

Guía de Estudio Dirigido**TEMA 5: ESTRUCTURA Y QUÍMICA DE AMINOACIDOS Y PROTEÍNAS.**

1. Formular los siguientes aminoácidos: alanina, fenilalanina, lisina, histidina, isoleucina, treonina. Indicar para cada uno de ellos:
 - a- ¿Cuántos centros quirales posee?
 - b- ¿Cuántos isómeros?
 - c- Dibujar las fórmulas en perspectiva de todos los isómeros ópticos.
 - d- ¿Cómo designaría cada uno de ellos según las reglas de Cahn, Ingold y Prelog?
 - e- En base a datos bibliográficos consignar los valores de rotación óptica. ¿Puede indicar dicho valor si se trata de un aminoácido D o L?
2. Mencionar las causas y evidencias que indican el comportamiento de ión bipolar (zwitterion) que presentan los aminoácidos.
3. Justificar adecuadamente porqué la ionización del grupo α -carboxilo de los aminoácidos (con valores de pKa entre 1,83 y 2,36) ocurre a valores de pH sustancialmente más bajos que la ionización de un ácido carboxílico (pKa \approx 5).
4. Formular las ecuaciones de disociación, en medio ácido y alcalino, para los siguientes aminoácidos: alanina (pK₁= 2,34; pK₂= 9,69), cisteína (pK₁= 1,96; pK₂= 10,18; pK_R=8,18), ácido glutámico (pK₁= 2,19; pK₂= 9,67; pK_R= 4,25) e histidina (pK₁= 1,87; pK₂= 9,17; pK_R= 6,00). Diagrame las correspondientes curvas de disociación. Calcule el punto isoeléctrico o isoiónico (PI) para cada uno de los aminoácidos.
5. Justificar adecuadamente las diferencias entre los valores de pK_R entre:
 - a- ácido glutámico (pK_R=4,25) y ácido aspártico (pK_R=3,65)
 - b- lisina (pK_R=10,53), arginina (pK_R=12,48) e histidina (pK_R=6,00)
6. Diagramar y justificar adecuadamente cómo se observaría la separación electroforética de una mezcla de: ácido aspártico (pK₁= 1,88; pK₂= 9,60; pK_R= 3,65), alanina (pK₁= 2,34; pK₂= 9,69) y lisina (pK₁= 2,18; pK₂= 8,65; pK_R= 10,53), realizada sobre acetato de celulosa a pH=6.
7. Formular la reacción de un aminoácido, a su elección, con ninhidrina. Plantear el mecanismo general de la reacción. Realizar la misma reacción sobre prolina.
8. Plantear el mecanismo general de hidrólisis ácida y alcalina para derivados de ácidos carboxílicos y justificar la disminución de velocidad de hidrólisis en el siguiente orden:



9. Para los siguientes péptidos, postular el mecanismo de hidrólisis:
- a- Leucilalanina, en medio ácido
 - b- Fenilalanilvalina, en medio básico
10. Justificar la razón por la cual, alanilglicina y valilglicina presentan la diferente velocidad de reacción frente a la hidrólisis ácida. Explicar (en base al correspondiente mecanismo) la mayor velocidad de hidrólisis en medio ácido de arginilserina respecto de arginilvalina.
11. Formular el siguiente polipéptido Ala-Ser-Trp-Phe-Ile-Lys-Asp-Arg. Indicar el sitio de acción de Tripsina y Quimiotripsina.
12. Formular el siguiente péptido: Asp-Leu-Tyr-Glu-Ser y sobre el mismo realizar las reacciones para determinar el grupo amino terminal con:
- a- Reactivo de Sanger (2,4-DNFB)
 - b- Cloruro de Dansilo (Cloruro de 1-dimetilamino-naftaleno-5-sulfonilo)
- Indicar el mecanismo de reacción en cada caso.
13. Sobre el péptido anterior, plantear la reacción de degradación secuencial de Edman, indicando las ventajas de la misma.
14. Sobre el siguiente péptido: Ala-Ser-Met-Leu-Glu, formular la reacción que tiene lugar con bromuro de cianógeno (clivaje químico selectivo para metionina).
15. Formular el segmento de la molécula de insulina que involucra las uniones puente disulfuro y sobre el mismo plantear las reacciones con:
- a- Ácido perfórmico
 - b- 2-mercaptoetanol
 - c- Ditiotreitól
16. Glutación es un tripéptido que tiene importancia como regulador de las reacciones de óxido-reducción en las células de los animales. Sugerir la estructura de glutación basándose en los siguientes resultados experimentales:
- a- Por hidrólisis ácida parcial se obtienen en cantidades equimoleculares glicina, cisteína y ácido glutámico
 - b- Por acción de la carboxipeptidasa se libera glicina
 - c- Por reacción con 2, 4-dinitroflourbenceno se obtiene *N*-(2,4-dinitrofenil)- γ -glutámico
17. La hidrólisis total de un heptapéptido da la siguiente composición en aminoácidos:

