

## TEMA 5. Estructura secundaria, terciaria y cuaternaria de las proteínas.

Fuerzas débiles que estabilizan la estructura tridimensional. Geometría del enlace peptídico. Estructura secundaria: hélices alfa, hojas beta y giros beta. Proteínas fibrosas: alfa-queratina, colágeno. Proteínas globulares. Estructura terciaria. Desnaturalización y plegamiento. Chaperonas moleculares. Estructura cuaternaria. Ventajas estructurales y funcionales de la asociación cuaternaria. Hemoglobina: estructura y función. Efecto Bohr y anemia falciforme

BIOQUÍMICA-1º de Medicina  
Dpto. Biología Molecular  
Jesús Navas

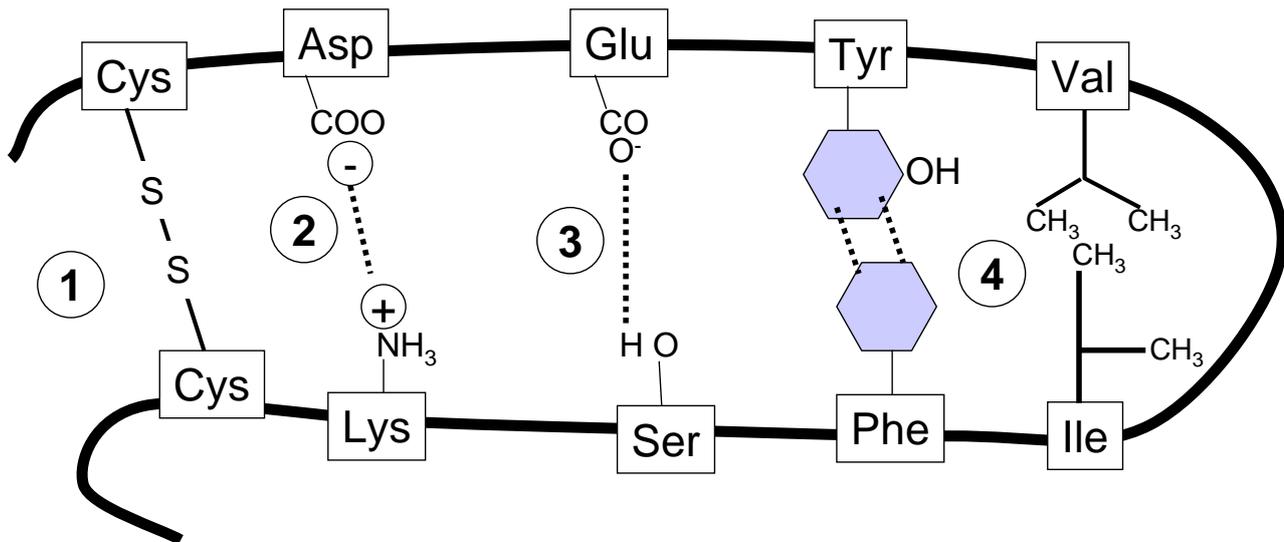


# ESTRUCTURA TRIDIMENSIONAL DE LAS PROTEINAS

- Cada proteína posee una única estructura 3D.
- La estructura 3D de una proteína depende de la secuencia de aacs.
- La función de una proteína depende de su estructura 3D.
- La estructura 3D se estabiliza mediante enlaces disulfuro y fuerzas no covalentes.
- Dentro de la gran variedad de las proteínas se reconocen algunos patrones estructurales comunes.



## FUERZAS QUE ESTABILIZAN LA ESTRUCTURA TERCIARIA



1. Puentes di-sulfuro
2. Atracción electrostática
3. Puentes de hidrógeno
4. Interacción hidrofóbica

Proteínas **nativas** son las que se encuentran en su conformación funcional plegada (la más estable).

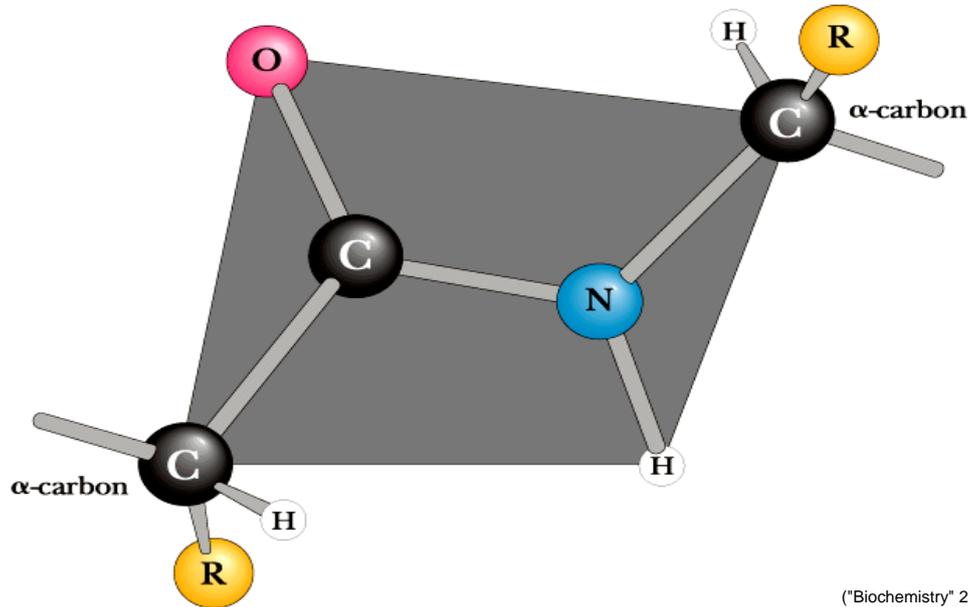
Las interacciones que estabilizan la conformación nativa de una proteína son los puentes disulfuro y las interacciones no covalentes.

La **conformación más estable** es la que permite la formación del **máximo número de puentes de hidrógeno** dentro de la proteína.

En general los residuos hidrofóbicos quedan orientados hacia el interior de la proteína, lejos del contacto con el entorno acuoso. Los residuos hidrofílicos quedan orientados hacia el exterior.

# EL ENLACE PEPTÍDICO ES PLANO Y RÍGIDO

Los seis átomos del grupo peptídico en el mismo plano debido al carácter de doble enlace parcial del enlace peptídico

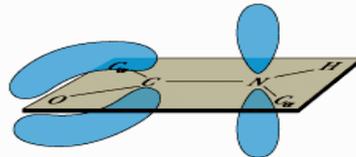
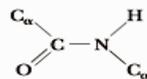


("Biochemistry" 2nd ed. Garrett, R.H. and Grisham, C.M. Saunders College Publishing. 1999.)

5

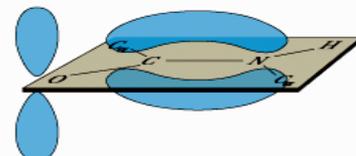
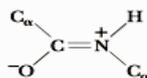
**La resonancia de electrones confiere al enlace peptídico carácter de doble enlace parcial**

(a)

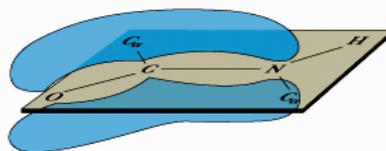


Un doble enlace puro C=O permitiría la rotación alrededor del C-N

(b)



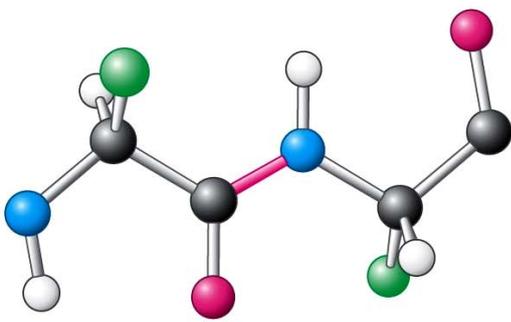
Un doble enlace C=N impediría la rotación pero en ese caso habría una carga neta negativa en el O<sup>-</sup>



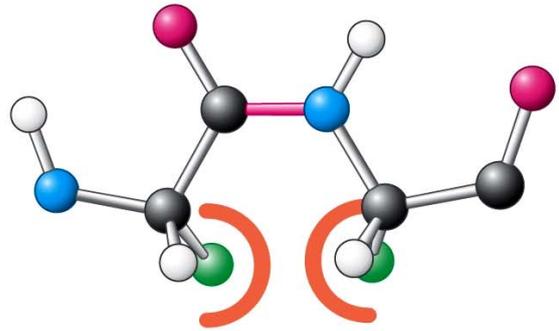
La verdadera densidad electrónica es intermedia. La barrera para la rotación C-N es de unos 88 kJ/mol, que es suficiente para mantener el grupo amido en un plano

("Biochemistry" 2nd ed. Garrett, R.H. and Grisham, C.M. Saunders College Publishing. 1999.)

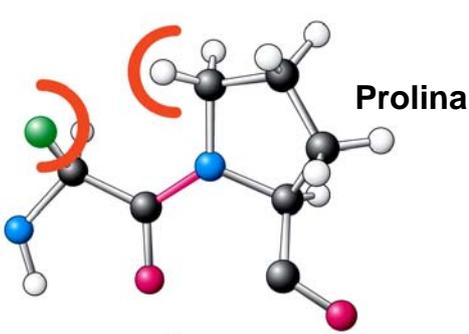
6



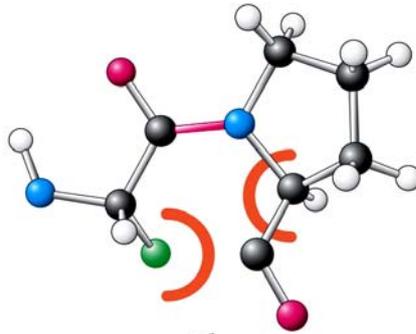
**Trans**  
(casi siempre, excepto con Pro)



**Cis**



**Trans**

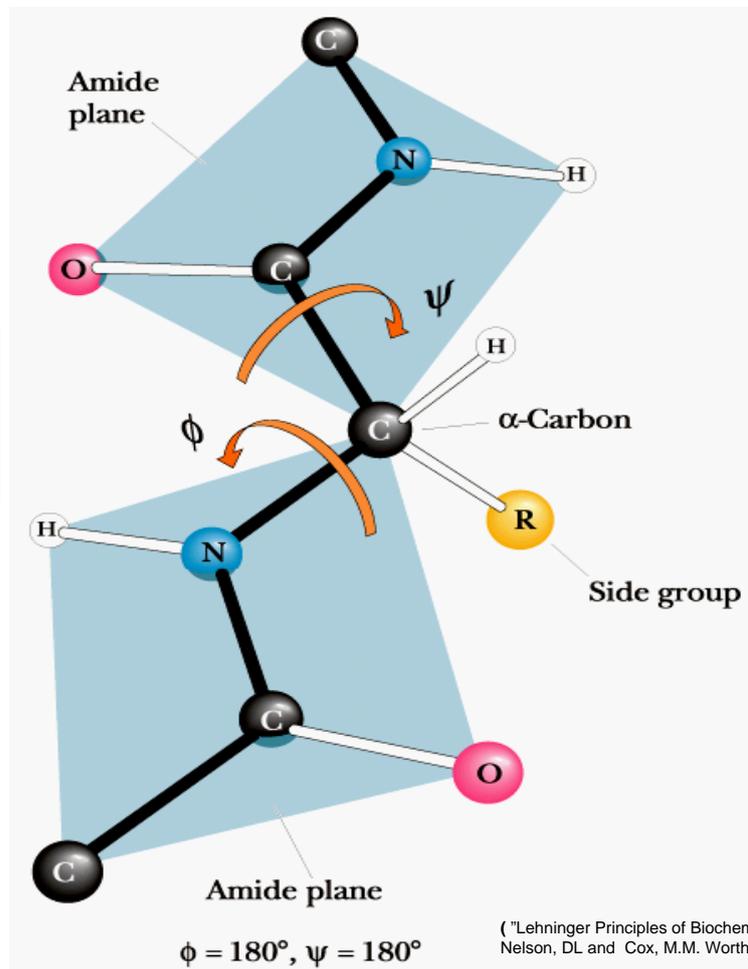


**Cis**



("Biochemistry" 5th ed. Berg, Tymoczko and Stryer. Freeman and Co. 2002) 7

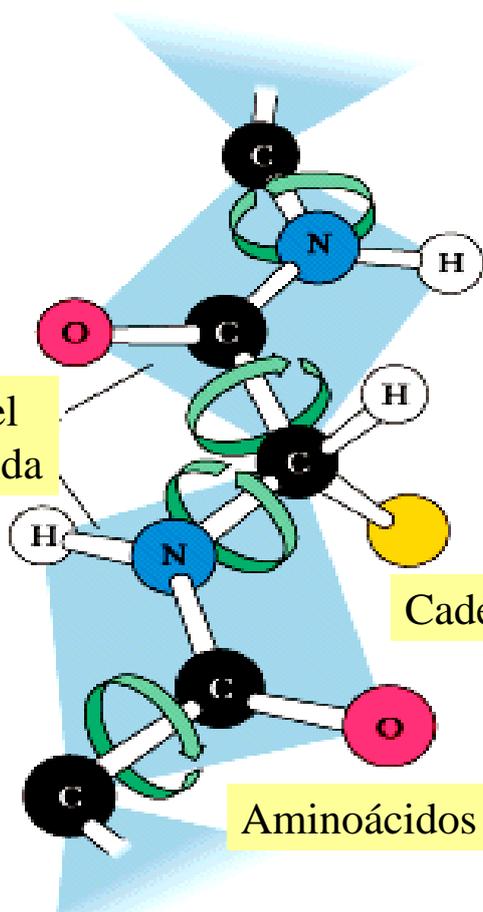
**Hay libre rotación  
alrededor de los enlaces  
Ca-CO y Ca-N**



("Lehninger Principles of Biochemistry" 3th.ed. Nelson, DL and Cox, M.M. Worth Publishers, 2000.)



Planos del enlace amida

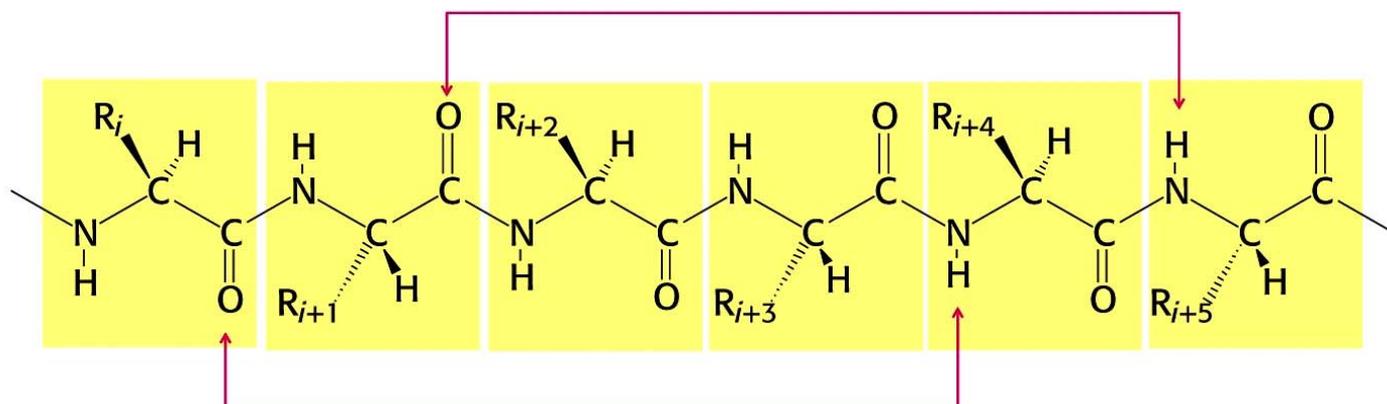


Cadena lateral

Aminoácidos

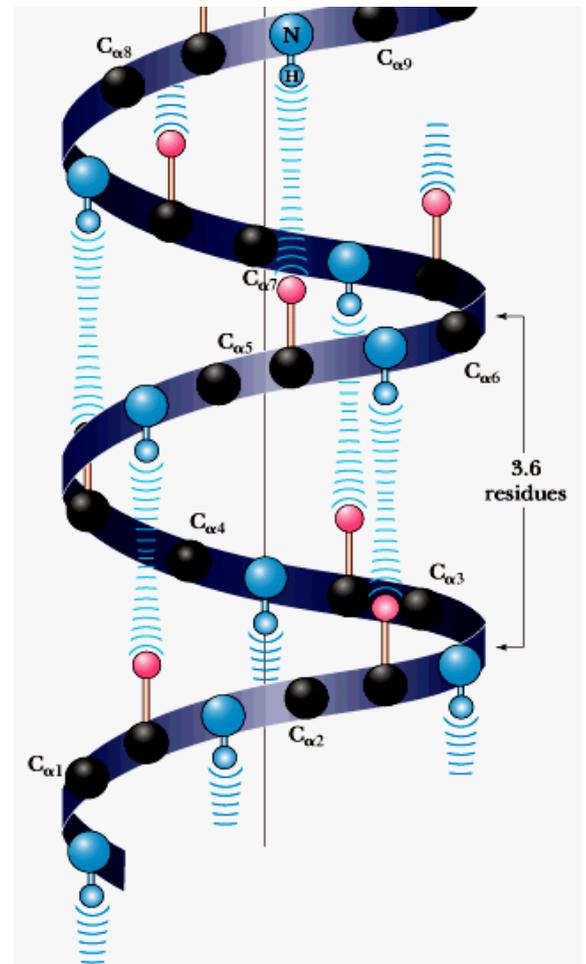
Un péptido tiene muchas conformaciones según los ángulos Phi y Psi  
(Adopta la más favorable desde el punto de vista energético = menores impedimento estérico y repulsión electrostática)

