

**Guía de Estudio Dirigido****Tema 6: ESTRUCTURA Y QUÍMICA DE NUCLEÓTIDOS Y ÁCIDOS NUCLEICOS****Nucleósidos fosfato y bioenergética**

1. Los nucleósidos están constituidos por una base nitrogenada unida por un enlace N-glicosídico a ribosa o desoxirribosa. Formular, numerar y nombrar:
  - a. Los cuatro nucleósidos principales presentes en el ADN.
  - b. Los cuatro nucleósidos principales presentes en el ARN.
  - c. Ribotimidina y desoxiuridina.
2. Los nucleósidos esterificados con uno o más grupos fosfato constituyen los nucleótidos. Los nucleósidos 5'-fosfato son a su vez las unidades monoméricas de los ácidos nucleicos y compuestos con importantes funciones biológicas como transportadores de moléculas sillares en forma energizada y canalizadores de energía química en rutas bioquímicas específicas.
  - a. Formular y nombrar los nucleótidos mono, di y trifosfato precursores en la síntesis de ácidos nucleicos.
  - b. Formular uridín-difosfo-glucosa y citidín-difosfo-colina, transportadores de glucosa y fosfocolina en la biosíntesis enzimática de glucógeno y fosfoglicéridos respectivamente.
  - c. En los ARN de transferencia (ARNt) se encuentran dos nucleótidos poco frecuentes los ácidos ribotimidílico y pseudouridílico. Formular.
3. Los nucleósidos y nucleótidos son susceptibles de ser hidrolizados en medio ácido, si bien los que contienen bases púricas lo hacen con mayor velocidad que los que presentan bases pirimídicas.
  - a. Plantear el mecanismo de hidrólisis ácida sobre citidina.
  - b. Plantear el mecanismo de hidrólisis ácida sobre adenosina.
  - c. Justificar adecuadamente porqué dihidrouridina hidroliza más rápido que uridina.
  - d. Justificar adecuadamente porqué pseudouridina no hidroliza en medio ácido acuoso.
4. El AMP cíclico (AMPc) y el GMP cíclico (GMPc) son dos nucleótidos que desempeñan el rol de segundos mensajeros. Estos 5',3'-fosfatos cíclicos de ribonucleósidos son sintetizados en las membranas celulares a partir de ATP y GTP por la acción catalítica de las enzimas adenilatociclasa y guanilatociclasa respectivamente. Formularlos, numerarlos y nombrarlos.

5. La estructura del ATP fue descrita en 1929, en los años cuarenta se dilucidó su rol cíclico en la transferencia energética.
  - a. Formular ATP. Numerar sus grupos fosfato.
  - b. Señalar qué protones son ionizables a pH 7.
  - c. Formular los complejos con  $Mg^{++}$  que constituyen tanto ATP como con ADP en células intactas.
6. Una reacción química sólo es factible si el  $\Delta G$  es negativo, es decir solo si disminuye la energía libre del sistema.
  - a. Plantear el desarrollo de ecuaciones que permite llegar al cálculo de  $\Delta G^\circ$  en base a la constante de equilibrio y así predecir si las reacciones son endergónicas o exergónicas.
  - b. Calcular el  $\Delta G^\circ$  para la siguiente reacción catalizada por la enzima fosfoglucomutasa que alcanza el equilibrio a  $25^\circ C$  y pH 7,00 cuando la concentración de glucosa-1-fosfato es 0,001M y la de glucosa-6-fosfato es 0,019 M.
7. Las variaciones de energía libre estándar son aditivas en cualquier secuencia de reacciones consecutivas. Calcular el  $\Delta G^\circ$  de hidrólisis de ATP sabiendo que la  $K'_{eq}$  de la fosforilación de glucosa ATP dependiente es 661, mientras que la  $K'_{eq}$  de hidrólisis de glucosa-6-fosfato es 171.
8. El  $\Delta G^\circ$  de hidrólisis del ADP es -7,3 Kcal/mol, mientras que el de AMP es de -3,4 Kcal/mol. Analizar las bases estructurales de esta variación en la energía libre.
9. Analizar la tabla de energía libre estándar de hidrólisis de algunos compuestos fosforilados y observar el potencial de transferencia de grupo fosfato (Definido como  $-\Delta G^\circ$  en Kcal/mol).
  - a. Señalar cuál es la importancia de la situación de ATP en la tabla.
  - b. Analizar, en base al cálculo del  $\Delta G^\circ$  porqué 3-fosfogliceraldehído-3-fosfato en la reacción catalizada por la enzima 3-fosfogliceraldehído quinasa es capaz de fosforilar ADP.
  - c. ¿Qué porcentaje de la energía libre de hidrólisis del 3-fosfogliceraldehídofosfato es utilizado para fosforilar ADP?
10. Fosfoenolpiruvato es otro compuesto ubicado por encima de ATP en la tabla de potenciales de transferencia de grupo fosfato.
  - a. Plantear la reacción de fosforilación de ADP que cataliza la piruvatoquinasa.