Val₂, Met₁, Gly₁, Ser₁, Ala₁, Pro₁

- a- El tratamiento del grupo *N*-terminal con 2,4-DNFB da 2,4-DNF-Serina
- b- El tratamiento del heptapéptido con bromuro de cianógeno (BrCN) y posterior hidrólisis conduce a dos péptidos, cuyo análisis del grupo amino-terminal da 2,4-DNF-Serina y 2,4-DNF-Valina respectivamente. Por hidrólisis parcial del heptapéptido se obtienen los siguientes di y tripéptidos:

Val, Met (DNF-Val)

Ala, Gly (DNF-Gly)

Pro, Val, Ser

Gly, Val, Ala (DNF-Val)

Con los datos mencionados, deducir la estructura primaria del heptapéptido.

18. La hidrólisis de un compuesto "A" (p.f.: 277-9⁰C, PM: 796), da un mol de cloruro de amonio más los siguientes aminoácidos en las proporciones molares indicadas:

Val₁, Leu₂, Pro₁, Phe₁, Ser₁, Asp₁

- a- El compuesto "A" es soluble en varios solventes orgánicos y es insoluble en agua. No reacciona con 2,4-dinitrofluorobenceno bajo condiciones normales. Cuatro dipéptidos (B-E), fueron aislados por hidrólisis ácida parcial del compuesto "A", los mismos tienen la siguiente composición:

B: Leu₁, Asp₁

C: Val₁, Asp₁

D: Ser₁, Fen₁

E: Leu₁, Asp₁

- b- Las determinaciones de grupos terminales de los péptidos B-E, dan DNF-Asp, DNF-Val, DNF-Ser y DNF-Asp respectivamente.
- c- La hidrólisis suave del compuesto "A", da dos péptidos grandes, con la secuencia *N*-terminal (determinada mediante reactivo de Edman).

F: Leu-Pro-Val.....

G: Fen-Leu-Pro.....

- d- Los estudios electroforéticos muestran que el fragmento "B" sufre un reordenamiento que da origen a otro denominado "E" que a pH=3 avanza hacia el cátodo pero a pH=10 presenta la misma movilidad electroforética hacia el ánodo que "B". Justificar adecuadamente este comportamiento diferencial.

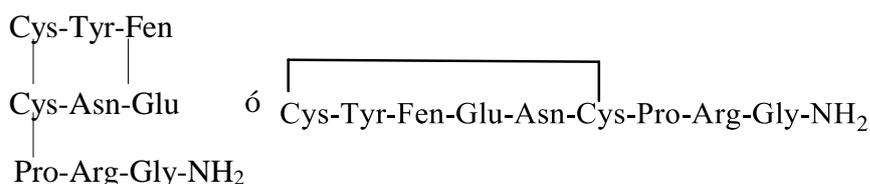
En base a todas estas experiencias, proponer la estructura del compuesto "A".

19. El enlace peptídico es el único enlace covalente entre los aminoácidos sucesivos del esqueleto de las cadenas polipeptídicas. Dicho enlace posee cierto carácter de enlace doble conformando un plano que contiene seis átomos. Teniendo en cuenta esto:
- a- Formular la estabilización por resonancia del enlace peptídico.
 - b- Describir el plano que conforma indicando a qué se debe la restricción de rotación que presentan los enlaces sencillos de una cadena polipeptídica.
20. La forma en que la estructura primaria de una proteína se dispone espacialmente de acuerdo a las posibilidades de estabilización que brinda su secuencia de aminoácidos constituye la estructura secundaria. En base a esto:
- a- Describir la estructura de una hélice α y señalar cuáles son sus propiedades ópticas, ejemplificar con el comportamiento diferencial que presentan los polímeros de L-glutámico y L-lisina al variar el pH de soluciones acuosas.
 - b- Representar esquemáticamente la conformación β que puede asumir una cadena polipeptídica. Indicar a que se denomina disposición en lámina plegada y que restos aminoacídicos predominan en este tipo de estructuras. Esquematizar una hoja plegada paralela y una hoja plegada antiparalela.
21. La forma de plegarse de una proteína constituye su estructura terciaria. Las proteínas globulares son plegamientos compactos con poco espacio para moléculas de agua en su interior, de modo que hacia el exterior ubican los grupos R hidrofílicos y hacia el interior los hidrofóbicos. En base a esto:
- a- Describir las fuerzas que estabilizan la estructura terciaria de una proteína.
22. La biosíntesis de proteínas constituye un proceso complejo y altamente sincronizado en la naturaleza. Tampoco es sencillo sintetizar péptidos por vía química, aunque existen algunos métodos muy estandarizados. El más difundido es el método de Merrifield. Plantear los pasos a seguir para sintetizar el tripéptido leucilalanilvalina.