Hélice alfa: un puente de H entre el CO de un aminoácido y el NH del cuarto aminoácido (i+4) por detrás

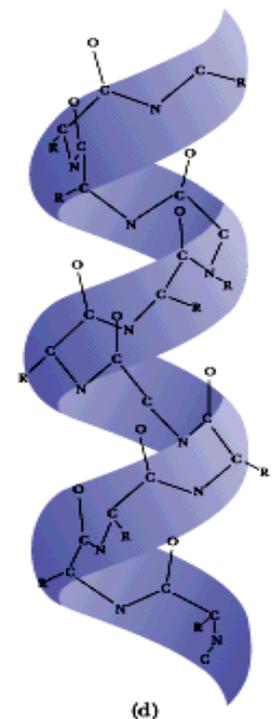
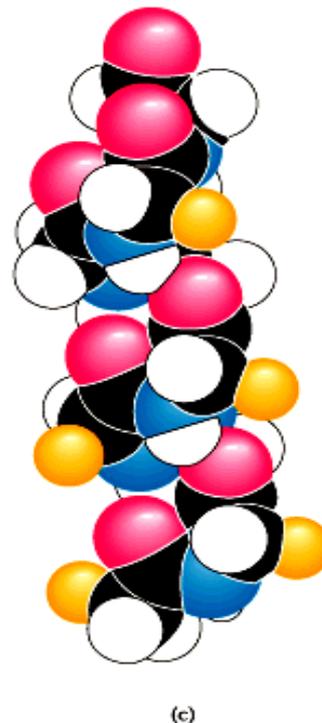
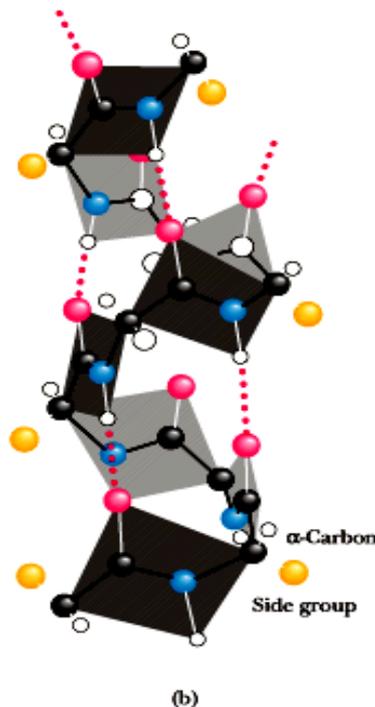
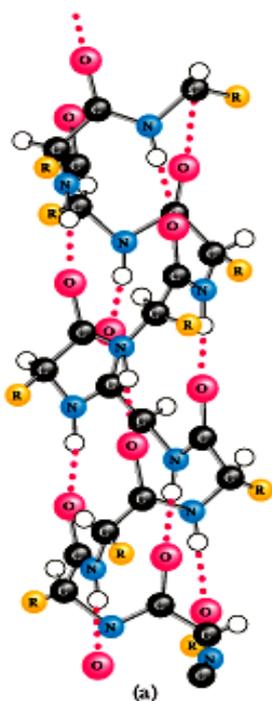


# Hélice alfa:

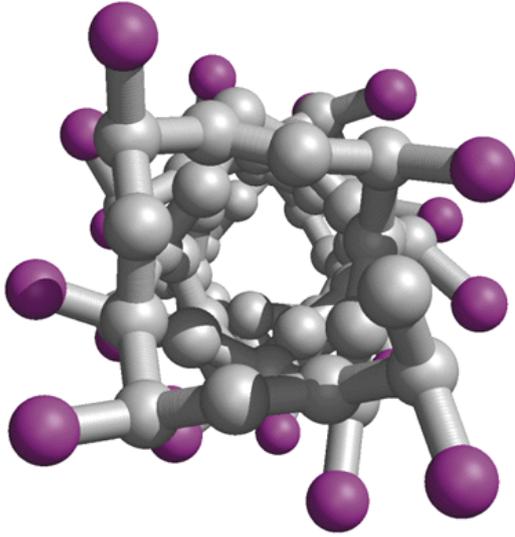
- Un puente de H entre el CO de un aminoácido y el NH del cuarto por detrás
- 3,6 AA por vuelta de hélice
- 1,5 Amstrong (0,15 nm) de distancia entre vuelta y vuelta
- Dextrógira



# Hélice alfa



Las cadenas laterales sobresalen de manera perpendicular al eje de la hélice

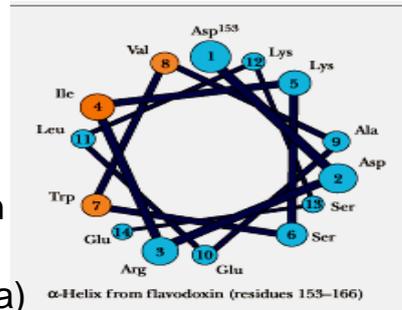


(c)

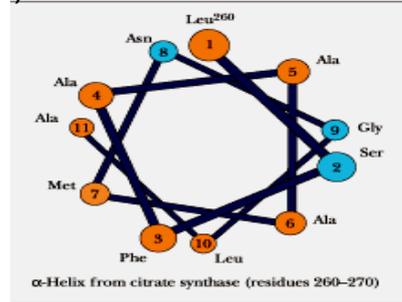
( "Lehninger Principles of Biochemistry" 3th.ed. Nelson, DL and Cox, M.M. Worth Publishers, 2000.)  
TEMA 5



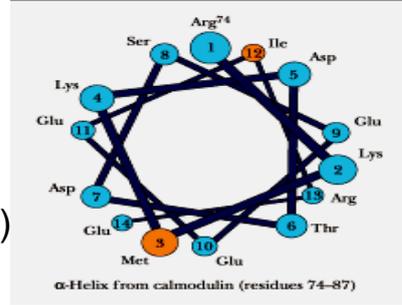
Hélice anfipática: un lado apolar y otro hidrófobo (flavodoxina)



Hélice apolar (citrato sintasa)



Hélice polar (calmodulina)



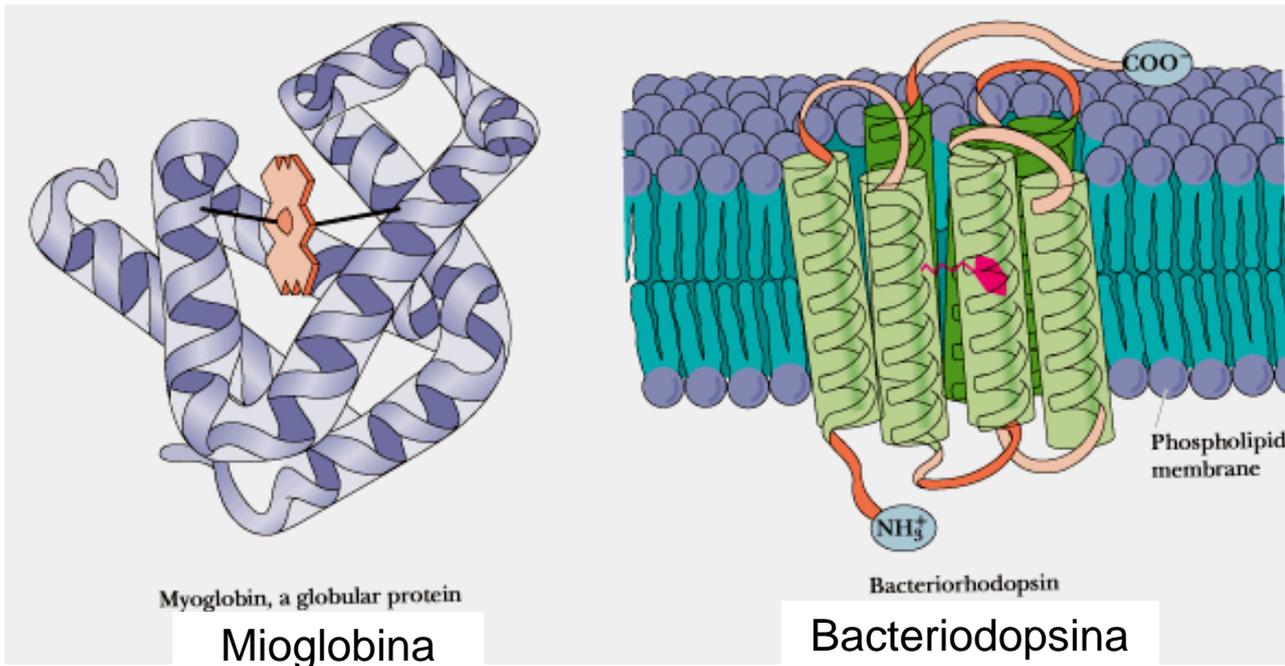
( "Biochemistry" 2nd ed. Garrett, R.H. and Grisham, 13 C.M. Saunders College Publishing, 1999.)

## FACTORES QUE AFECTAN A LA ESTABILIDAD DE LA HELICE ALFA

- Repulsión o atracción electrostática entre residuos.
- Impedimento estérico (entre residuos adyacentes y entre residuos separados por 3 ó 4 aminoácidos).
- La prolina y la glicina tienen un efecto desestabilizador de la alfa hélice.



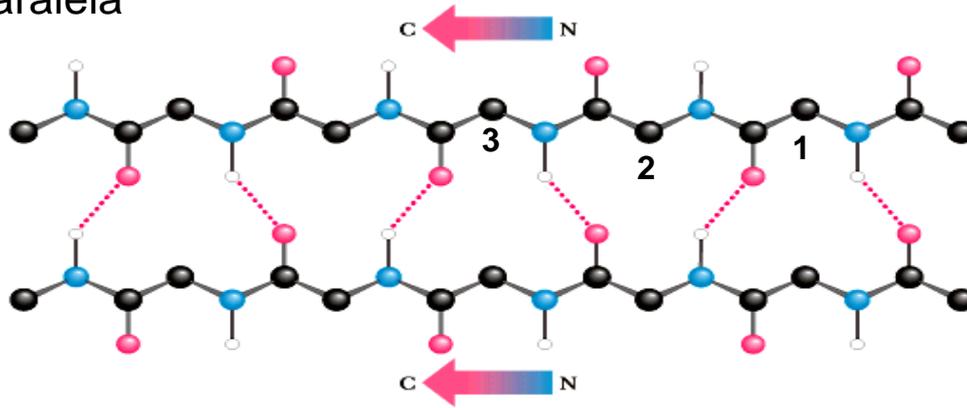
## Dos proteínas formadas mayoritariamente por hélices alfa



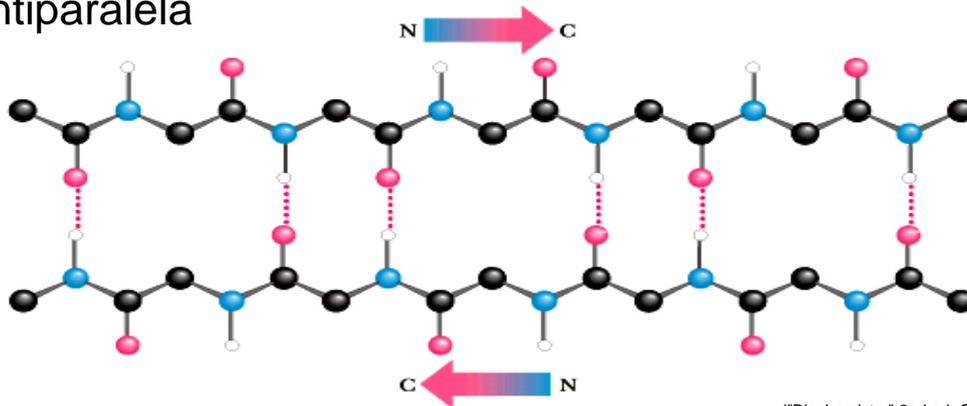
## CONFORMACION EN LAMINA BETA

- Esqueleto de la cadena polipeptídica extendido en zig-zag.
- Las cadenas polipeptídicas en zig-zag se disponen de manera adyacente formando una lámina estabilizada por puentes de H.
- Láminas beta paralelas (cadenas orientadas en la misma dirección) y antiparalelas (orientadas en direcciones opuestas).

## Hoja beta paralela



## Hoja beta antiparalela

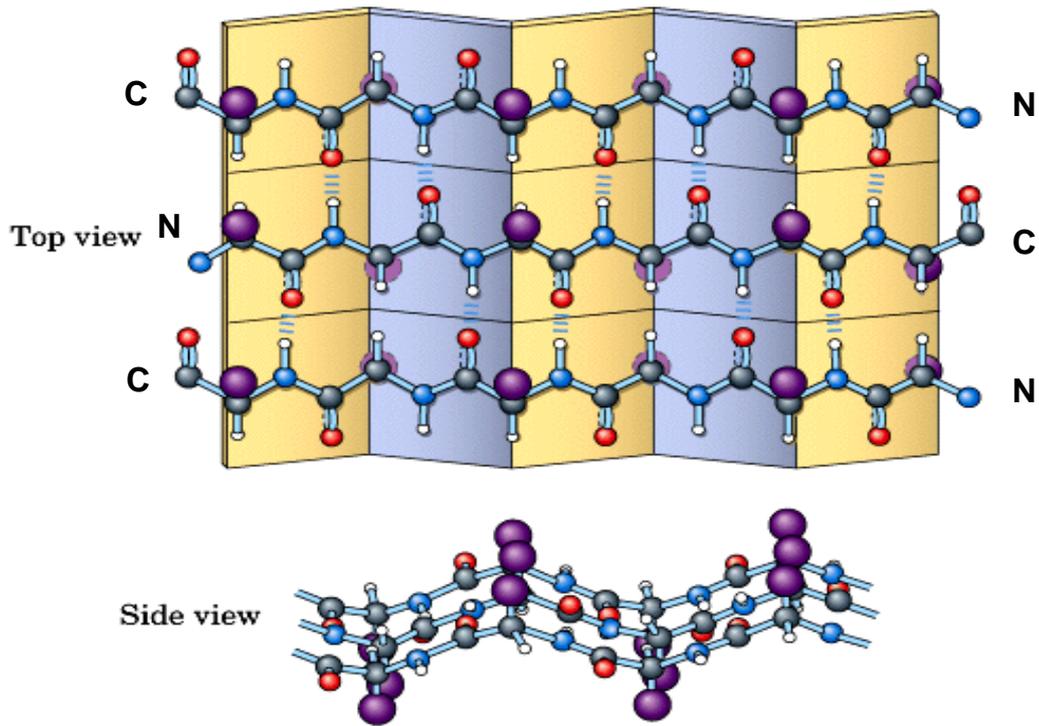


## CONFORMACION EN LAMINA BETA

- Esqueleto de la cadena polipeptídica extendido en zig-zag.
- Las cadenas polipeptídicas en zig-zag se disponen de manera adyacente formando una lámina estabilizada por pp de H.
- Láminas beta paralelas (cadenas orientadas en la misma dirección) y antiparalelas (orientadas en direcciones opuestas).

