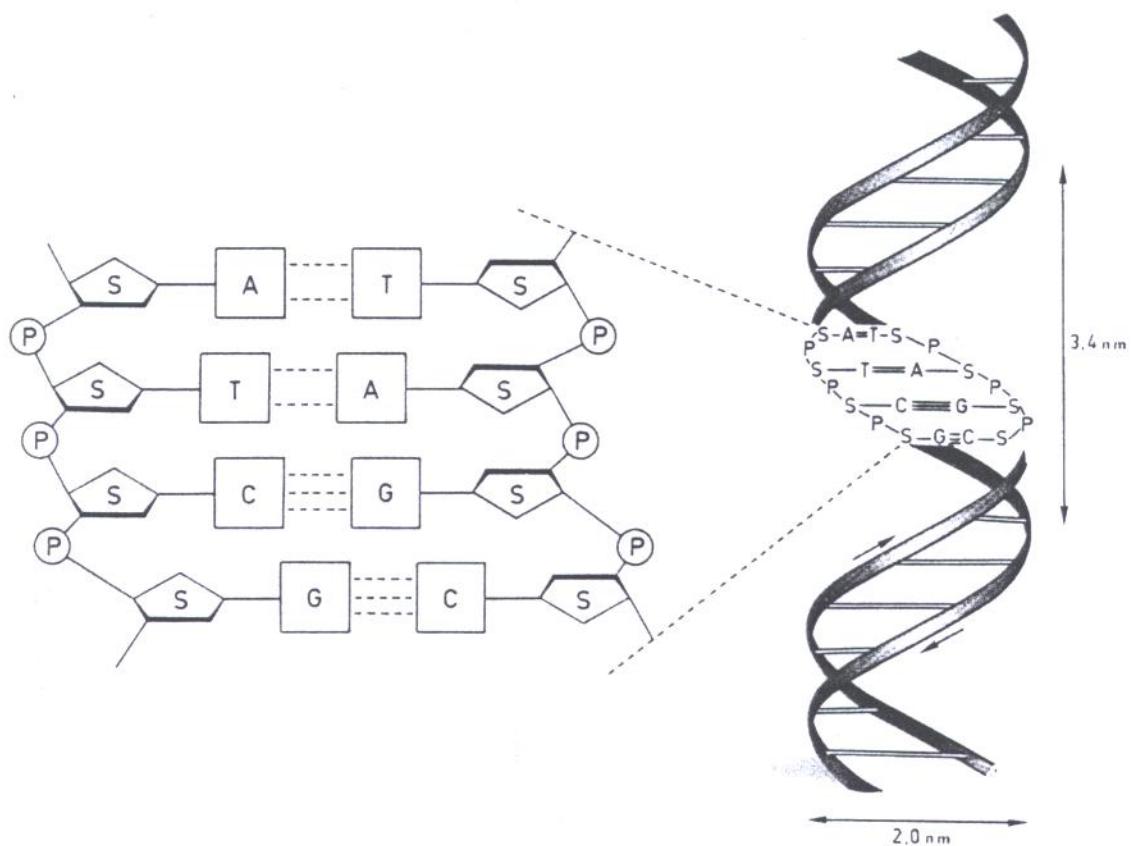


Fig. 3.20. Esquema de la estructura en doble hélice del DNA, según Watson y Crick. A, adenina; T, timina; C, citosina; G, guanina; P, fosfato y S, desoxirribosa.

sólo separan a los exones. Estas partes “silenciosas” son denominadas **intrones** (ver Cap. 9).

Por lo tanto, el DNA inicialmente transcribe una molécula enorme de hnRNA de la cual los segmentos sin significado para la síntesis proteica son removidos, ocurriendo entonces la unión precisa de los segmentos que llevan la codificación para un tipo de molécula proteica, y así se forma una molécula de mRNA. Sin embargo, algunos genes no poseen intrones y las moléculas de mRNA se forman directamente del DNA, sin pasar por la fase de hnRNA.

Los intrones y el hnRNA sólo han sido encontrados en células eucariontes, siendo muy poco probable que existan en las procariontes.

RNA ribosómatico

El RNA ribosómatico es mucho más abundante que los otros dos tipos de RNA, constituyendo un 80% del RNA celular. Existe combinado con proteínas, formando partículas fácilmente visibles al microscopio electrónico, denominadas **ribosomas**. Cuando están unidos a filamentos de RNA mensajero, los ribosomas forman los **polirribosomas** (Fig. 3.24.), donde tiene lugar la síntesis de proteínas.

