Guía de Estudio Dirigido

TEMA 7: MECANISMOS QUÍMICOS DE REACCIONES ENZIMÁTICAS.

Enzimas hidrolíticas.

- 1. Esquematizar el mecanismo de sustitución acil nucleófila catalizado por la tríada catalítica de una esterasa y comparar con la saponificación de ésteres.
- 2. El quimotripsinógeno es un zimógeno que por hidrólisis da lugar a la quimotripsina, una endopeptidasa constituida por tres cadenas polipeptídicas estabilizadas por enlaces puente disulfuro. Describir la estructura y esquematizar el mecanismo de acción de quimotripsina como ejemplo de una endopetidasa.
- 3. La lisozima es una enzima que cataliza la hidrólisis de la fracción polisacarídica de muropéptido de parecdes celulares bacterianas. Describir su estructura y el mecanismo de acción comprando con el mecanismo de hidrólisis química de glicósidos previamente estudiado.

Enzimas relacionadas con el metabolismo de los ácidos nucleicos

- 4. Varias enzimas como topoisomerasas, primasas, ligasas y polimerasas están involucradas en el proceso de replicación del ADN. En un esquema sencillo resuma los roles de cada una de ellas en este proceso y formule el mecanismo de polimerización catalizado por las polimerasas I y III. Formule además la reacción catalizada por la ligasa e indique la importancia de esta enzima en el procesamiento de la hebra retardada.
- 5. La principal enzima involucrada en el proceso de transcripción es la ARN polimerasa. Esquematice su mecanismo de reacción indicando cuales son los sustratos y precursores necesarios para su actividad. Indicar cuáles son las características de los transcritos primarios y cuáles son los pasos de procesamiento postraducccional de los ARNm.
- 6. Dos pasos claves aseguran la alta "fidelidad" en la biosíntesis proteica, uno es la carga del aminoácido correcto sobre el ARNt, proceso este catalizado en dos etapas por las diferentes aminoacil-ARNt-sintetasas, y el otro la reacción de formación del enlace peptídico que ocurre en el ribosoma.
 - a) Formular las dos fases de la reacción de activación de aminoácidos ATP dependiente catalizada por la enzima aminoacil- ARNt-sintetasa.
 - b) Formular la reacción de formación de enlace peptídico catalizada por la peptidiltransferasa. Indicar el tipo de mecanismo que se propone para la misma.
- 7. Las nucleasas son enzimas que degradan ADN o ARN hidrolizando el enlace fosfodiester que une un nucleótido al siguiente y pueden clasificarse de acuerdo a la naturaleza de su sustrato en ARNasas o ADNasas y en cuanto a la posición del nucleótido que escinden en exonucleasas o endonucleasas. Esquematizar el mecanismo catalizado por la ribonucleasa o ARNasa A, compararlo con el mecanismo de hidrólisis química de ARN

en medio básico e indicar formulando apropiadamente por qué razón la RNAsa A cataliza sólo la hidrólisis de nucleótidos de bases pirimídicas.

- 8. El descubrimiento de las ribozimas, es decir de las propiedades catalíticas de algunas moléculas de ARN, condujo a un cambio de paradigma en cuanto al concepto de "enzima", que incluso fundamentó la hipótesis denominada "RNA world". Mencionar algunos ejemplos de estas biomoléculas y sus roles biológicos.
- 9. Las enzimas de restricción reconocen una secuencia característica de nucleótidos dentro de una molécula de ADN y la cortan en ese punto en concreto, llamado sitio o diana de restricción, o en un sitio no muy lejano a éste. Indicar qué características generales presentan estos sitios de restricción, cuál es el rol biológico de estas proteínas y, con sendos ejemplos, señalar los dos tipos generales de corte que pueden realizar estas enzimas.
- 10. Explicar en qué se basa la tecnología de la PCR (Polymerase Chain Reaction) y señalar alguna de sus múltiples aplicaciones. Describir particularmente el método de Sanger para secuenciar ADN.

Enzimas de oxido reducción

- 11. El ácido nicotínico, como sal de piridinio, es un componente de los dinucleótidos de nicotinamida y adenina NADH y NADPH, que funcionan como transportadores de electrones en las deshidrogenasas piridín dependientes. Formular el mecanismo de la reacción dependiente de NAD que cataliza la enzima alcoholdeshidrogenasa, indicando la estereoselectividad de la misma y justificar adecuadamente el rol de la sal de piridinio en la misma. Señalar qué diferencia presenta el espectro de absorción de NAD⁺ y NADP⁺ oxidados con respecto a los reducidos.
- 12. La riboflavina o vitamina B_2 es un componente de los coenzimas flavinmononucleótido FMN y flavin-adenin-dinucleótido FAD que actúan como grupos prostéticos transportadores de hidrógeno en enzimas redox.
 - a) Formular la reducción del núcleo de las flavinas en forma secuencial, indicando la transferencia de un electrón por vez que tiene lugar a través de un mecanismo radical área y la formación de la semiquinona o estructura semirreducida. Señalar qué diferencia presenta el espectro de absorción de las flavoproteínas oxidadas con respecto a las reducidas.
 - b) Plantear la reducción de FAD a expensas de NADH por medio de las dos propuestas mecanísticas que explican el proceso una con y la otra sin transferencia directa de hidruro.
 - c) Formular el mecanismo que interpreta la acción de FAD en el sitio activo de las monooxigenasas que dependen de esta coenzima. A modo de ejemplo formular su participación en la oxidación de Baeyer-Villiger sobre cetonas.
- 13. Además de constituir el grupo prostético de mioglobina y hemoglobina, el grupo Hem forma parte del sitio activo de enzimas redox como citocromos y catalasas. Formular la

reacción general de hidroxilación de un sustrato no activado catalizada por una monooxigena P450. Formular en mecanismo redox protagonizado por el Fe de este metalocomplejo en su reacción con el oxígeno el aire.