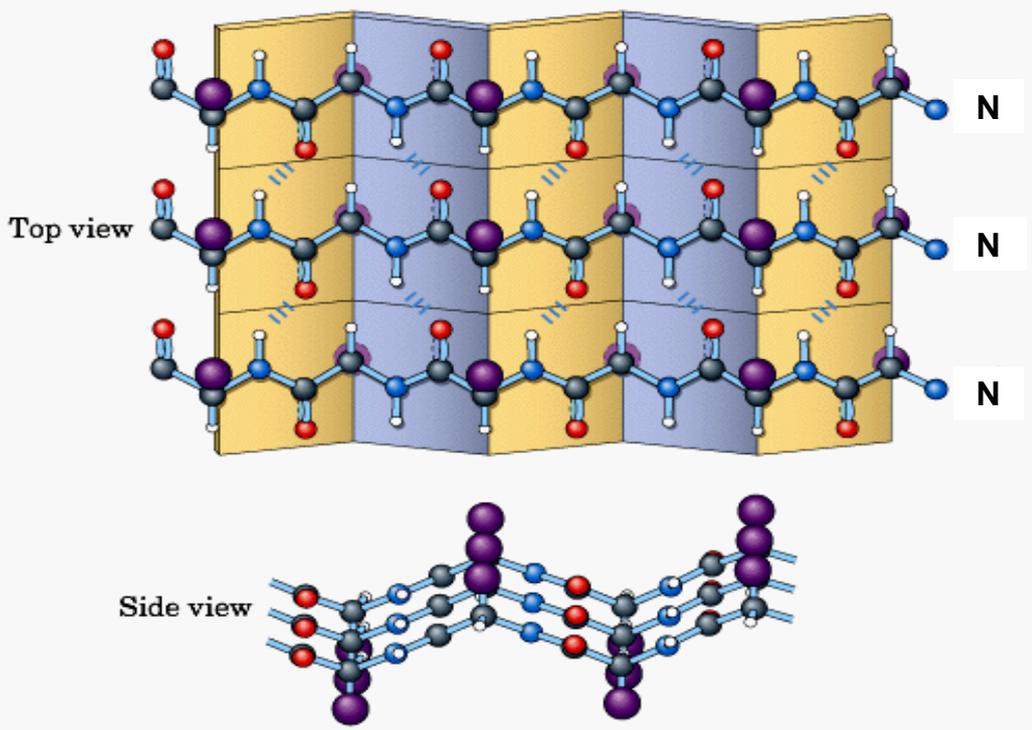
# Hoja beta antiparalela

(a) Antiparallel

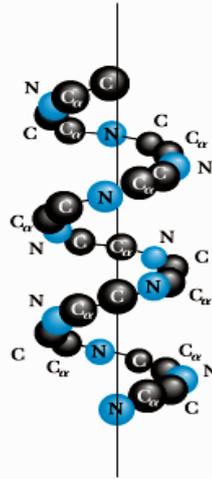


# Hoja beta paralela

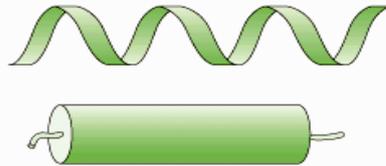
(b) Parallel



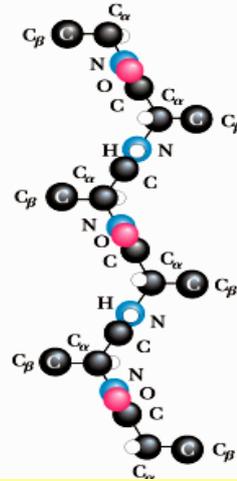
**Hélice alfa:**  
Representación del esqueleto  
N- C $\alpha$  - CO



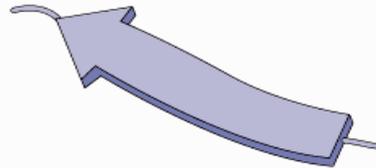
Hélice alfa



**Cadena beta**  
Representación del esqueleto  
N- C $\alpha$  - CO y de los C $\beta$ . Los planos amida  
quedan perpendiculares a la página



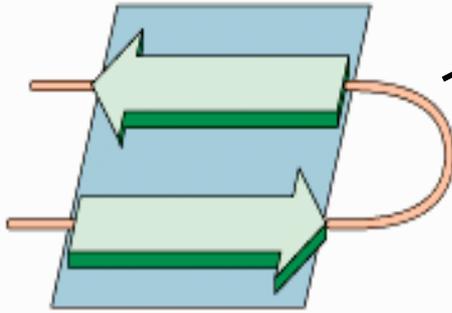
Cadena beta: una hoja beta requiere al menos dos cadenas



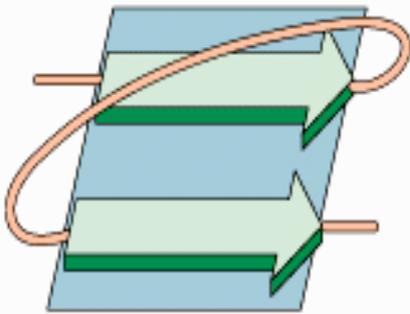
## GIROS BETA

- Son elementos de conexión entre hélices alfa y/o láminas beta.
- Determinan un cambio de dirección de las cadenas polipeptídicas.
- Se forma un puente de hidrógeno entre un residuo (n) y el situado tres aminoácidos después (n + 3)
- La prolina y la glicina abundan en los giros beta

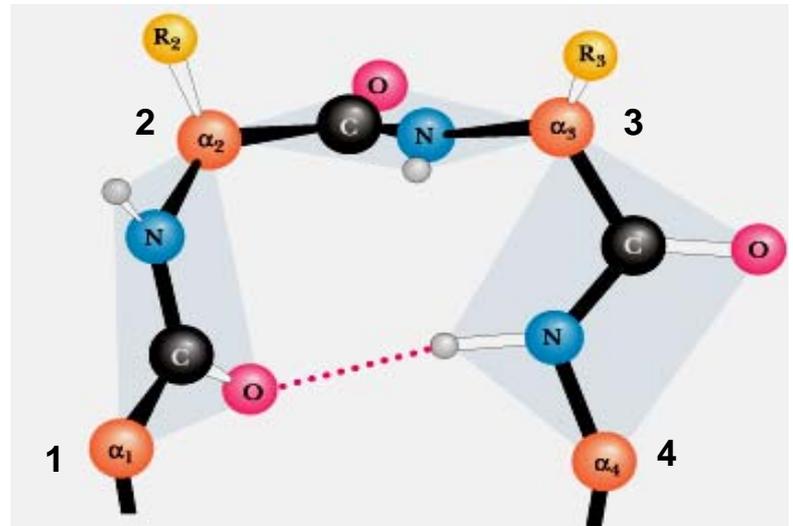
Antiparalela



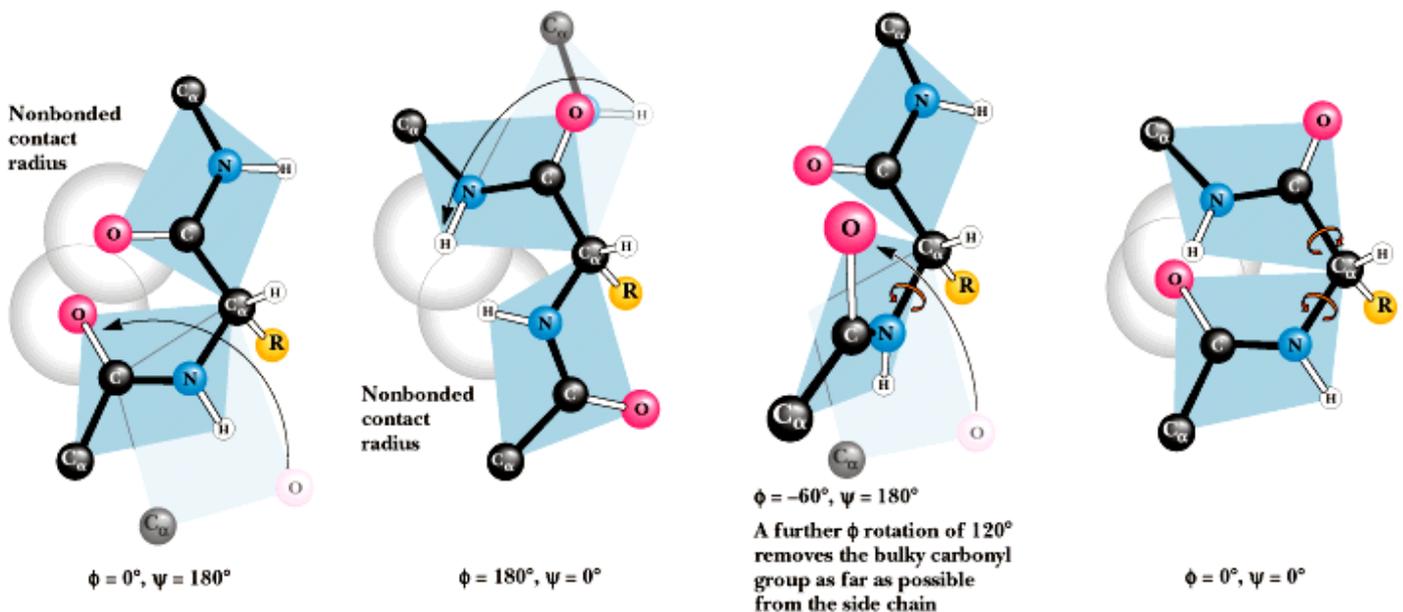
Paralela



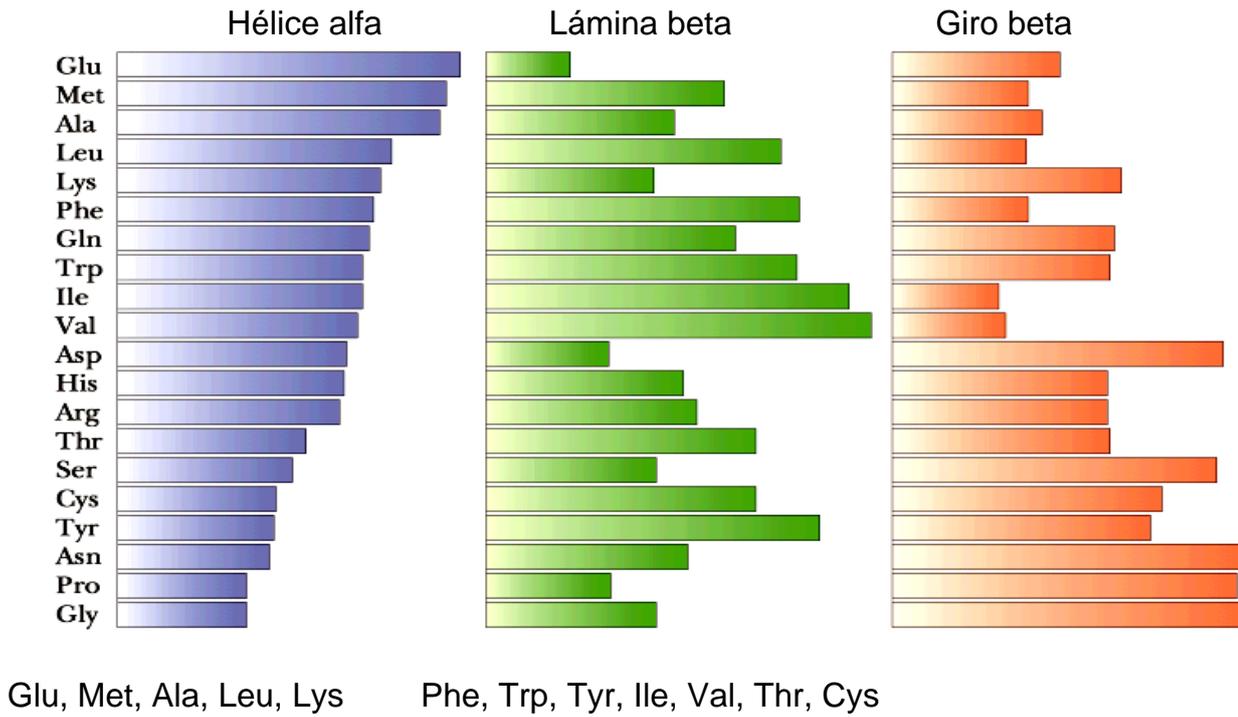
Giro beta



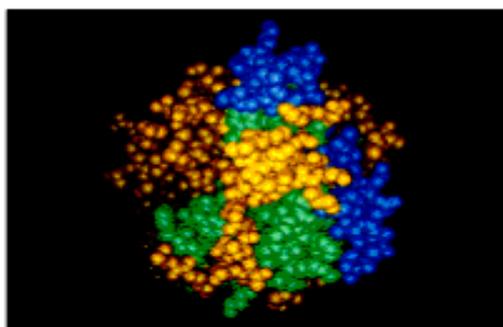
La probabilidad de formar helice alfa o lámina beta es en cierta medida predecible a partir de la secuencia de aminoácidos, según los angulos  $\Phi$  y  $\Psi$



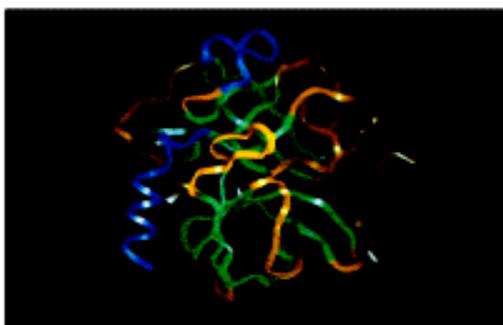
## Frecuencias relativas de la aparición de aminoácidos en estructuras secundarias



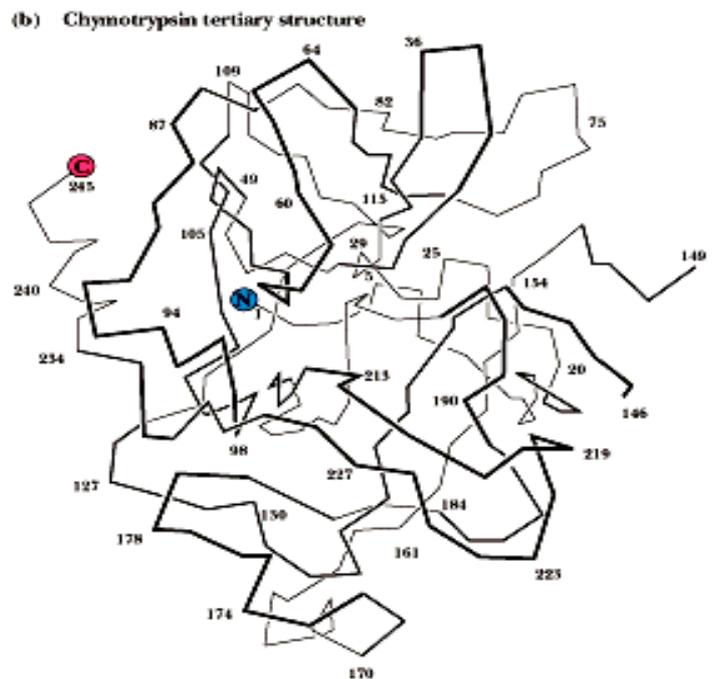
## Puede haber largos fragmentos de proteína sin estructura secundaria definida



Chymotrypsin space-filling model



Chymotrypsin ribbon

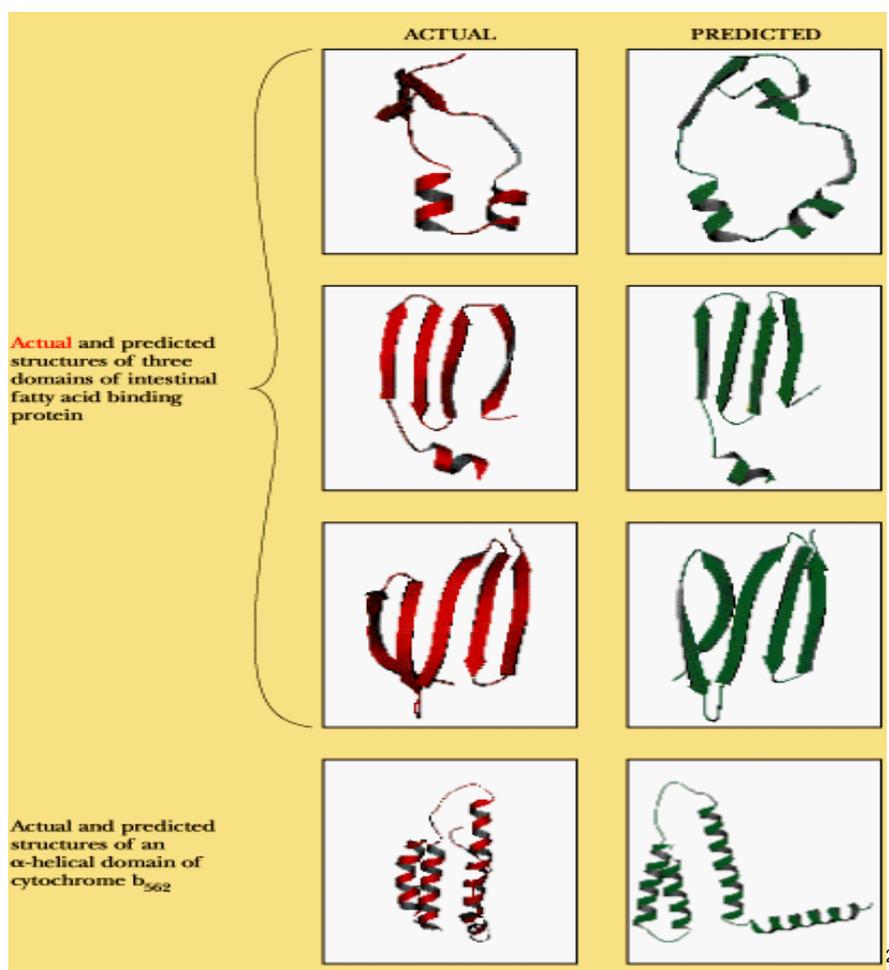


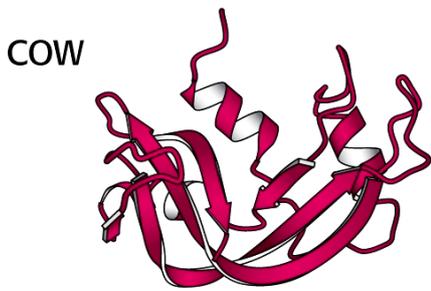
Quimotripsina

# ESTRUCTURA TERCIARIA

- Estructura espacial de la proteína.
- Depende de la secuencia de aacs y puede predecirse. Se determina por difracción de RX.
- Motivo: patrón de plegamiento característico que aparece en varias proteínas.
- Dominio: región de la cadena polipeptídica que puede plegarse de manera estable e independiente