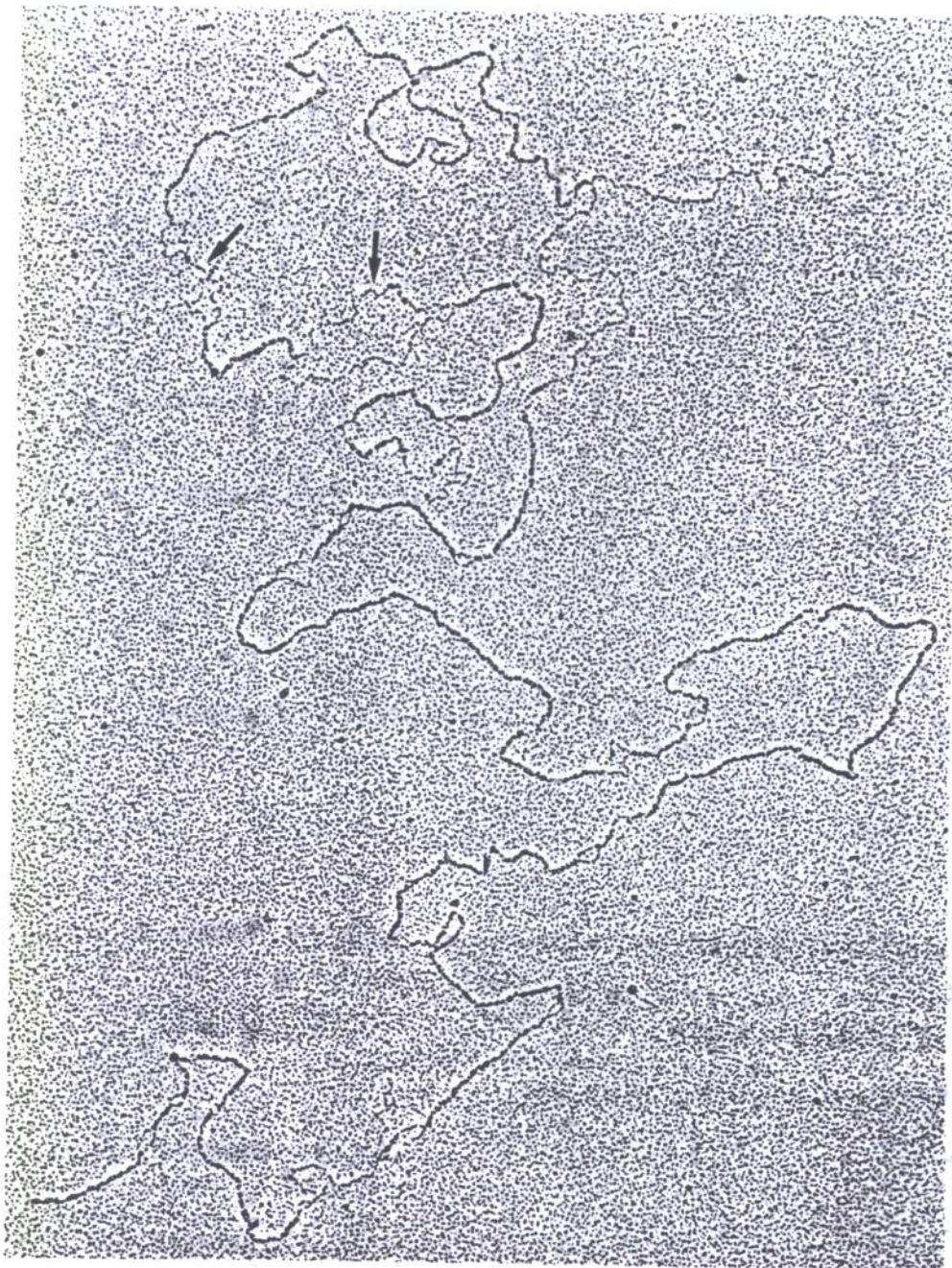
Existen en las células dos tipos de ribosomas que se distinguen por sus coeficientes de sedimentación

determinados en la ultracentrífuga y expresados en unidades S o Svedberg. Los ribosomas de las células procariontes tienen un coeficiente de sedimentación de 70S y son menores que los ribosomas de las células eucariontes, cuyo coeficiente de sedimentación es de 80S. Ambos tipos de ribosomas están formados por dos subunidades, una mayor y otra menor, con características funcionales y estructurales diferentes.

Las subunidades se unen de modo reversible al inicio de la síntesis de la molécula proteica, separándose cuando la proteína está terminada. La subunidad mayor de los ribosomas de las células eucariontes contiene tres tipos de RNA, con sedimentación de 28 S, 5,8 S y 5 S, y la de los ribosomas de los procariontes posee dos tipos de RNA, uno de 23 S y otro de 5 S. La subunidad menor presenta sólo un tipo de RNA: 18 S en las células eucariontes y 16 S en las procariontes.

Los ribosomas de las mitocondrias y de los cloroplastos son iguales a los de las células procariontes, dato que apoya la interpretación de que estos dos organelos transductores de energía se originaron de bacterias que se hicieron simbiontes de las células eucariontes.

Cerca de 50 variedades de proteínas han sido identificadas en los ribosomas y constituyen aproximadamente la mitad de la masa de estos corpúsculos.



▲ Fig. 3.21. Desnaturalización parcial de la molécula de DNA del bacteriófago T7. La separación de los segmentos polinucleotídicos es más precoz en los segmentos con abundancia de uniones AT (flechas). Microfotografía electrónica (Vollenweider, H.J., J. M. Sogo and T. Koller. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 72:83, 1975. Reproducido con permiso.)

La basofilia citoplasmática demostrable por los colorantes básicos y removible por la ribonuclease, se debe a los ribosomas. Estos son particularmente abundantes en las células que sintetizan grandes cantidades de proteínas, las cuales tienen el citoplasma fuertemente basófilo.