- b. Calcular el  $\Delta G^{\circ}$  de la reacción.
  - c. Dar las razones estructurales que justifiquen el valor más negativo del  $\Delta G^{\circ}$  de esta reacción comparado con el de la reacción involucrada en el ejercicio anterior.
11. Los fosfágenos desempeñan el papel de almacenadores de energía del enlace fosfato. El átomo de fósforo se halla unido a un átomo de nitrógeno de un grupo guanido.
- a. Formular fosfocreatina, el fosfágeno presente en el tejido muscular de los vertebrados y la reacción por medio de la cual se fosforila ADP.
  - b. Idem al ítem anterior pero sobre fosfoarginina, el fosfágeno de los invertebrados.
  - c. Justificar adecuadamente porqué a pesar de lo observado en los ítems anteriores creatina se fosforila a expensas de ATP.

### Ácidos nucleicos

12. Los ácidos nucleicos están constituidos por nucleótidos unidos entre sí por enlaces fosfodiéster entre el hidroxilo 3' de un nucleótido y el 5' del siguiente. El esqueleto del ADN como de los distintos tipos de ARN esta constituido por grupos alternantes fosfato y pentosa, en los que los puentes fosfodiéster proporcionan una continuidad covalente y las bases púricas y pirimídicas constituyen cadenas laterales diferenciadas.
- a. Formular una fracción de ARN que contenga al menos cuatro restos nucleotídicos.
  - b. Formular una fracción de una monohebra de ADN que contenga al menos cuatro restos nucleotídicos.
  - c. Representar en forma taquigráfica los ácidos nucleicos desarrollados covalentemente en los ítems anteriores.
13. ADN y ARN presentan distinta reactividad frente a soluciones alcalinas diluidas (NaOH 0,1 N 25°C). Justificar adecuadamente mediante el planteo del mecanismo de reacción correspondiente.
14. Sobre una monohebra de ADN plantear las reacciones de hidrólisis en medio ácido a pH 1,6 y 37°C y en condiciones enérgicas. Justificar adecuadamente en base a lo observado en los ejercicios anteriores porqué en el primer caso se obtiene el ácido apurínico.

**Ejercicios propuestos**

15. En 1953 Watson y Crick postularon, en base al análisis de difracción por RX, la estructura de doble hélice del ADN. La composición de bases nitrogenadas varía según la especie pero es constante en los diferentes tejidos de un organismo, además el número de restos de adenina es igual al de timina y el de citosina al de guanina. Actualmente sabemos que el ADN puede presentarse en tres formas: A, B y Z, siendo la B la forma biológicamente más importante. El análisis por R.X. de la misma revela la presencia de dos periodicidades, una mayor de 3,4 nm y otra menor de 0,34 nm.
- Describir la estructura propuesta por Watson y Crick para el ADN y formular las uniones puente hidrógeno que mantienen unidos los pares de acuerdo a este modelo. Señalar a qué hecho estructural se atribuye la existencia de las periodicidades mencionadas.
  - Indicar qué significado tiene que la hélice presente arrollamiento plectonómico y que las hebras sean antiparalelas y enumerar las fuerzas que mantienen unida la doble hélice de ADN.
  - Justifique formulando la razón estructural que da origen a la existencia de las formas A y Z del ADN. Señale cuales son las características de cada una de ellas, comparadas con el modelo de Watson y Crick (forma B).
16. Para el análisis de moléculas nativas y de fragmentos de ADN se emplean distintos métodos físico-químicos.
- Indicar cómo se encuentran los grupos fosfatos a pH fisiológico y cómo se estabilizan.
  - Explicar a qué característica estructural se debe la alta viscosidad del ADN y por qué los estudios en disolución deben realizarse con soluciones altamente diluidas.
  - Indicar cómo puede establecerse el peso molecular de una muestra de ácidos nucleicos.
  - La densidad de flotación aporta información acerca del tipo de ácido nucleico. Diagramar el perfil de un tubo que contiene ADN bifibrilar y ADN monohebra pero esta contaminado con restos de ARN y proteínas. Explicar por qué razón la densidad de flotación proporciona información sobre la composición de bases nucleotídicas de una muestra de ADN.
  - El desenrollamiento y separación de las cadenas de ADN sin pérdida de la estructura covalente se denomina desnaturalización. Señalar en qué casos la desnaturalización es reversible y en qué casos no. Indicar qué cambios físicos pueden inducir la desnaturalización del ADN y cómo pueden ponerse de manifiesto.

- f. Explique a qué se denomina efecto hipercrómico y porqué es más notable cuanto mayor es el porcentaje de pares de bases adenina-timina.
  - g. Señale por qué razón puede compararse el punto de fusión de un compuesto orgánico sencillo con la desnaturalización del ADN. Indique qué relación presentan la composición de bases con el  $T_m$ .
17. En la síntesis de proteínas están involucrados tres tipos de ARN. Si bien todos son monocatenarios los ARN de transferencia (ARNt) presentan una estructura especial, con características comunes y otras específicas de acuerdo al aminoácido que transfieren en el proceso de síntesis proteica. Describir la estructura de un ARNt. Señalar porqué el ARNt presenta efecto hipercrómico a pesar de ser monocatenario. Indicar qué importancia presenta la existencia de nucleótidos especiales como pseudouridina y dihidouridina. Señalar cómo está constituido el brazo anticodón.
18. El proyecto genoma utiliza el método de Sanger para secuenciar ácidos nucleicos. Por este avance este investigador recibió su segundo premio Nobel en 1980 que compartió con Berg y Gilbert, este último también había participado en el desarrollo del primer método de secuenciamiento de ácidos nucleicos basado en reacciones de clivaje químico selectivas. Describir brevemente el método de Sanger y justificar cada uno de los pasos del mismo (Ejercicio a realizar luego de desarrollar el tema 7)