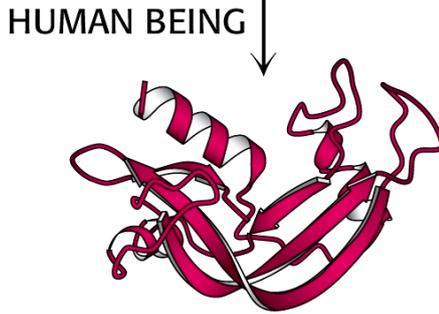
La secuencia de aminoácidos permite predecir con cierta aproximación la estructura tridimensional de dominios no muy grandes de proteínas





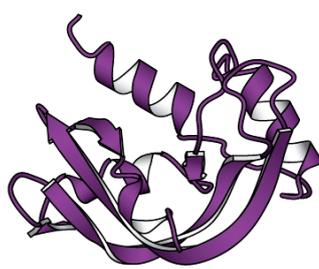
**Bovine ribonuclease**  
(digestive enzyme)

Orthologs



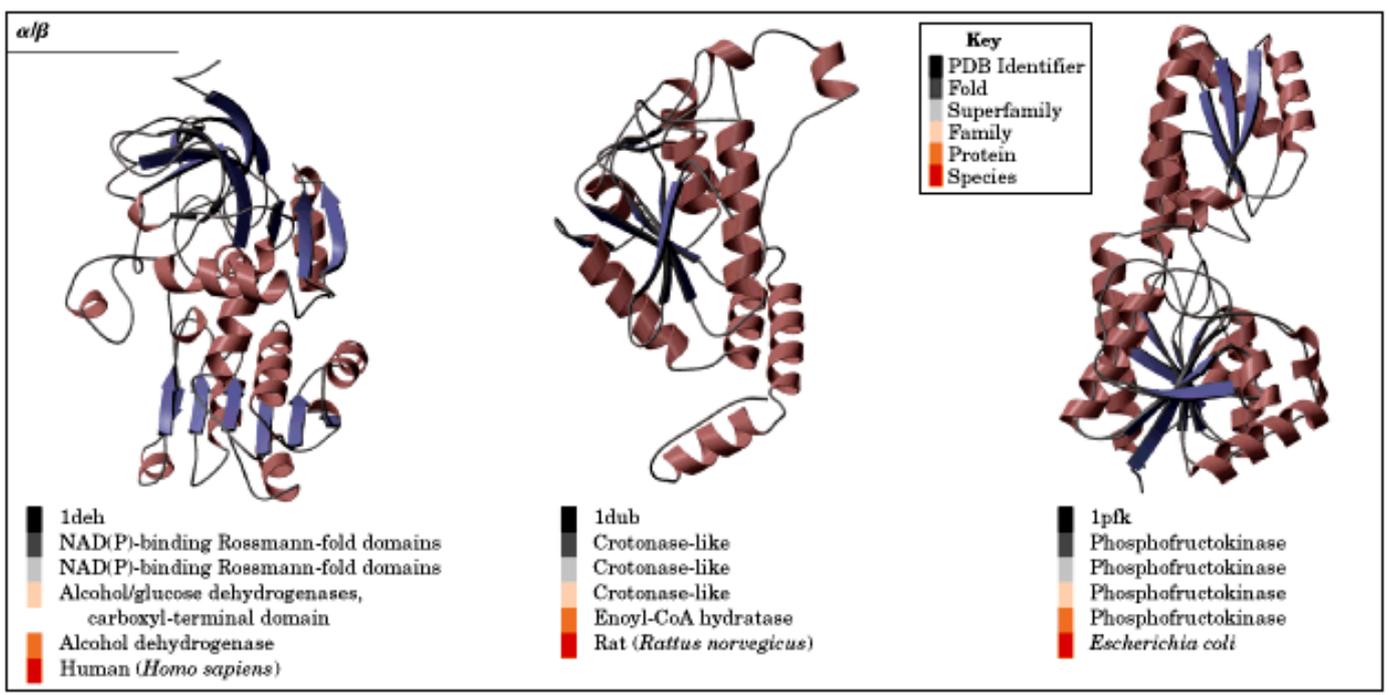
**Human ribonuclease**  
(digestive enzyme)

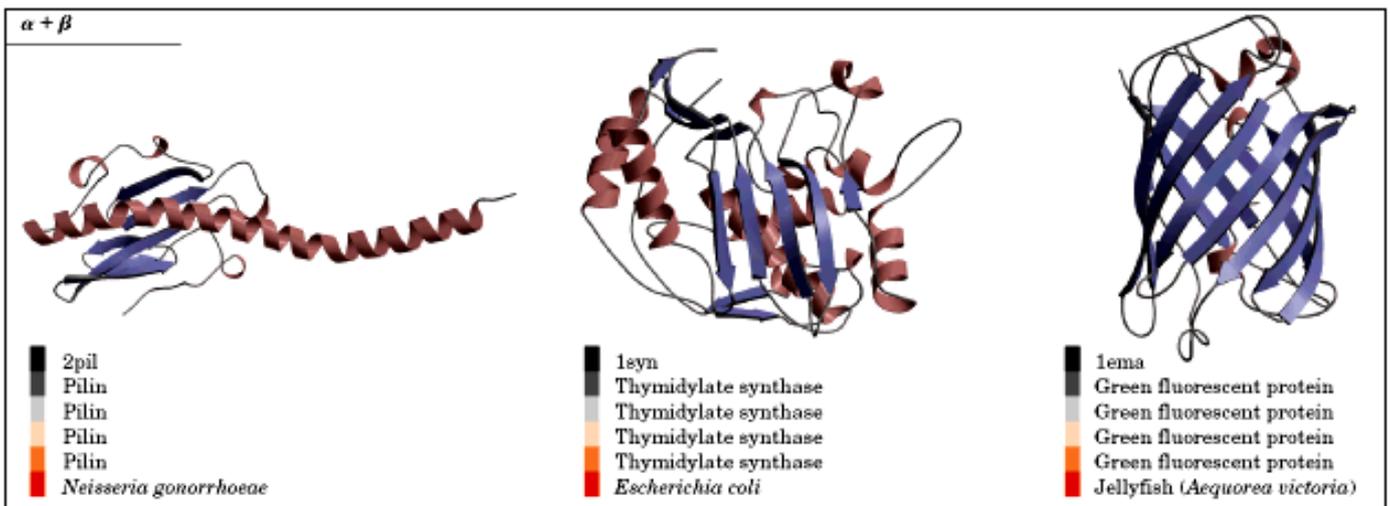
Paralogs



**Angiogenin**  
(stimulates blood-vessel growth)

**Ortólogos y parálogos tienen estructuras terciarias semejantes**





## Proteínas fibrosas y globulares

- **Fibrosas:** constan de un solo tipo de estructura secundaria. Función estructural. Insolubles en agua. Alfa-queratinas, colágeno y elastina.
- **Globulares:** constan de varios tipos de estructura secundaria. Solubles en agua. Enzimas y proteínas reguladoras.

# COLAGENO

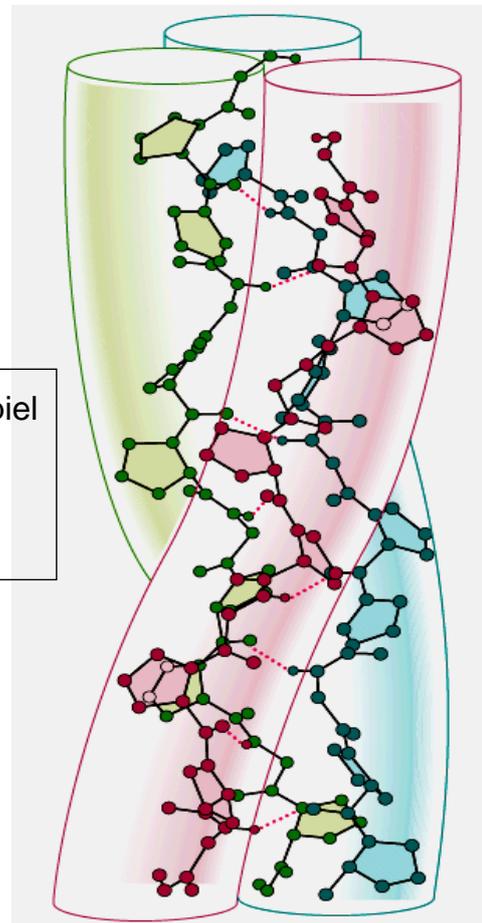
- Se encuentra en el tejido conjuntivo de tendones, cartílagos, matriz orgánica de huesos y córnea del ojo.
- Hélice levógira más compacta que la alfa hélice. Superhélice dextrógira formada por enrollamiento de 3 hélices (**tropocolágeno**)
- Gli, Ala, 4-OH-Pro, 5-OH-Lys muy abundantes.
- El tripéptido Gly-X-Pro aparece repetido numerosas veces a lo largo de la cadena del colágeno

## Triple hélice del colágeno

Colágeno tipo I:  $[\alpha 1(I)]_2 \alpha 2(I)$ : tendones, huesos y piel

Colágeno tipo II:  $[\alpha 1(II)]_3$  : cartílago

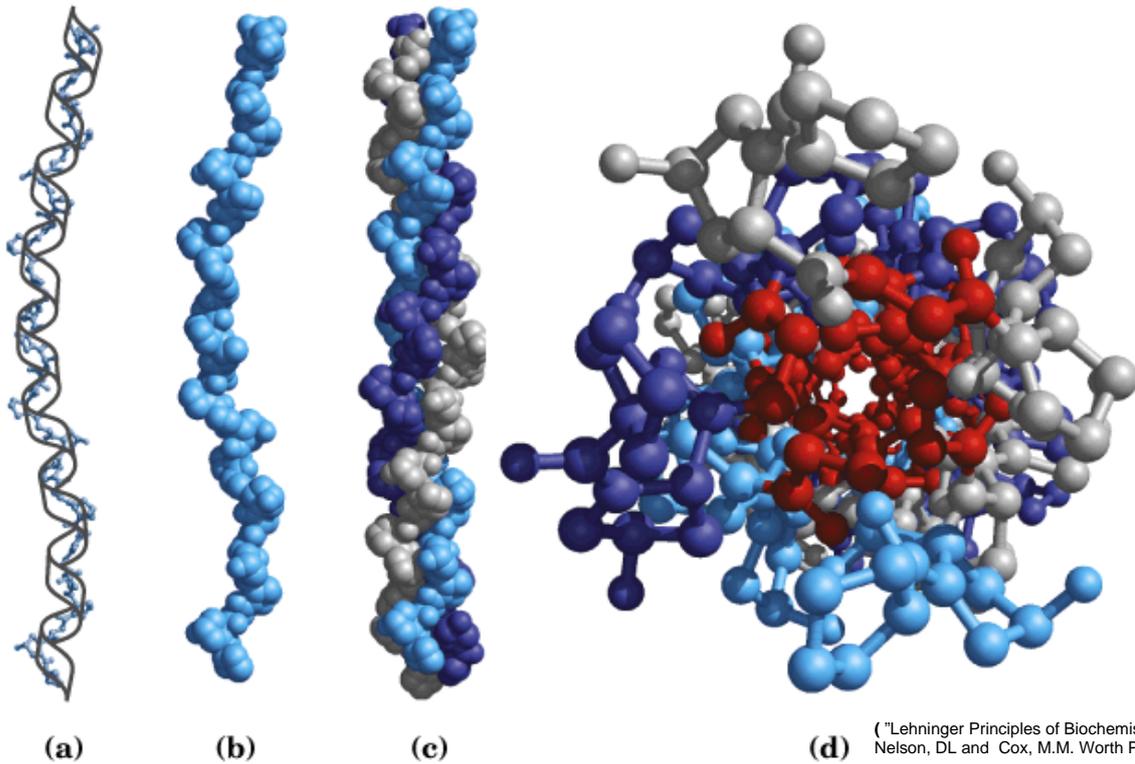
Colágeno tipo III:  $[\alpha 1(III)]_3$  vasos, piel recién nacido, pared intestinal



Hélice del colágeno

Triple hélice del colágeno

Triple hélice del colágeno (corte sagital)

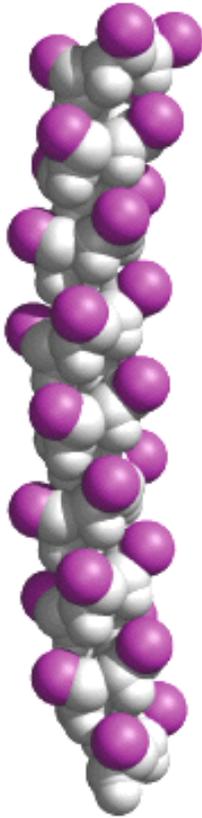


### Amino Acid Composition of Some Selected Proteins

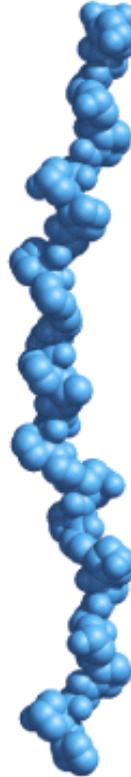
Values expressed are percent representation of each amino acid.