El RNA puede tener acción enzimática

En algunos casos, el RNA tiene una acción catalítica, actuando como una enzima. La actividad catalítica del

RNA fue descubierta al estudiarse la síntesis de los RNAs de *Tetrahymena*, un protozoario ciliado. Se descubrió que estos RNAs son inicialmente moléculas muy grandes de las cuales ciertos segmentos son removidos y las partes restantes son soldadas (*splicing*), formándose así la molécula final del mRNA. Todo el proceso se realiza, como ha sido comprobado *in vitro*, sin la participación de proteínas enzimáticas. El segmento de RNA que será removido (intron) cataliza su propia remoción y la unión de los extremos de la molécula partida. Ese segmento de RNA, *in vitro*, es capaz de catalizar la polimerización de polinucleótidos pequeños en polinucleótidos con más de

▼ Tabla 3.4. Principales funciones celulares de las moléculas. Estas aparecen en orden creciente de su diversidad funcional.

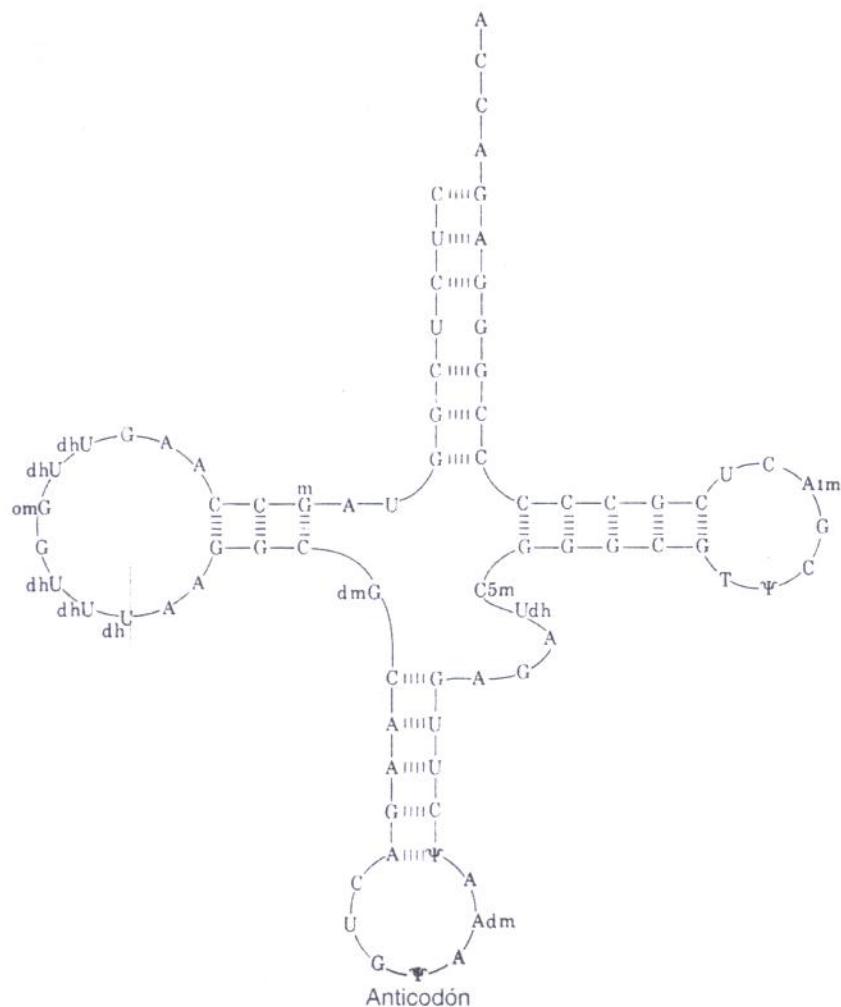
Tipo de molécula	Ácido nucleico (DNA y RNA)	Lípido	Polisacárido	Proteína
Grado de diversidad funcional	1	2	3	4
Funciones	informacional	energética estructural informacional	energética estructural informacional	enzimática estructural informacional movimiento celular energética

30 nucleótidos, habiendo sido llamado ribozima.

Otros RNAs con actividad catalítica fueron descubiertos después, por ejemplo, los tRNAs, que casi siempre son también sintetizados en un tamaño mayor. En este caso ha sido observado que la fragmentación para producir la molécula de tRNA final, de tamaño menor, es catalizada por un complejo RNA-proteína (**ribonucleasa P**). Pero la especificidad y actividad enzimática de este complejo depende más del RNA que de la proteína. Separando el complejo RNA-proteína en

sus dos partes, solamente el RNA tiene actividad catalítica, aunque el complejo entero sea más activo. Por lo tanto, en este caso el RNA es esencial para la actividad enzimática y la proteína ejerce un papel auxiliar, secundario.

El descubrimiento de que el RNA puede tener actividad enzimática tuvo una gran repercusión sobre las hipótesis del origen de la vida en la Tierra. Es posible que la molécula inicial de las futuras células haya sido un RNA capaz de auto-replicación. Ese RNA primordial



▲ Fig. 3.22. Estructura del RNA de transferencia para el aminoácido tirosina. Además de las bases habituales, este tRNA contiene las siguientes bases: mG = N-2-metilguanosina; dhU = N-6-dihidrouridina; omG = 2'-metilguanosina; dmG = 2'-dimetilguanosina; dmA = n-6-dimetiladenosina; $5mC$ = 5-metilcitosina. La letra griega psi (ψ) representa el ácido pseudo-urídilico.