Ejercicios complementarios

Estructura primaria

1-La vasopresina también llamada hormona antidiurética (ADH) es una hormona peptídica producida por la glándula hipófisis o pituitaria que actúa sobre el riñón reduciendo la excreción de agua y provocando un aumento de la presión sanguínea. Su estructura primaria es la siguiente:



2-Oxitocina difiere de vasopresina, en la sustitución del residuo de arginina por leucina y de fenilalanina por isoleucina. Formular la estructura primaria de oxitocina en forma covalente.

Estructura secundaria

- 1-Formular covalentemente la estructura de un giro β .
- 2-Describir la estructura de colágeno señalando que aminoácidos predominan y los modelos de secuencia que se repiten. Formular la formación de los entrecruzamientos covalentes constituidos por lisilnorleucina.
- 3- Definir estructura supersecundaria y representar esquemáticamente los modelos de horquilla, lámina, guarda griega y modelo $\beta\alpha\beta$.

Estructura terciaria y cuaternaria

- 1-Describir la estructura de mioglobina y de su grupo prostético HEMO.
- 2-Describir las estructuras terciaria y cuaternaria de hemoglobina. Indicar, formulando, la forma de transporte de O_2 , H^+ y CO_2 . ¿Cuáles dos conformaciones de interés bioquímico presenta Fe^{++} en el grupo prostético de la hemoglobina, en los estados oxidados (oxihemoglobina) y reducido (deoxihemoglobina)?

Plegamiento de proteínas

1-Los aminoácidos tienen distinta tendencia a la hora de constituir estructuras secundarias. Analizar la siguiente tabla de frecuencias relativas de presencia de diferentes residuos de aminoácidos en estructuras secundarias y justificar porque:

- a. Val e Ile desestabilizan las α -hélices y prefieren formar hojas β
- b. Ser, Asp y Asn suelen interrumpir las estructuras α -helicoidales.

Frecuencias relativas con las que se presentan los distintos residuos de aminoácidos en las estructuras secundarias de las proteínas.

Aminoácido	Hélice α	Lámina β	Giro β
Ala	1,29	0,90	0,78
Cys	1,11	0,74	0,80
Leu	1,30	1,02	0,59
Met	1,47	0,97	0,39
Glu	1,44	0,75	1,00
Gln	1,27	0,80	0,97
His	1,22	1,08	0,69
Lys	1,23	0,77	0,96
Val	0,91	1,49	0,47
Ile	0,97	1,45	0,51
Phe	1,07	1,32	0,58
Tyr	0,72	1,25	1,05
Trp	0,99	1,14	0,75
Thr	0,82	1,21	1,03
Gly	0,56	0,92	1,64
Ser	0,82	0,95	1,33
Asp	1,04	0,72	1,41
Asn	0,90	0,76	1,28
Pro	0,52	0,64	1,91
Arg	0,96	0,99	0,88

Tomado de T. E. Creighton, *Proteins: Structures and Molecular Properties*, 2ª Edición (W. H. Freeman, 1992), p. 256.

- c. Pro no se halla en el interior de las hélices y en cambio es frecuente su presencia en las porciones *N*-terminales de los segmentos helicoidales.
 - d. Gly si bien puede integrarse a hélices α , no favorece su formación.
-
- b- Las proteínas tienden a plegarse cooperativamente. Esto genera que en una mezcla de proteínas “parcialmente plegada” existan principalmente moléculas: totalmente plegadas, moléculas totalmente desplegadas y muy pocas estructuras intermedias. Sin embargo el estudio cinético del plegamiento de algunas proteínas, como la ribonucleasa, ha demostrado que el proceso tiene tres etapas y que pueden distinguirse cuatro conformaciones proteicas. En base a esto:
 - a. Describir los eventos que ocurren en las etapas de nucleación, consolidación y reordenamiento final.
 - b. Indicar las características de las conformaciones *U_s*, *I_i*, *I_n* y *N*.