Amino Acid	Proteins*				
	RNase	ADH	Mb	Histone H3	Collagen
Ala	6.9	7.5	9.8	13.3	11.7
Arg	3.7	3.2	1.7	13.3	4.9
Asn	7.6	2.1	2.0	0.7	1.0
Asp	4.1	4.5	5.0	3.0	3.0
Cys	6.7	3.7	0	1.5	0
Gln	6.5	2.1	3.5	5.9	2.6
Glu	4.2	5.6	8.7	5.2	4.5
Gly	3.7	10.2	9.0	5.2	32.7
His	3.7	1.9	7.0	1.5	0.3
Ile	3.1	6.4	5.1	5.2	0.8
Leu	1.7	6.7	11.6	8.9	2.1
Lys	7.7	8.0	13.0	9.6	3.6
Met	3.7	2.4	1.5	1.5	0.7
Phe	2.4	4.8	4.6	3.0	1.2
Pro	4.5	5.3	2.5	4.4	22.5
Ser	12.2	7.0	3.9	3.7	3.8
Thr	6.7	6.4	3.5	7.4	1.5
Trp	0	0.5	1.3	0	0
Tyr	4.0	1.1	1.3	2.2	0.5
Val	7.1	10.4	4.8	4.4	1.7
Acidic	8.4	10.2	13.7	8.1	7.5
Basic	15.0	13.1	21.8	24.4	8.8
Aromatic	6.4	6.4	7.2	5.2	1.7
Hydrophobic	18.0	30.7	27.6	23.0	6.5

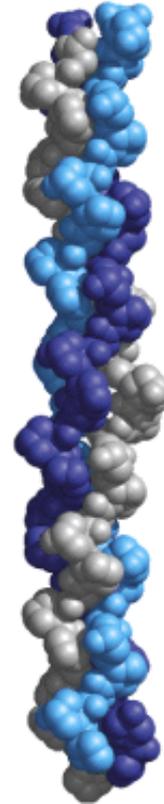
Hélice alfa



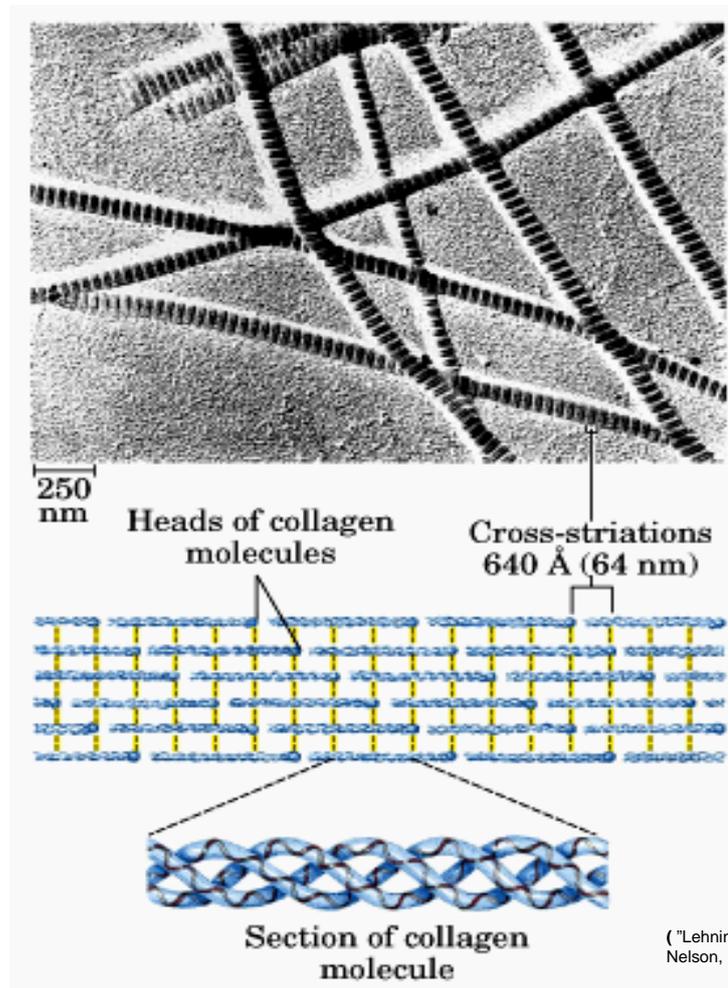
Cadena de colágeno



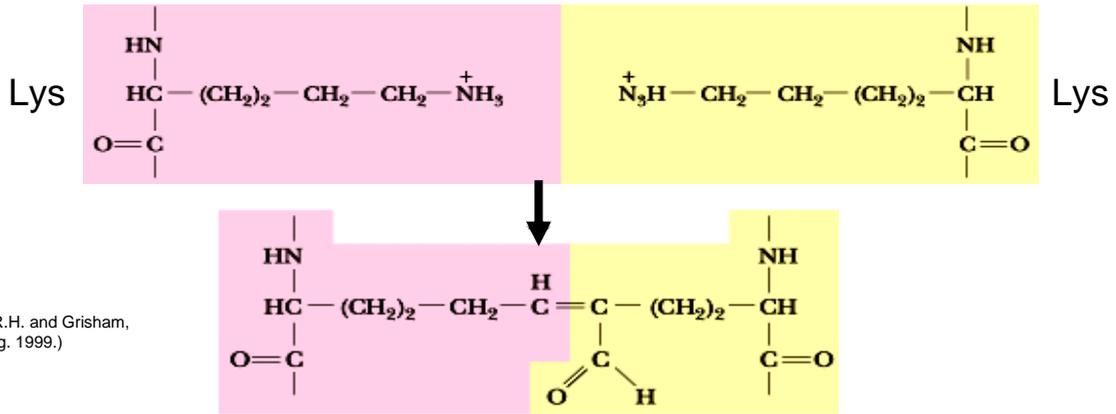
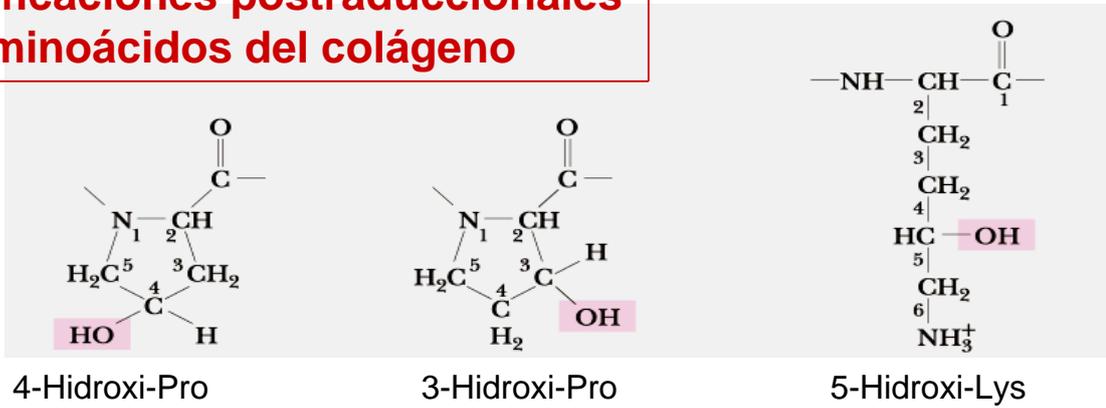
Hélice de colágeno



Fibras de colágeno



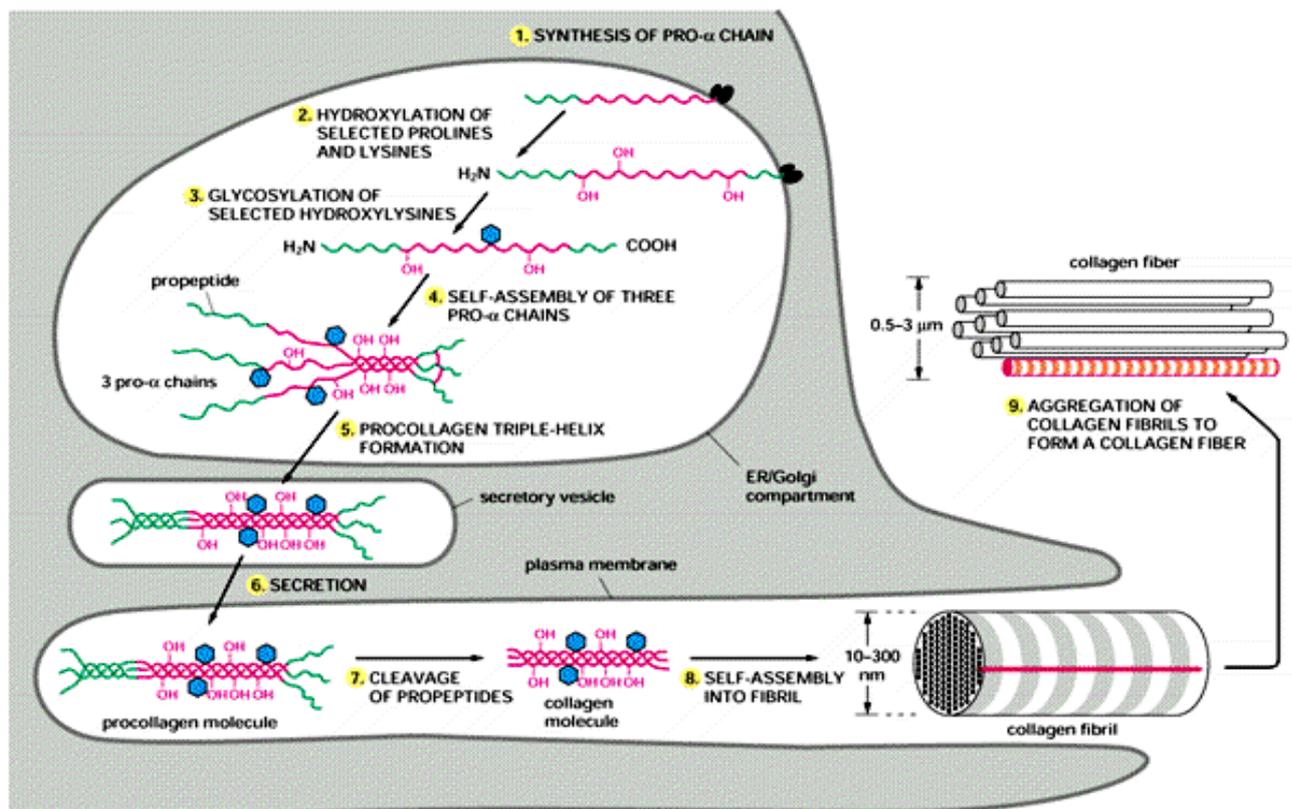
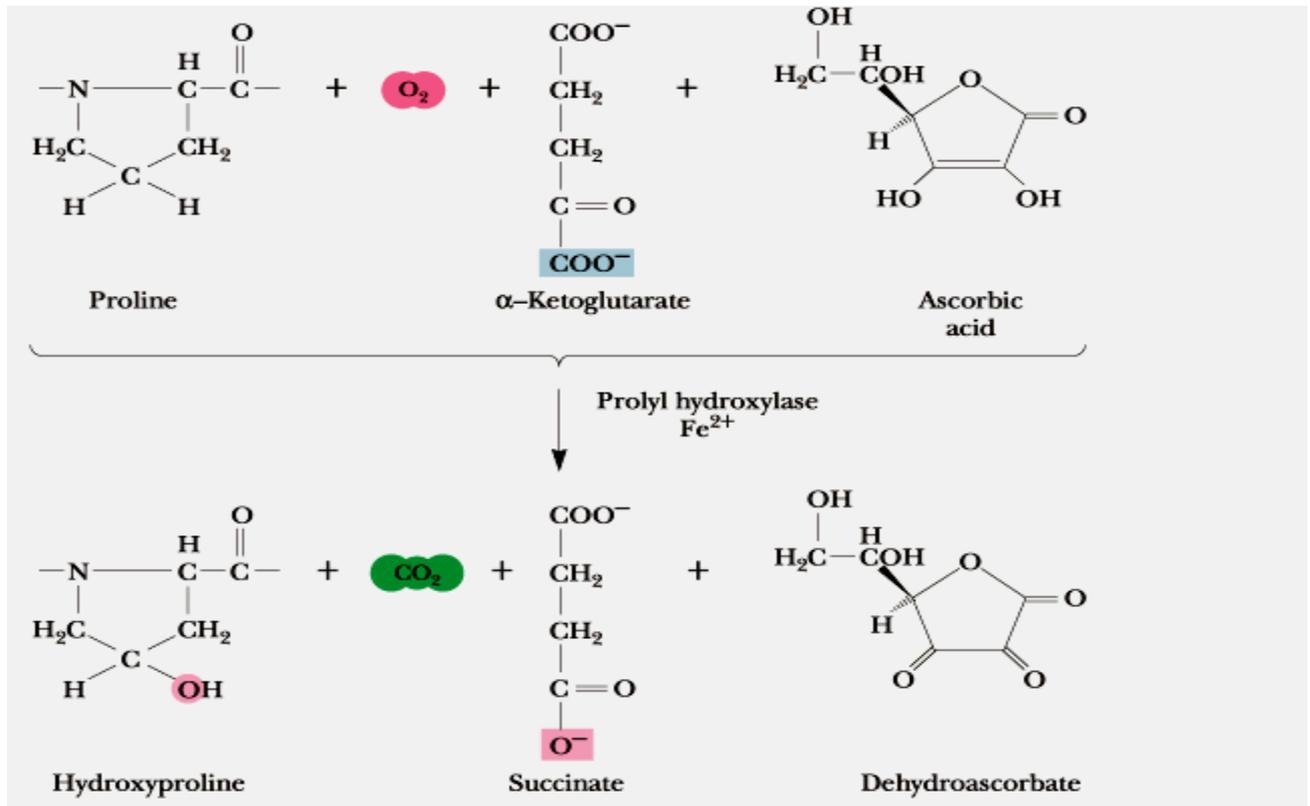
## Modificaciones postraduccionales de aminoácidos del colágeno



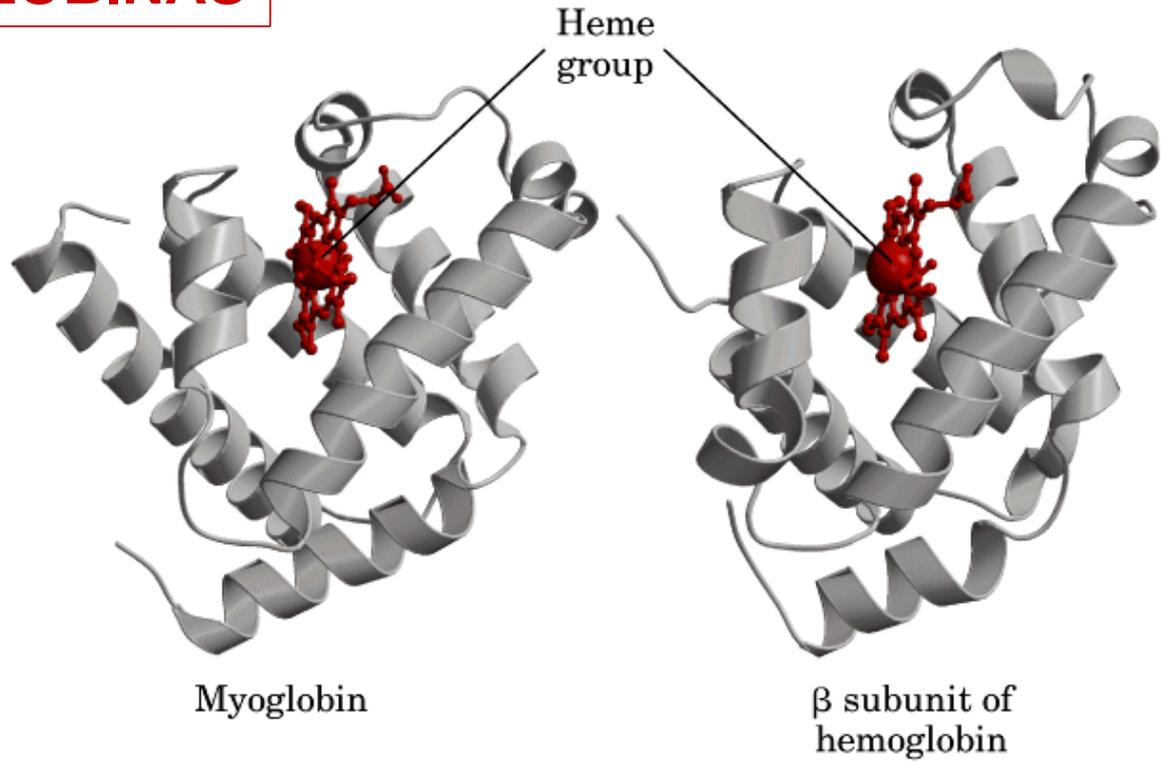
("Biochemistry" 2nd ed. Garrett, R.H. and Grisham, C.M. Saunders College Publishing, 1999.)

## ENFERMEDADES DEL COLAGENO

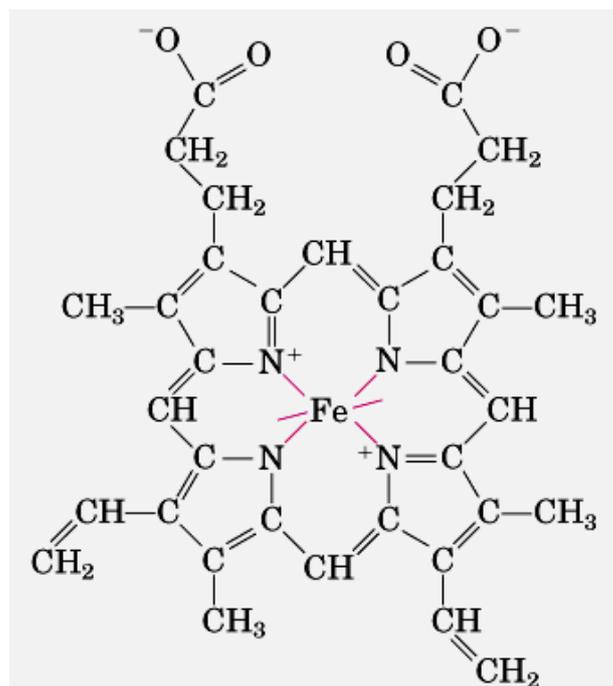
- **Escorbuto:** fragilidad capilar, hemorragias, lesiones cutáneas. Déficit de Vitamina C.
- Síndrome de **osteogénesis imperfecta**. Mutación Gly<sup>988</sup>/Cys en el colágeno tipo I. Huesos quebradizos, deformaciones en el esqueleto (niños de cristal).
- Síndrome de **Ehler-Danlos**. Piel hiperextensible, exceso de movilidad en las articulaciones. Rotura de arterias y vejiga (más graves).
- **Latirismo**. Inhibición de la lisil oxidasa. Deformación de la columna vertebral, luxación de articulaciones, desmineralización de huesos, hemorragias articulares.