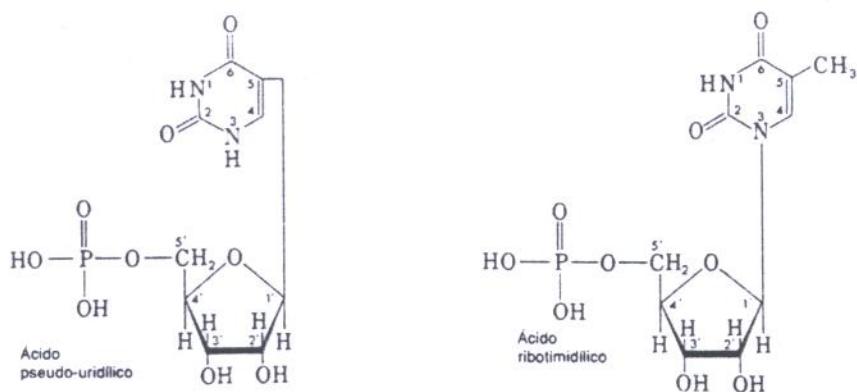


Fig. 3.23. Dos nucleótidos encontrados en el tRNA: en el ácido pseudo-uridílico, la ribosa se une al carbono 5 de la uridina, y no al carbono 3 como ocurre en el ácido uridílico. El ácido ribotimidílico contiene timina, una base que usualmente es hallada en el DNA.

habría servido de molde (*template*) para el DNA, comenzando enseguida la síntesis dirigida de las proteínas.

Por la técnica de hibridación se pueden caracterizar las moléculas de ácidos nucleicos

Existen en el citoplasma muchos RNAs diferentes, necesarios para la síntesis de las numerosas proteínas celulares. La caracterización de los RNAs mensajeros no es fácil. Una técnica que se ha mostrado muy útil para su estudio es la **hibridación** con DNA. La doble hélice de DNA está formada por dos cadenas unidas por puentes de hidrógeno que son fuerzas débiles. Las dos cadenas de DNA pueden ser separadas fácilmente por calentamiento suave, en pH alcalino y también pueden recombinarse por un reenfriamiento lento. Pero las cadenas de DNA separadas pueden combinarse con moléculas de RNA, proceso muy seguro para caracterizar una molécula de RNA, ya que ella se combina exclusivamente con el segmento de DNA del cual fue transcrita.

Los lípidos forman reservas nutritivas y tienen un papel estructural en las membranas celulares

Los compuestos de carbono extraídos de células y tejidos por solventes orgánicos no polares -como éter, cloroformo y benzene- son llamados **lípidos**. En virtud de ser definidos por su solubilidad en estos solventes, y no por la estructura química, el grupo de los lípidos comprende sustancias con moléculas muy diferentes.

De acuerdo a sus funciones principales, los lípidos celulares pueden ser divididos en dos categorías: **lípidos de reserva nutritiva** y **lípidos estructurales**. Estos tienen

un papel relevante en la mantención de la estructura de las membranas celulares (ver Cap. 5).

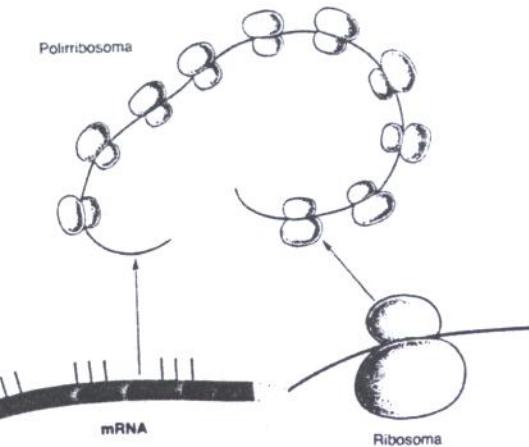


Fig. 3.24. Combinación del RNA mensajero con ribosomas para formar polirribosomas.

Las vitaminas A, E y K son lípidos dotados de importantes actividades fisiológicas. Las hormonas esteroidales, entre las cuales están las de la glándula adrenal, ovario y testículo, y el 1,25-dihidroxicolecalciferol (sustancia activa formada en el organismo de los mamíferos a partir de la vitamina "D") son lípidos informacionales (transportan información). Sin embargo, como ejercen funciones especializadas y no son constituyentes generales de las células, no serán estudiados en este capítulo.

Lípidos de reserva nutritiva. Las reservas nutritivas de naturaleza lipídica se componen de **grasas neutras**. Estas son ésteres de ácidos grasos con el trialcohol glicerol o glicerina. La molécula de grasa neutra puede presentar uno, dos, o más, comúnmente tres residuos de ácidos grasos (Fig. 3.25.). Cuando existe más de un ácido graso, ellos pueden ser iguales o diferentes.

El número de átomos de carbono en los ácidos grasos

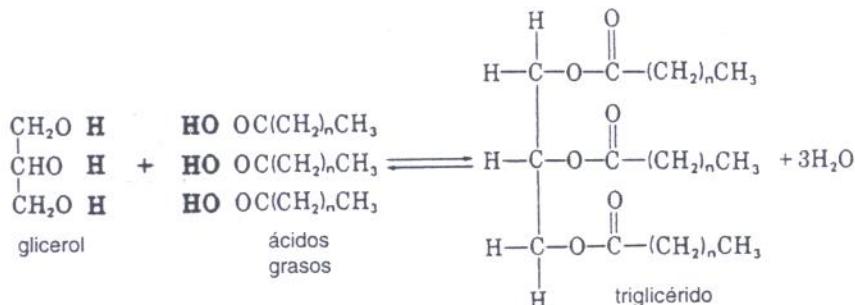


Fig. 3.25. Sustitución de los hidroxilos de la glicerina por ácidos grasos, para formar una molécula de triacilglicerol o triglicérido (grasa neutra).

es casi siempre par, porque sus moléculas son sintetizadas a partir de residuos con dos átomos de carbono. Los ácidos grasos más frecuentes en las grasas neutras son los de 16 y 18 átomos de carbono.