Enzimas transportadoras de grupos

- 14. El ácido fólico es el precursor del ácido tetrahidrofólico, una coenzima que actúa en la transferencia de restos monocarbonados.
 - a) Formular ácido fólico y tetrahidrofólico. Indicar los distintos sillares que constituyen su estructura y los átomos de nitrógeno N5 y N10 que participan en el transporte unidades de un carbono.
 - b) Formular los siguientes derivados monocarbonados de FH₄: N5-metilen FH₄, N5,N10-metilenFH₄, N5,N10-metenilFH₄, N10-formilFH₄, N5,-formilFH₄ y N5,-forminioFH₄.
 - c) Formular la reacción catalizada por la timidilato sintetasa que da origen a dTMP a partir de dUMP mediado por N5,N10-metilenFH₄.
 - d) Formular la reacción de regeneración de FH₄ a partir de dihidrofolato catalizada por la enzima dihidrofolatorreductasa.
- 15. La S-adenosilmetionina es un donor de grupos metilo activos, incluso posee un potencial de transferencia mayor que N5-metiltetrahidrofolato. Formular la reacción de generación de S-adenosilmetionina a partir de ATP y metionina indicando a qué se debe la alta reactividad del grupo metilo.
- 16. La biotina es el grupo prostético de algunas carboxilasas y funciona como transportador de dióxido de carbono. Está formado por un anillo de imidazol y uno de tiofeno condensados y se encuentra covalentemente unida al grupo ε-amino de un resto de lisina formando la biocitina o biotinilisina. Formular la reacción en dos etapas de carboxilación de piruvato. Indicar qué ventaja presenta que la coenzima este ubicada sobre un brazo largo y flexible.
- 17. El ácido pantoténico es un componente esencial de la coenzima A, que actúa como transportador de grupos acilo durante las oxidaciones enzimáticas, la síntesis de ácidos grasos, la oxidación de piruvato y las acetilaciones biológicas.
 - a) Formular Coenzima A y señalar cada una de sus partes.
 - b) Señalar por qué razón los ésteres de tiol son agentes acilantes más efectivos que los ésteres comunes.
 - c) Formular la formación de acetil CoA ATP dependiente.
 - d) Formular la transferencia de un grupo acilo desde acetilCoA hasta colina catalizada por la enzima colinacetilasa.

- 18. La tiamina o vitamina B1 es necesaria en la dieta de la mayoría de los vertebrados. Químicamente esta constituida por una pirimidina sustituida unida por un puente metileno a un tiazol sustituido y aparece en las células como pirofosfato en las coenzimas activas.
 - a) Formular tiamina y pirofosfato de tiamina. Señalar en qué tipo de reacciones involucradas en el metabolismo de los hidratos de carbono interviene como coenzima indicando cuál es la parte activa de la molécula, justificando esto desde el punto de vista estructural.
 - b) Formular la reacción de descarboxilación de piruvato dónde pirofosfato de tiamina actúa como transportador transitorio de un grupo aldehído activo unido covalentemente. Indicar qué enzima cataliza la reacción. Formular la transferencia del aldehído activo desde hidroxietilpirofosfato de tiamina al ácido lipoico en el sistema enzimático mencionado y la posterior reacción de transtioesterificación con Coenzima A.
 - c) Formular un mecanismo que ilustre el rol del PPT en las transcetolasas.
- 19. La vitamina B6 o piridoxina es el precursor de la coenzima fosfato de piridoxal, el cual es el grupo prostético de la glucógeno fosforilasa, de las transaminasas, de las descarboxilasas y de las racemasas de aminoácidos. Luego de formular piridoxina, piridoxamina, piridoxal, fosfato de piridoxal y fosfato de piridoxamina:
 - a) Plantear el mecanismo de la reacción de transaminación, es decir la transferencia de un grupo α -amino de un aminoácido al átomo de $C\alpha$ de un α -oxoácido.
 - b) Indicar, a partir del equilibrio tautomérico formulado previamente como intermedio de la reacción, cómo el mecanismo puede desviar hacia la descarboxilación y/o la racemización.
 - c) Plantear el mecanismo de hidrólisis de glucógeno catalizado por la glucógenofosforilasa, donde esta coenzima cumple un rol fundamental.
- 20. La vitamina B_{12} o cobalamina esta estructuralmente constituida por dos componentes: el sistema de anillos de corrina y un ribonucleótido cuya base es 5,6-dimetilbenzoimidazol.
 - a) Indicar qué iones satisfacen el índice de coordinación del Co en la cobalamina.
 - b) Plantear un mecanismo 5´-desoxiadenosilcobalamina en transposiciones alquílicas 1,2.