# GLOBINAS

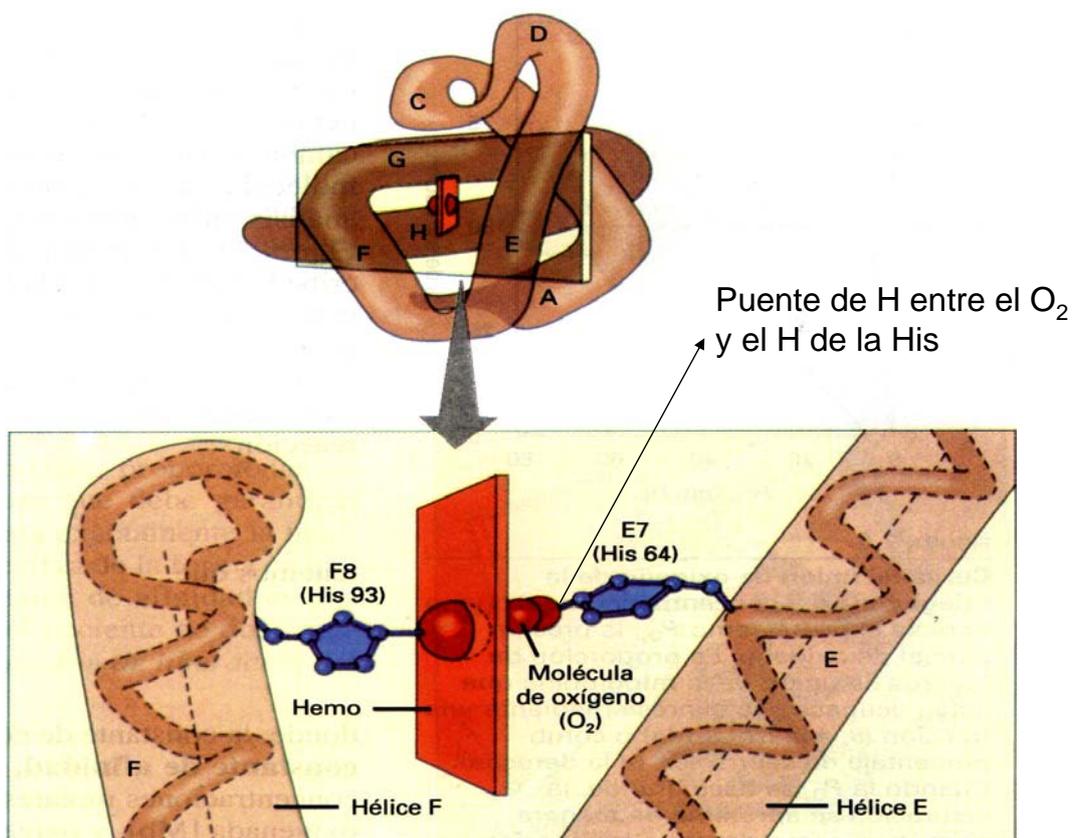
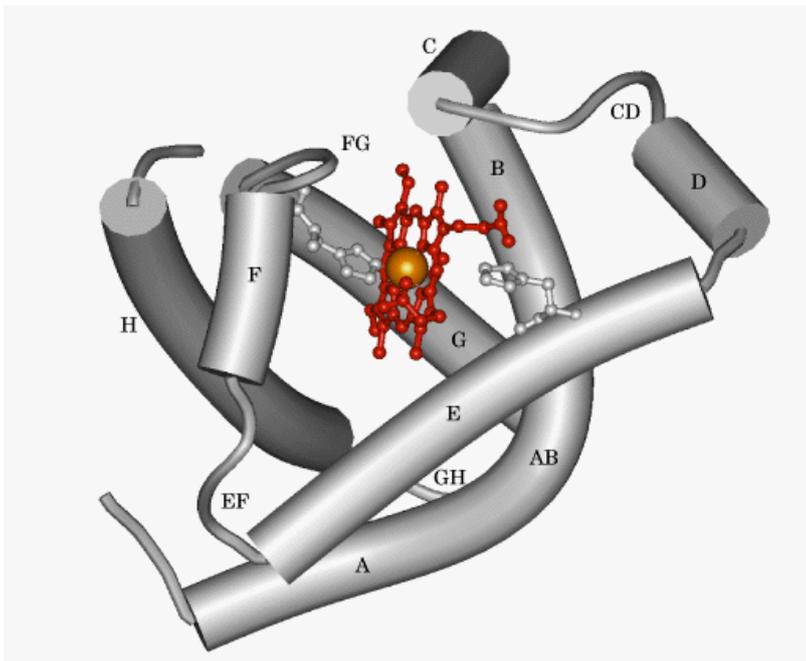
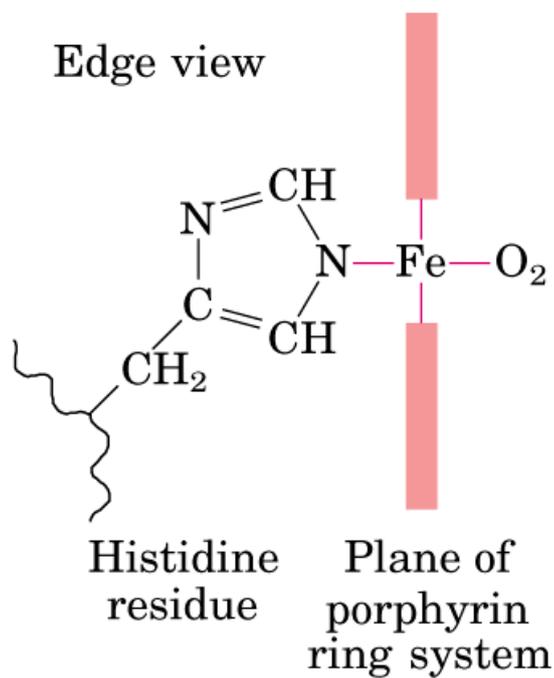


## Grupo hemo: grupo prostético de la mioglobina y hemoglobina



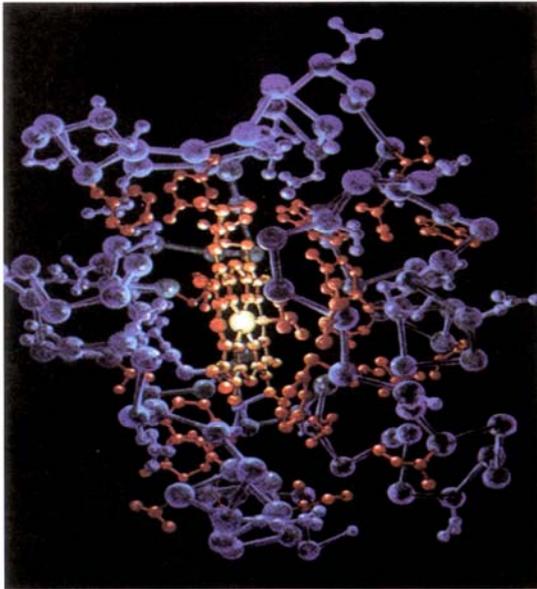
Anillo plano, hidrófobo

# MIOGLOBINA: 153 aac, 17200 Da

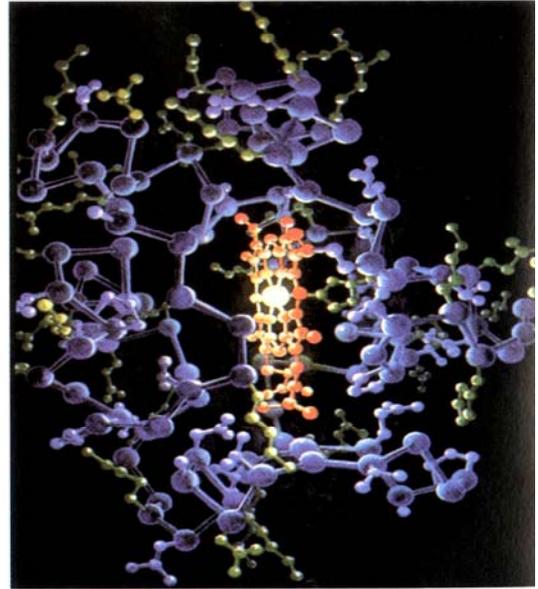


# Los aminoácidos hidrofóbicos están en el interior de la globina

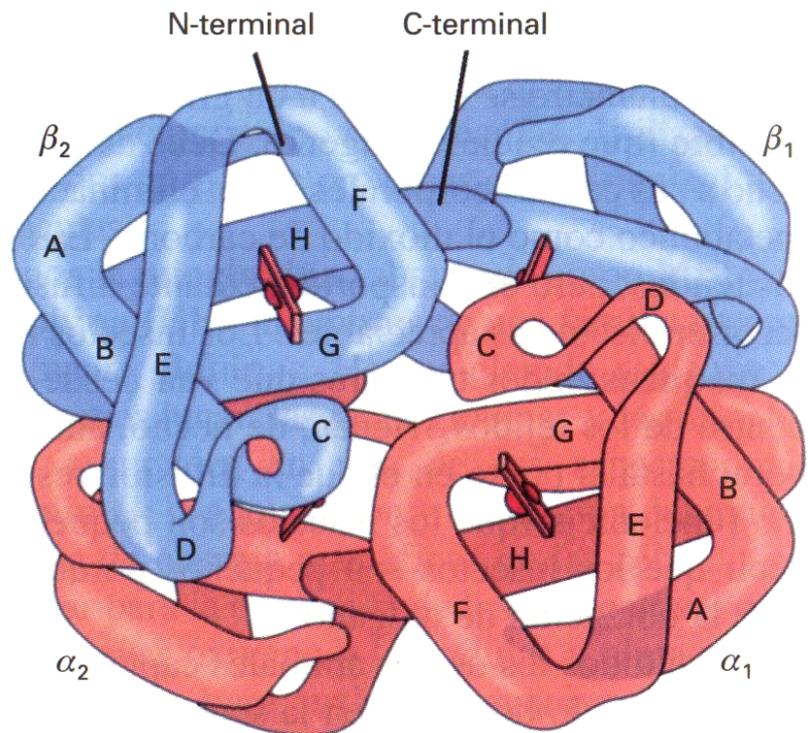
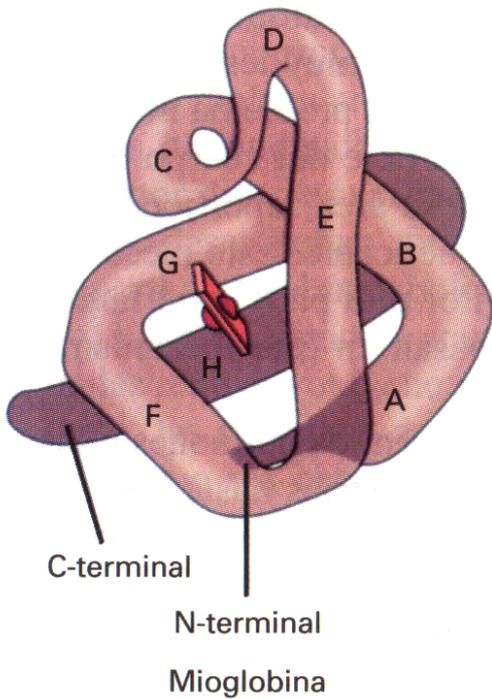
1 GCVEKGGKKIFVQKCAQCHTVEKGGKHKHTGPNLHGLFGRKTGQAPGFTYTD  
 ANKNKGITWKEETLMEYLENPKKYIPGTKMIFAGIKKKTEREDLIAYLKKATNE  
 (a) 60 70 80 90 100



(b) Hidrofóbicos en rojo

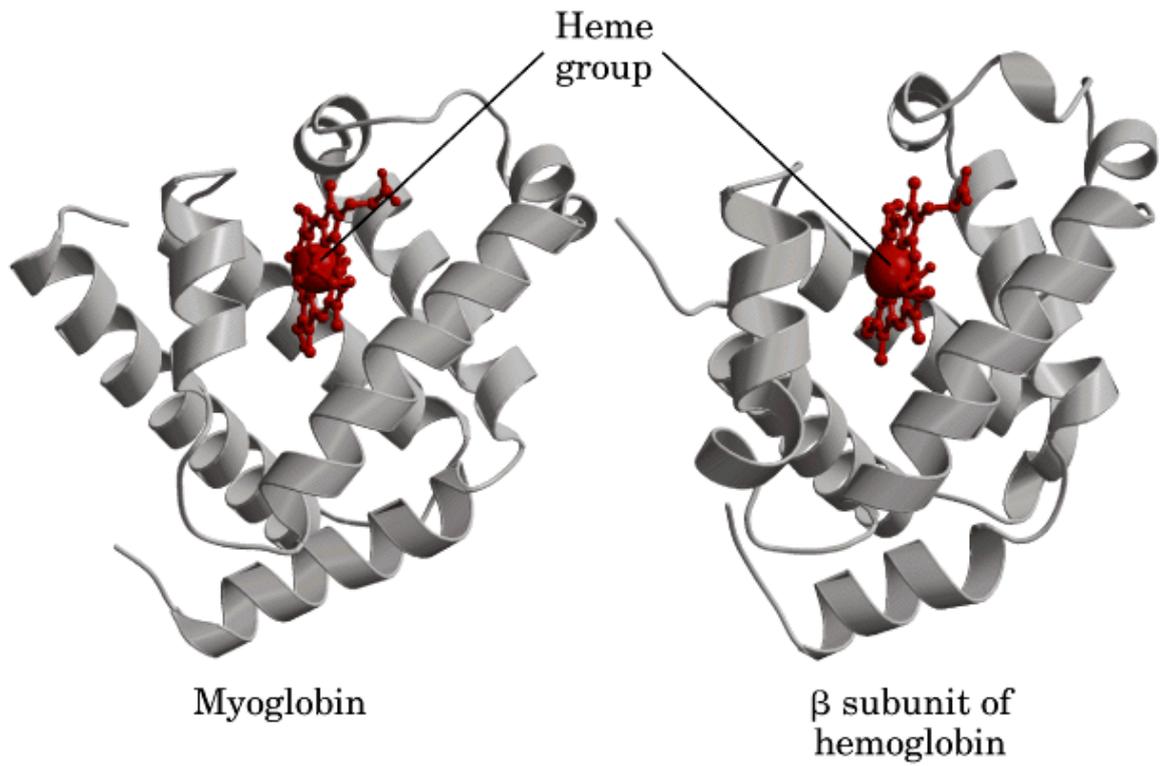


Hidrofílicos en verde

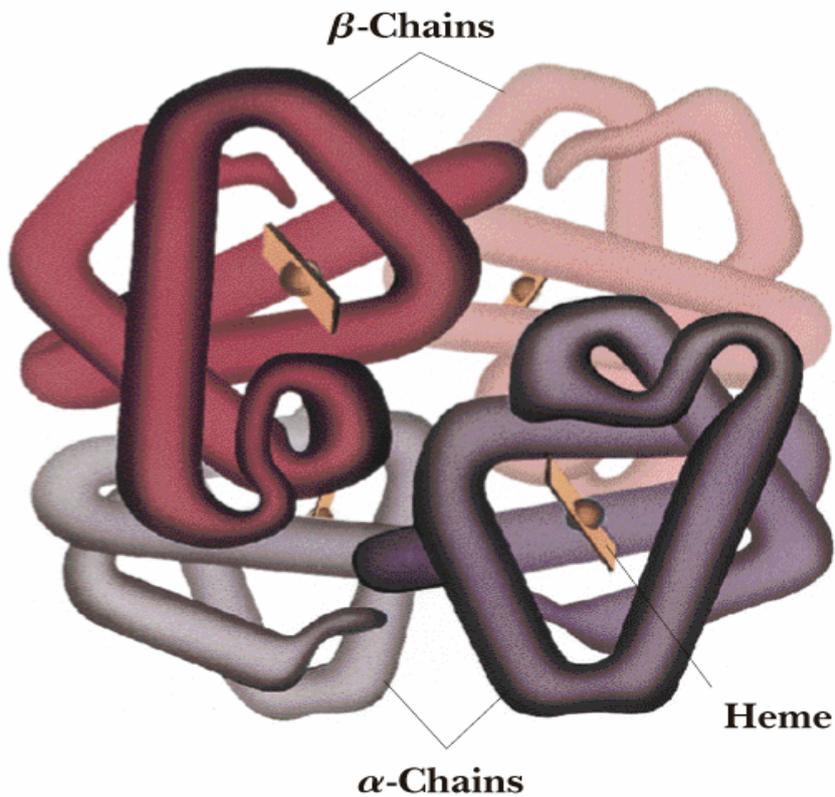


(Matthews-van Holde)