Los depósitos intracelulares de lípidos se constituyen casi exclusivamente por grasas neutras, en las cuales el glicerol está esterificado por tres ácidos grasos. Son, por lo tanto, depósitos de triacilgliceridos o triglicéridos, con una pequeña cantidad de diacilglicéridos y monoacilglicéridos. Estos depósitos se encuentran en casi todos los tipos celulares, habiendo, sin embargo, células especializadas para la acumulación de grasas neutras, las células adiposas.

Lípidos estructurales. Estos lípidos son componentes estructurales de todas las membranas celulares: membrana plasmática, envoltura nuclear, retículo endoplásmico, aparato de Golgi, endosomas, mitocondrias, cloroplastos, lisosomas, etc. Muchas propiedades de esas membranas derivan de las características químicas y físicas de sus lípidos. Los lípidos estructurales son más complejos que los de reserva. Sus moléculas son largas y dotadas de un extremo polar, es decir, con carga eléctrica y una larga cadena apolar no ionizada. El extremo polar es hidrofilico, mientras que la porción apolar, constituida generalmente por dos cadenas alifáticas, es hidrofóbica y, por lo tanto, soluble en lípidos.

Los lípidos que ejercen un papel esencialmente estructural, formando parte del sistema de membranas de las células, son los fosfolípidos (fosfoglicéridos y esfingolípidos), los glicolípidos y el colesterol.

Fosfoglicéridos. En estos fosfolípidos, uno de los hidroxilos primarios, es decir, el del carbono 1 o del 3 del glicerol, está esterificado por el ácido fosfórico. Los otros dos hidroxilos son esterificados por ácidos grasos, siendo el ácido graso del carbono 2, en general, insaturado (Fig. 3.26.).

El fosfoglicérido más simple es el **ácido fosfatídico**, constituido solamente por un residuo de glicerol, uno de ácido fosfórico y dos de ácidos grasos. El ácido fosfatídico existe en pequeña cantidad en las membranas celulares. Los fosfoglicéridos más encontrados en estas membranas son **fosfatidilcolina**, **fosfatidiletanamina**, **fosfatidilsérina** y **fosfatidilinositol**.

Esfingolípidos. Un ejemplo de esfingolípido es la **esfingomielina**, muy abundante en las vainas de mielina del tejido nervioso. La vaina de mielina funciona como un aislante eléctrico de la prolongación de las células nerviosas, estando formada por pliegues concéntricos de la membrana plasmática de células especializadas.

La esfingomielina está constituida por una molécula de colina, una de ácido fosfórico, una de esfingosina y una de ácido graso (Fig. 3.27.).

La principal característica estructural de los esfingolípidos es la presencia de una larga cadena de esfingosina, al lado de una cadena de ácido graso, que se une a la esfingosina por un enlace éster (Fig. 3.27.). Tal como los fosfoglicéridos, los esfingolípidos poseen un extremo polar y dos cadenas apolares.

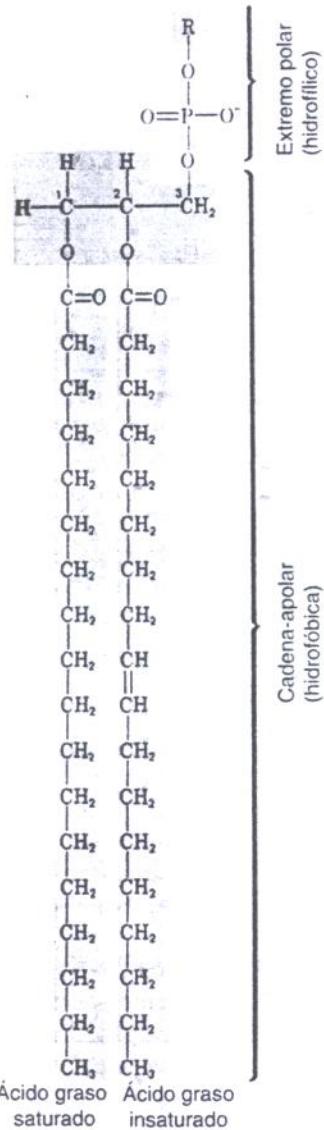
Los glicolípidos tienen extremos polares formados por glucídicos, principalmente D-galactosa (Fig. 3.28.). Sus moléculas están, en general, constituidas por moléculas glucídicas, una molécula de glicerol y dos de ácidos grasos. Los glicolípidos no contienen ácido fosfórico. Entre los glicolípidos importantes se encuentran los **gangliósidos**, que poseen glucídicos muy complejos. Por ejemplo, del tejido nervioso se aisló el gangliósido G_{M2} constituido por las siguientes moléculas: un ácido graso, esfingosina, D-glucosa, D-galactosa, N-acetyl-D-galactosamina y ácido N-acetylneuramínico.

Los cerebrósidos (Fig. 3.29.) son glicoesfingolípidos, ya que sus moléculas contienen esfingosina y glucídicos. Los cerebrósidos son abundantes en las membranas de las células del tejido nervioso, principalmente en las vainas de mielina.

Colesterol. El colesterol es un esterol, es decir, un compuesto que contiene el núcleo perhidrociclopentanofenantreno, con un hidroxilo en el carbono 3 y una cadena alifática, con ocho o más átomos de carbono, ligada al carbono 17 del núcleo (Fig. 3.30.).

El colesterol está presente en la membrana plasmática de las células animales, presentándose sin embargo, en cantidad mucho menor en las membranas de las mitocondrias y del retículo endoplasmático. El colesterol reduce la fluididad de las membranas (ver Cap. 5).

Las células de los vegetales no poseen colesterol, el cual es sustituido por otros esteroles, denominados colectivamente **fitoesteroles**.

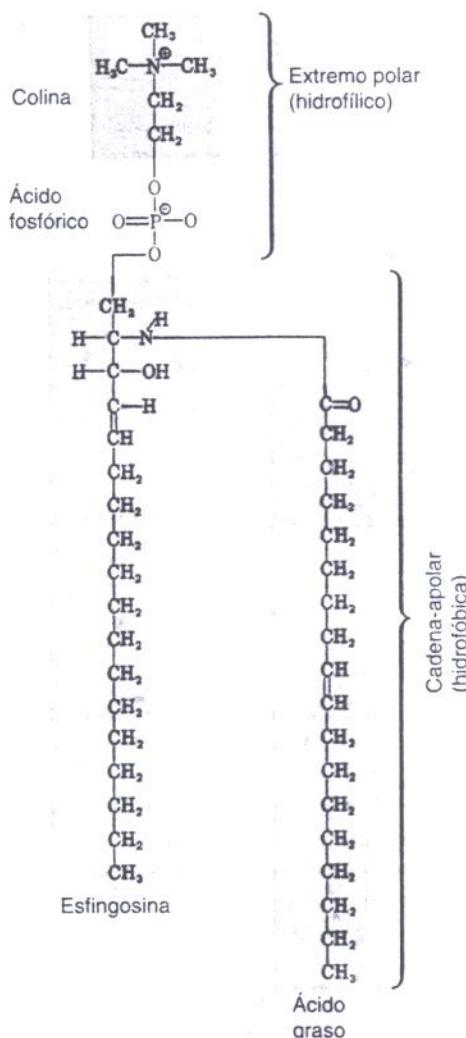


▲ Fig. 3.26. Fórmula de los fosfoglicéridos. El radical R puede ser la colina, la etanolamina, la serina o la treonina. Esos fosfolípidos son denominados fosfatidilecolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilsérina y fosfatidiltreonina, respectivamente.

La presencia de largas cadenas hidrofóbicas en los lípidos es de gran importancia biológica, ya que ellas posibilitan la **interacción hidrofóbica** responsable de la asociación de lípidos para formar la bicapa lipídica de las membranas celulares. La fijación de las proteínas integrales de las membranas es debida a la interacción de las regiones hidrofóbicas de las moléculas de esas proteínas con los lípidos de las membranas.

La interacción hidrofóbica también es importante en el transporte de lípidos en el plasma. Por ejemplo, los esteroides circulan unidos a una región hidrofóbica de la superficie de la molécula de albúmina, que es soluble en agua.

Los lípidos tienen menor diversidad funcional que las proteínas y polisacáridos. Tienen principalmente una función energética y estructural. Su actividad informacional está restringida a algunas hormonas esteroideas.



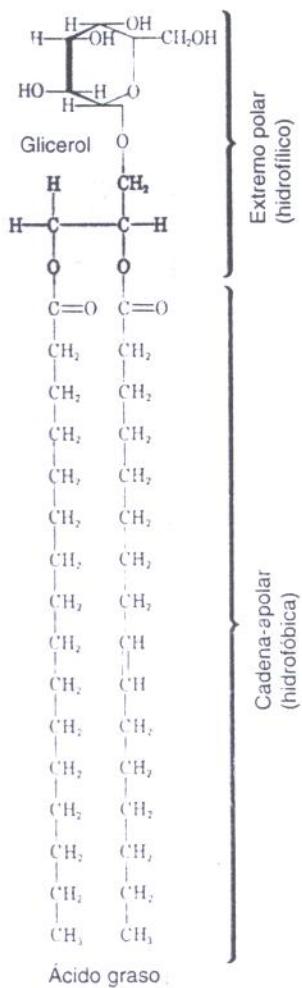
▲ Fig. 3.27. Fórmula de la molécula de esfingomielina.

Los polisacáridos forman reservas nutritivas y se unen a proteínas para formar glicoproteínas (función enzimática y estructural) y glicosaminoglicanos (función estructural)

Los polisacáridos son polímeros de monosacáridos. Hay polisacáridos con moléculas lineales, mientras otros tienen moléculas ramificadas. La molécula de algunos polisacáridos está constituida por la repetición de un único tipo de monosacárido. Son los polisacáridos simples u homopolímeros. Por ejemplo, el **almidón** y el **glucógeno** son polímeros simples de D-glucosa y no contienen otro tipo de molécula. Los polisacáridos complejos (heteropolímeros), constituidos por más de un tipo de monosacárido, son menos frecuentes en las células, sin embargo algunos son biológicamente muy importantes.

Los polisacáridos se encuentran asociados a la superficie externa de la membrana celular, desempeñando un papel estructural e informacional. Son encontrados también como reserva nutritiva, que la célula utiliza cuando existe la necesidad metabólica.