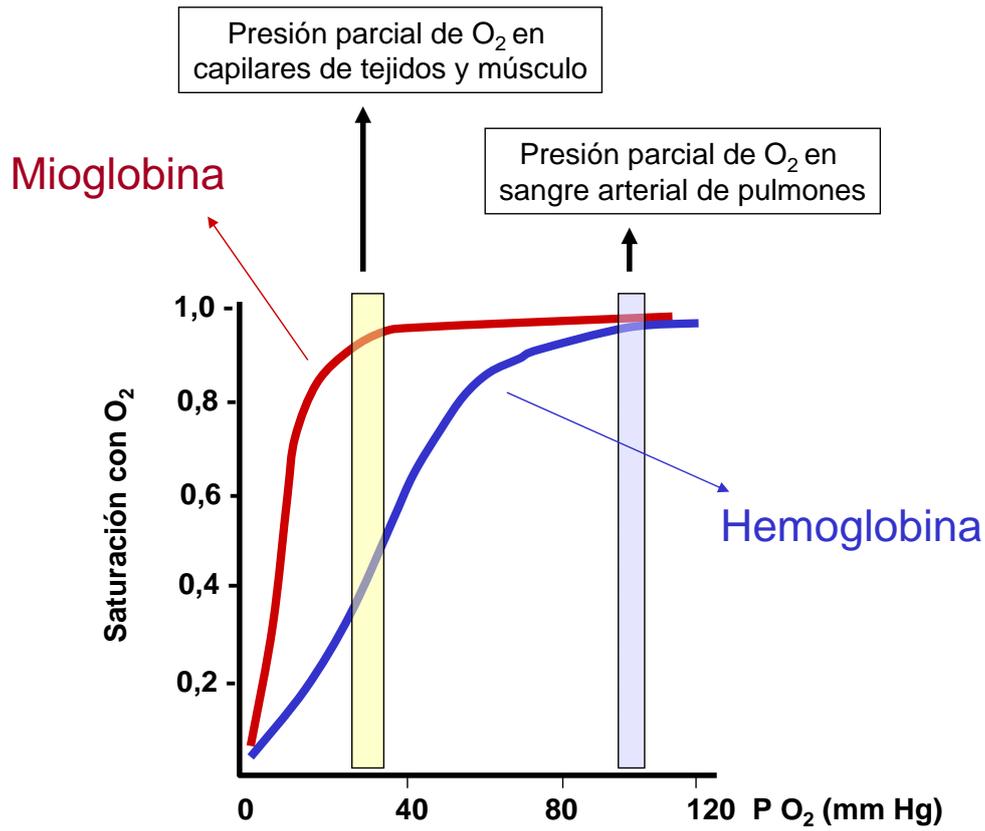
Hemoglobina



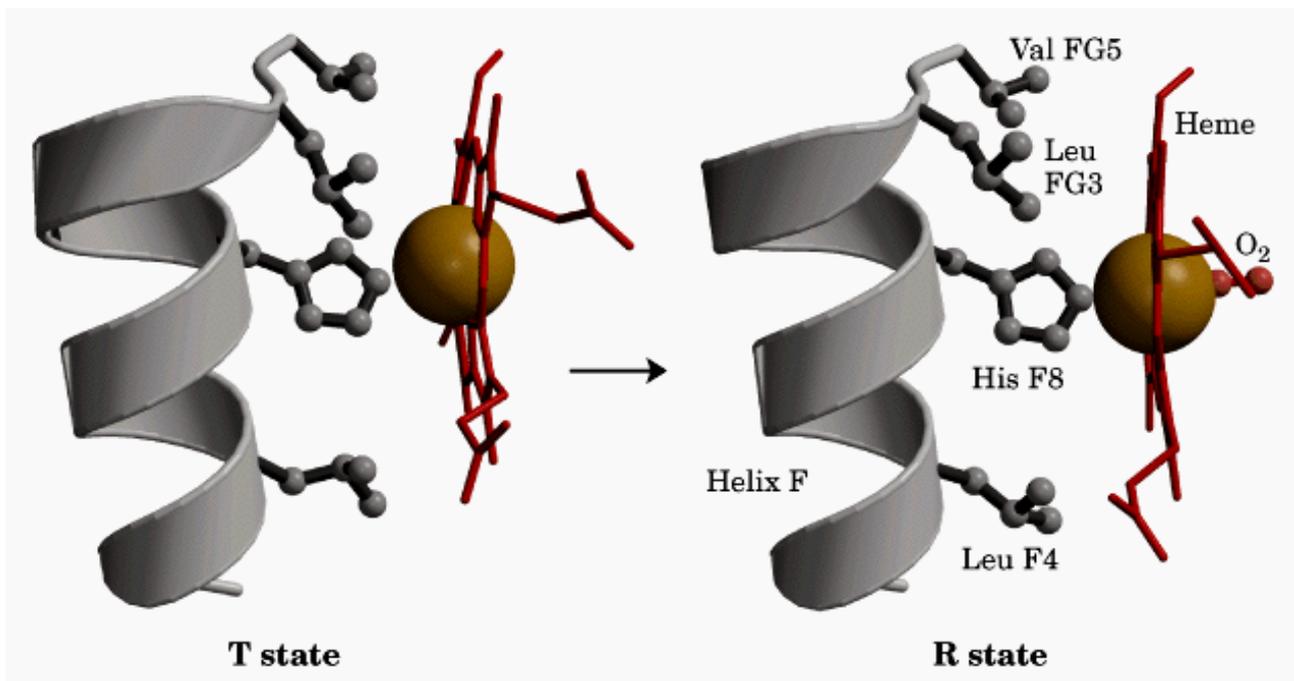
## The tetrameric structure of hemoglobin



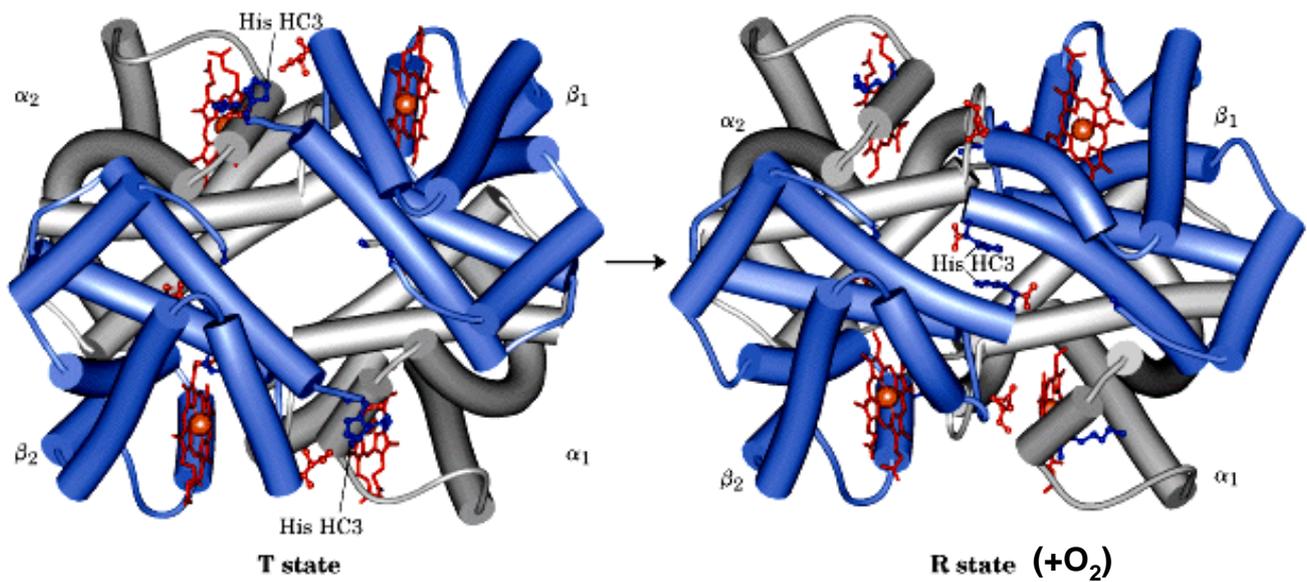
## Curvas de saturación de Mb y Hb con oxígeno



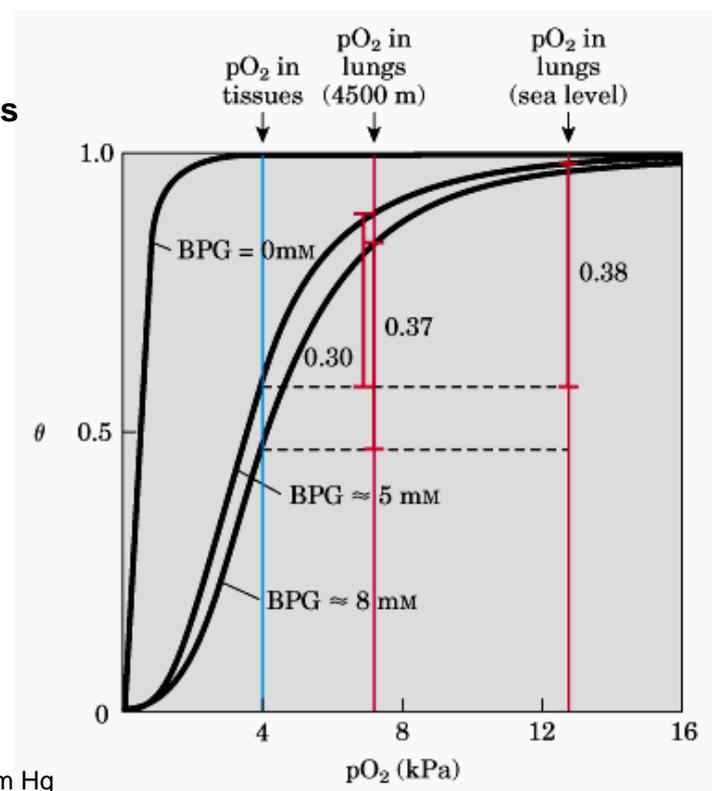
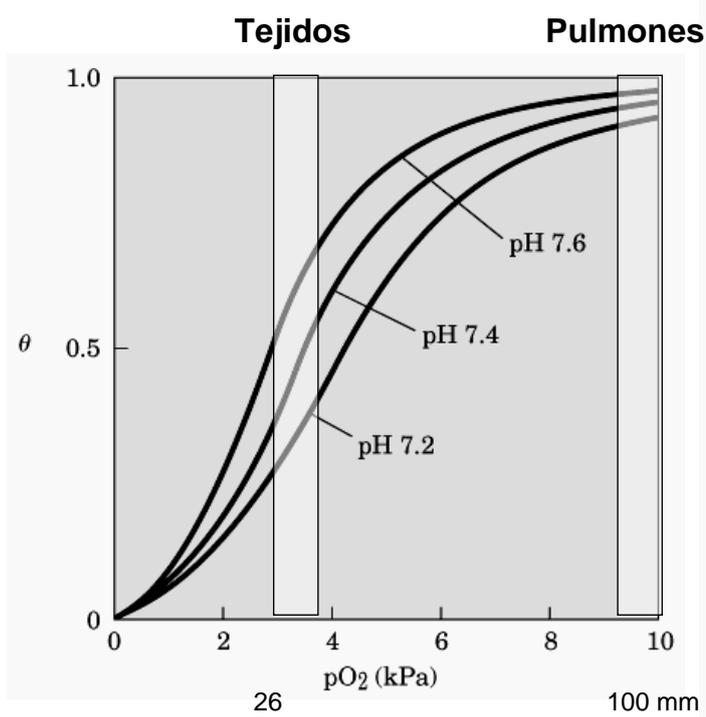
La unión del oxígeno provoca un cambio conformacional en aminoácidos cercanos al grupo hemo .....

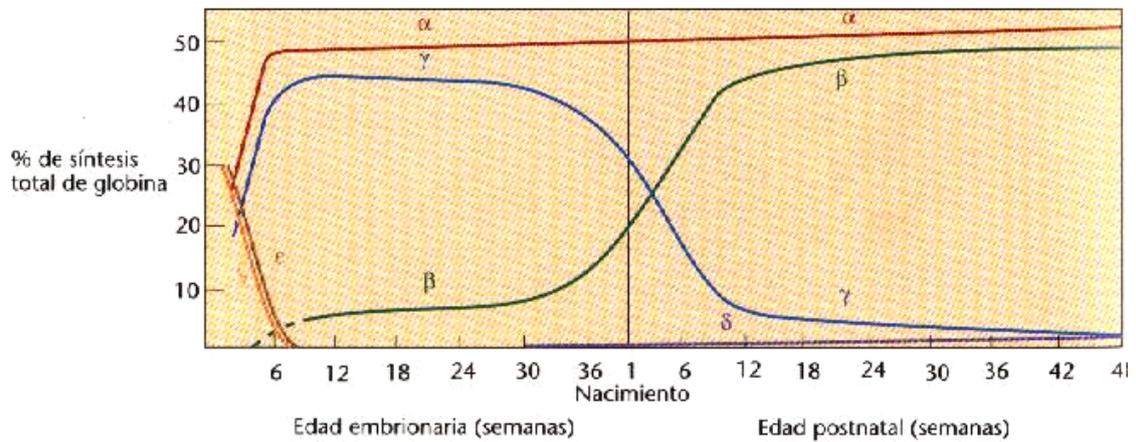
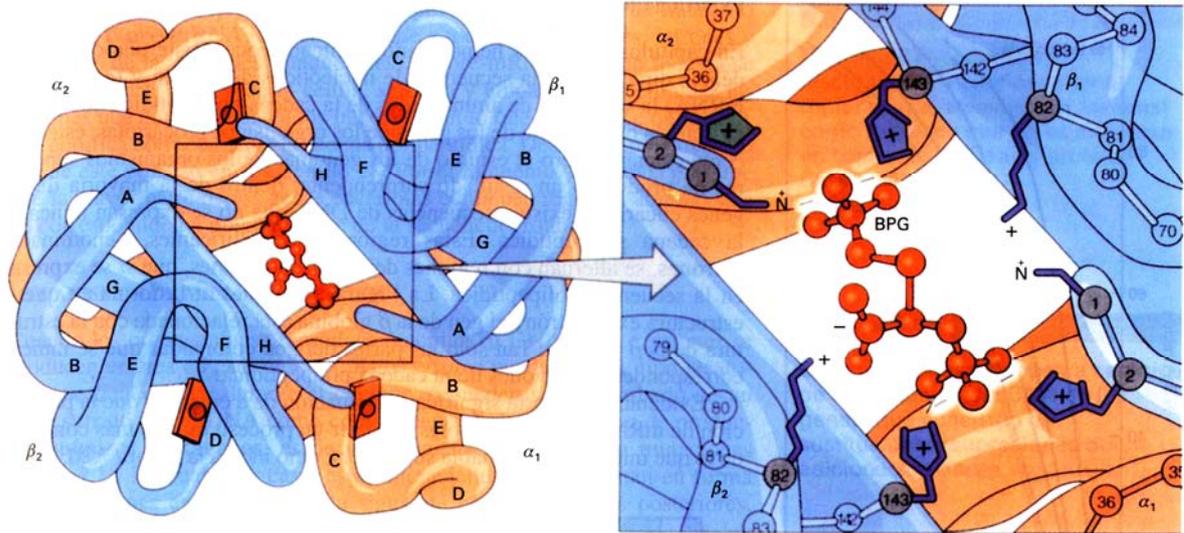