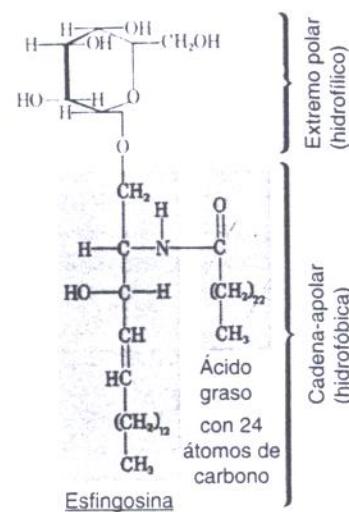
Polisacáridos de reserva. Los polisacáridos de reserva son el glucógeno en las células animales y el almidón en la célula de las plantas; ambos son polímeros de la D-glucosa.



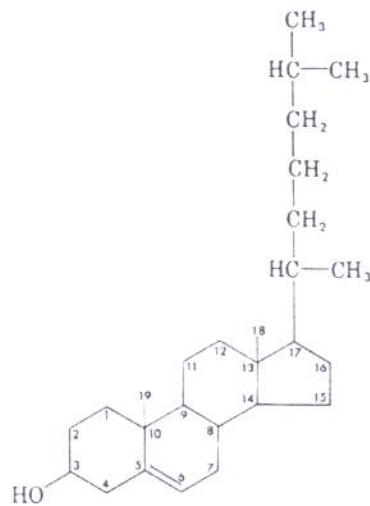
▲ Fig. 3.28. Fórmula de la molécula de un glicolípido.

Glucógeno. El glucógeno se encuentra en el citoplasma de las células animales bajo la forma de gránulos, con un diámetro de 15 a 30 nm, generalmente dispuestos en acúmulos. (Fig. 1.12.). Los gránulos de glucógeno, además del polisacárido, contienen proteínas, inclusive las enzimas responsables de la síntesis y despolimerización del glucógeno.

La D-glucosa, recibida en exceso por la célula es adicionada por un proceso enzimático a los extremos de la molécula de glucógeno. En los momentos de necesidad, también por actividad enzimática, se liberan las moléculas de D-glucosa, que serán utilizadas para los procesos metabólicos de la célula. Algunas células,



▲ Fig. 3.29. Fórmula de la molécula de un cerebrósido.



▲ Fig. 3.30. Fórmula de la molécula del colesterol. La parte cíclica de la molécula es común a todos los esteroides.

como las del hígado, liberan glucosa a la sangre, para mantener estable la concentración de este azúcar en el plasma sanguíneo, lo que es de gran importancia para las funciones de los diversos tejidos del cuerpo.

La molécula de glucógeno tiene dimensiones variables y es muy ramificada en todas las direcciones del espacio. La Fig. 3.31. es su representación esquemática, en dos dimensiones.

Almidón. Al contrario de la célula animal, que almacena glucógeno, la célula vegetal tiene almidón como reserva energética. El almidón está compuesto por dos tipos de moléculas: la **amilosa**, un polímero lineal, y la **amilopectina**, un polímero ramificado; ambos polímeros están constituidos por unidades de glucosa.

Polisacáridos estructurales e informacionales. Además de los polisacáridos de reserva nutritiva (glucógeno y almidón), las células sintetizan otros polisacáridos que se unen a la superficie celular, donde

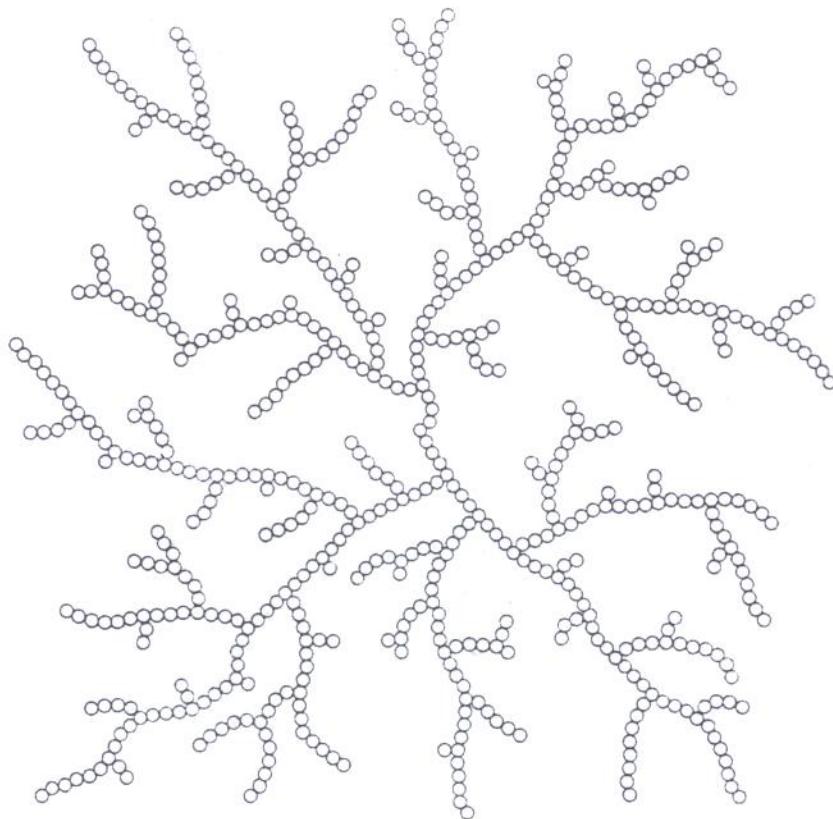


Fig. 3.31. Esquema plano de la molécula de glucógeno que en la realidad se ramifica en todas las direcciones del espacio, como las ramas de un árbol. Cada círculo representa un residuo de glucosa.

desempeñan diversas funciones, sirviendo en algunos casos como elementos de sustento. Combinados con proteínas, esos polisacáridos forman parte del glicocalix de las células animales y de las paredes de células bacterianas y de la pared de las células de las plantas. La mayoría de los polisacáridos estructurales e informacionales son **heteropolímeros**. Debido a su complejidad, la estructura de muchos de ellos aún no ha sido elucidada. De un modo general, pueden ser divididos en dos grandes grupos: los **glicosaminoglicanos**, que se unen a proteínas para formar los **proteoglicanos** y las **glicoproteínas**, cuya estructura general será explicada en el Cap. 12. La Tabla 3.4. proporciona una visión general de la diversidad funcional y estructural de los principales componentes macromoleculares de las células. Los polisacáridos tienen funciones energéticas, estructurales e informacionales (glicocalix y hormonas glicoproteicas).

Resumen

Existe, en las células, una preponderancia absoluta de los compuestos de carbono, aunque ellos sean extremadamente

rarares en la litosfera (corteza terrestre). Esto sugiere que las primeras células estaban constituidas con estos compuestos y que esta selección fue transmitida a las células siguientes, durante el proceso evolutivo. Las funciones vitales dependen de la presencia de macromoléculas poliméricas de compuestos de carbono. Esos polímeros están constituidos por la asociación, en número variable, de unidades o monómeros, que pueden ser iguales, en los homopolímeros como el glucógeno, o diferentes en los heteropolímeros, como los ácidos nucleicos. Los biopolímeros más importantes son las proteínas, formadas por aminoácidos, los polisacáridos constituidos de monosacáridos y los ácidos nucleicos formados por nucleótidos.

Es muy común la asociación de macromoléculas para formar complejos como lipoproteínas, glicoproteínas, proteoglicanos y nucleoproteínas (ácidos nucleicos y proteínas).

La asociación entre agua y vida es bien conocida, y todas las células son obviamente ricas en agua. La molécula de agua es un dipolo, con un extremo eléctricamente más negativo (más rico en electrones) que el otro. Por sus propiedades, las moléculas de agua influyen poderosamente en los procesos metabólicos, teniendo un papel también en la configuración espacial de las macromoléculas y por lo tanto, en la actividad funcional de éstas.

Las proteínas tienen un papel enzimático y participan de

la estructura y de los movimientos celulares. El papel de los ácidos nucleicos es principalmente de carácter informacional: constituyen los genes y son responsables de la expresión de la información en ellos contenida. Excepcionalmente, el RNA puede tener actividad enzimática. Los lípidos están presentes en todas las membranas celulares, donde tienen un papel estructural, y como depósitos citoplasmáticos, representan también una reserva nutritiva que es metabolizada para proporcionar energía a la célula. Los polisacáridos en combinación con proteínas tienen un papel estructural. Aisladamente son encontrados bajo la forma de almidón en las células vegetales y de glucógeno en las células animales, representando un importante material energético.

Bibliografía

- ARMSTRONG, F.B. Biochemistry. 3rd ed. Oxford Univ. Press, 1989.
- DOOLITTLE, R.F. Proteins, *Sci. Am.*, 253(4):88, 1985.
- GILBERT, W. The RNA world. *Nature*, 319:618, 1986.
- GUERRIER - TAKADA, C. and ALTMAN, S. Catalytic activity of an RNA molecule prepared by transcription in vitro. *Science*, 223:285, 1985.

- LEHNINGER, A.L. Biochemistry. The Molecular Basis of Cell Structure and Function. 2nd ed. Worth Pub., 1982.
- LEHNINGER, A.L., NELSON, D.L., and COX, M.M. Principles of Biochemistry. 2nd ed. Worth Pub., 1993.
- McGILVERY, R.W. and GOLDSTEIN, G. Biochemistry. A functional Approach. 2nd. ed. Saunders, 1979.
- MILDVAN, A.S. Mechanism of enzyme action. *Ann. Rev. Biochem.*, 43:357, 1974.
- MURRAY, R.K. et al. Harper's Biochemistry, 22nd ed. Appleton & Lange, 1990.
- PERUTZ, M. Protein Structure: New Approaches to Disease and Therapy. Freeman, 1992.
- SCHWEIGGER, H.G. (ed.) International Cell Biology. Springer-Verlag, 1981.
- SIGMAN, D.S. and MOOSER, G. Chemical studies of enzyme active sites. *Ann Rev. Biochem.*, 44:889, 1975.
- STRYER, L. Biochemistry. 3rd ed. Freeman, 1988.
- TANFORD, C. The hydrophobic effect and the organization of living matter. *Science*, 200:1012, 1978.
- VOET, D. AND VOET, J.G. Biochemistry. 2nd ed. John Wiley, 1995.
- ZAUG, A.J. and CECH, T.R. The Intervening sequence RNA of Tetrahymena is an enzyme. *Science*, 231:470, 1986.