... Que se transmite a toda la cadena y a las cuatro cadenas



### Efecto Bohr y efecto del BPG

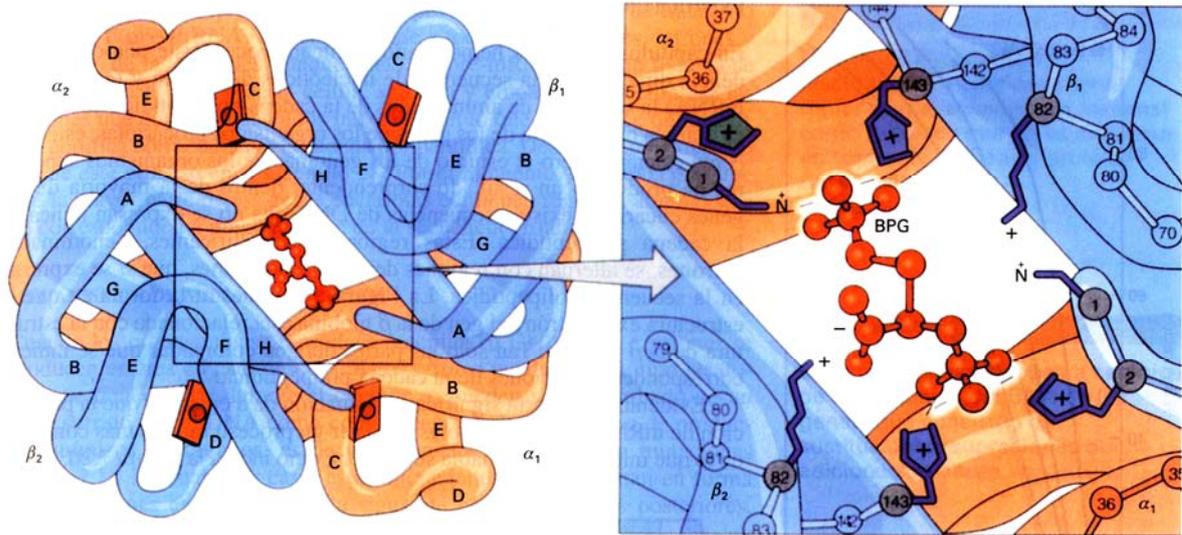




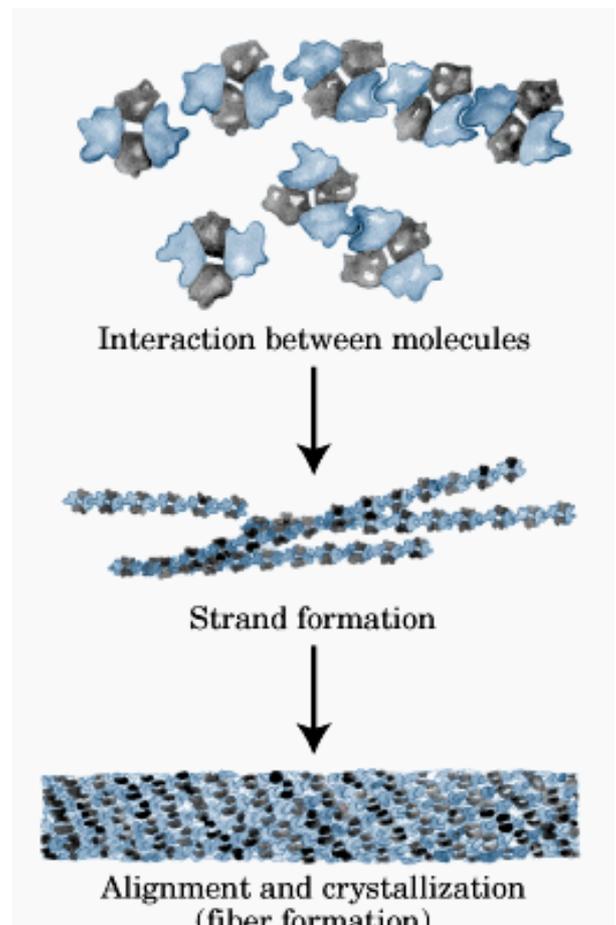
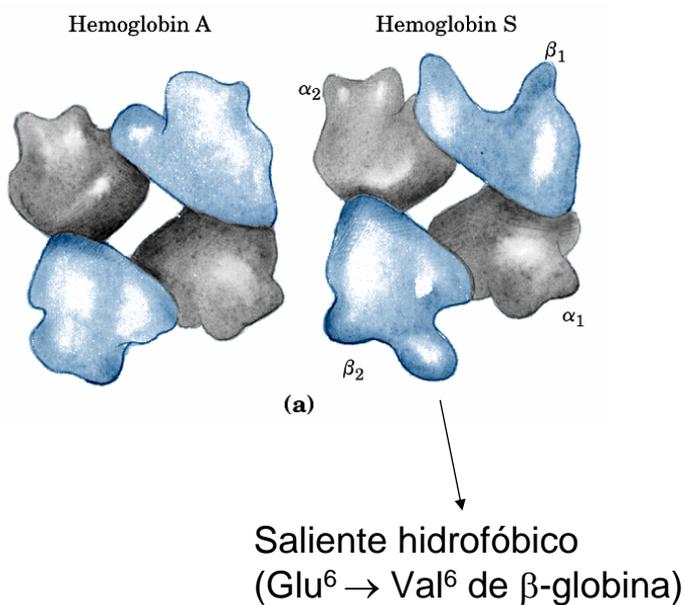
**TABLA 3.8** Cadenas de la hemoglobina humana.

Estado de desarrollo	Símbolo	Cadenas
Adulto	HbA <sub>1</sub>	$\alpha_2\beta_2$
Adulto	HbA <sub>2</sub>	$\alpha_2\delta_2$
Feto	HbF	$\alpha_2\gamma_2$
Embrión	Hb Gower-1	$\zeta_2\varepsilon_2$
Embrión	Hb Portland	$\zeta_2\gamma_2$

**Hb fetal ( $\alpha_2\gamma_2$ ): His<sup>143</sup> / Ser. Menor afinidad por el 2,3-BPG y por tanto mayor afinidad por el O<sub>2</sub>**



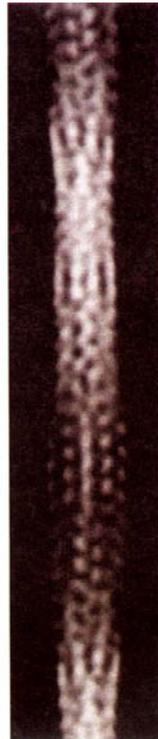
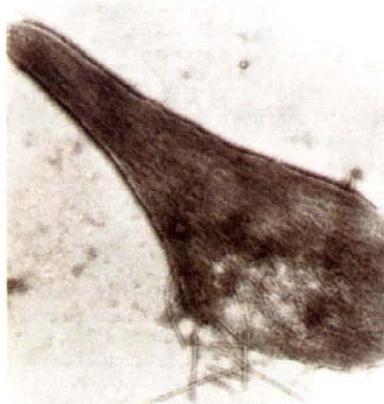
**Formación de fibras de hemoglobina S**



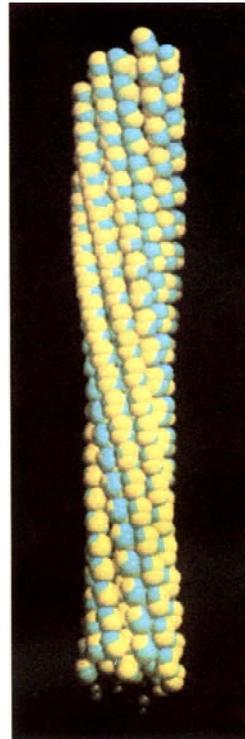
# Anemia falciforme



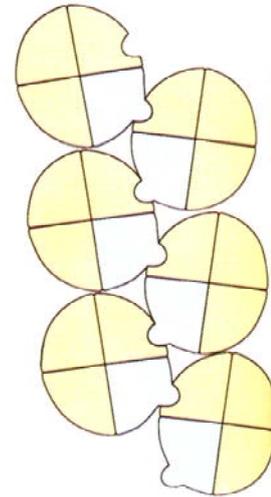
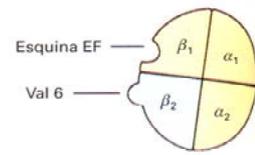
(a)



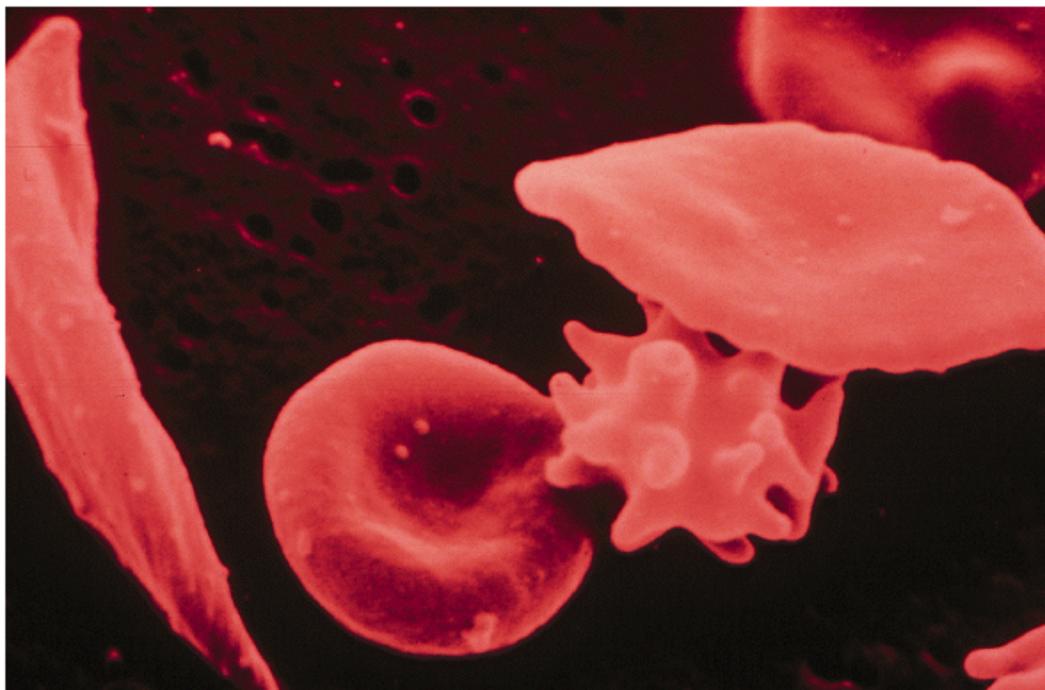
(a) Fibra de Hb de las células falciformes



(b) Modelo de fibra

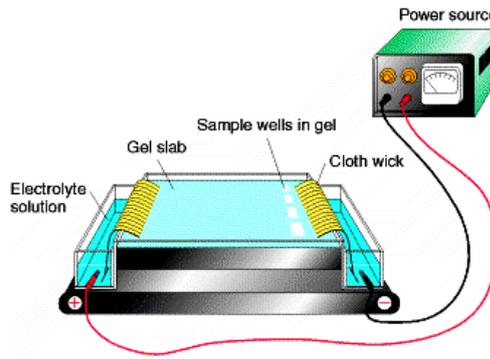


(b) Formación de la fibra

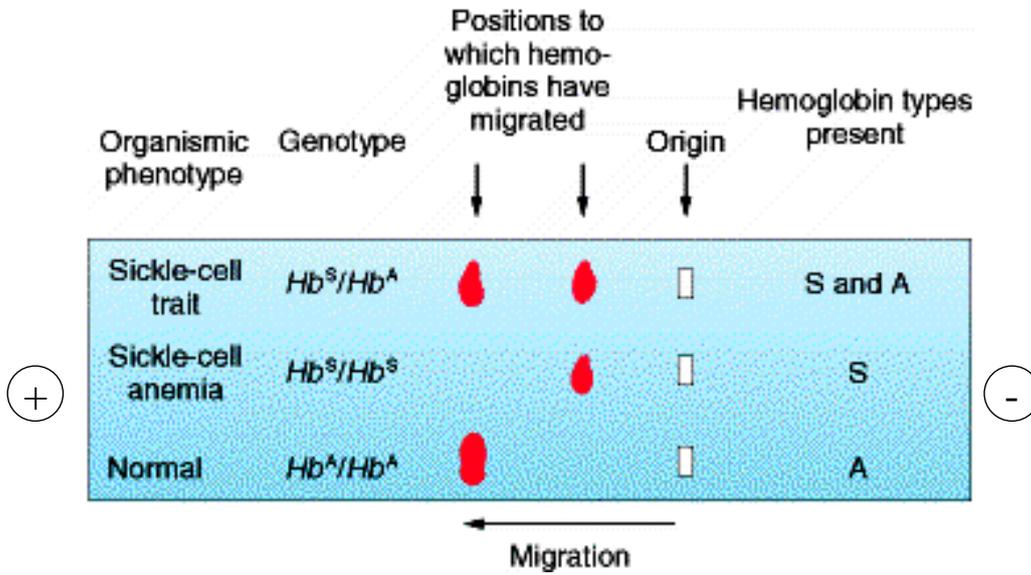


(b)

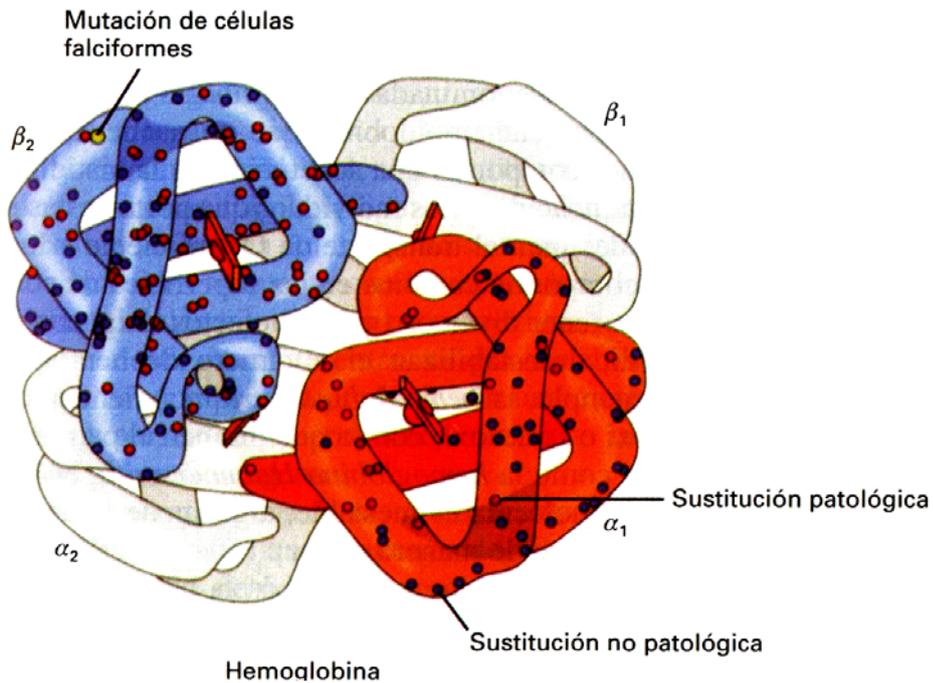
# Identificación de HbS por electroforesis



("Modern Genetic Analysis".  
A.J. Griffiths et al. Freeman and Co. 1999)



# Patología molecular de la hemoglobina

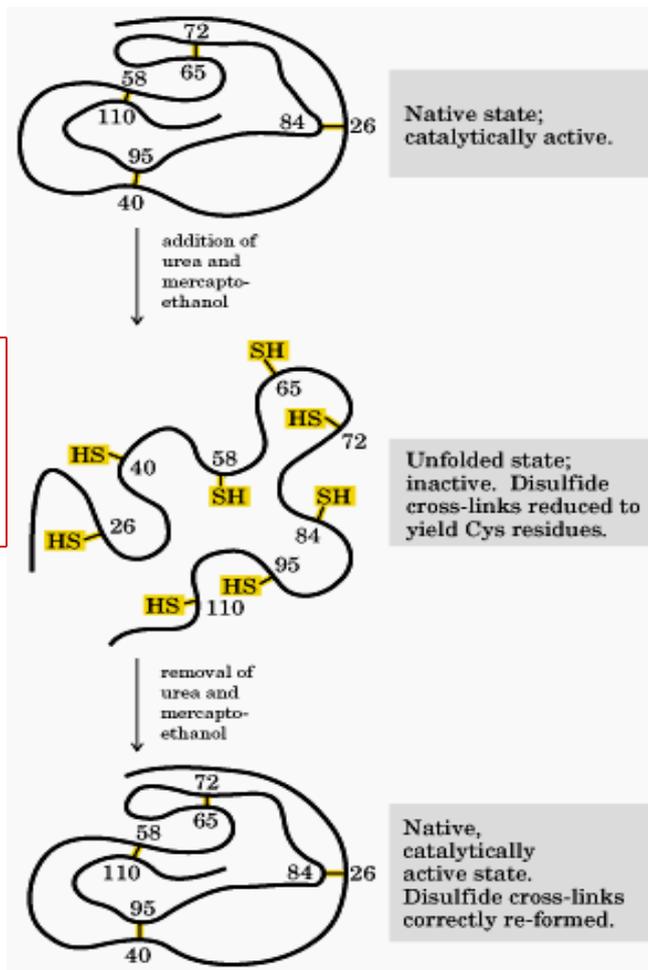


# DESNATURALIZACION DE PROTEINAS

- Pérdida de la estructura 3D de una proteína.
- Cambian las propiedades físicas, químicas y biológicas.
- Se produce por tratamiento con agentes físicos y agentes químicos.

## Agentes desnaturizantes

- Ácidos y bases fuertes
- Disolventes orgánicos (alcoholes, cetonas, cloroformo)
- Detergentes (SDS)
- Agentes reductores (mercaptoetanol)
- Compuestos polares neutros (urea, guanidina)
- Sales a elevada concentración
- Aumento de temperatura
- Agresión mecánica (agitación, trituración)

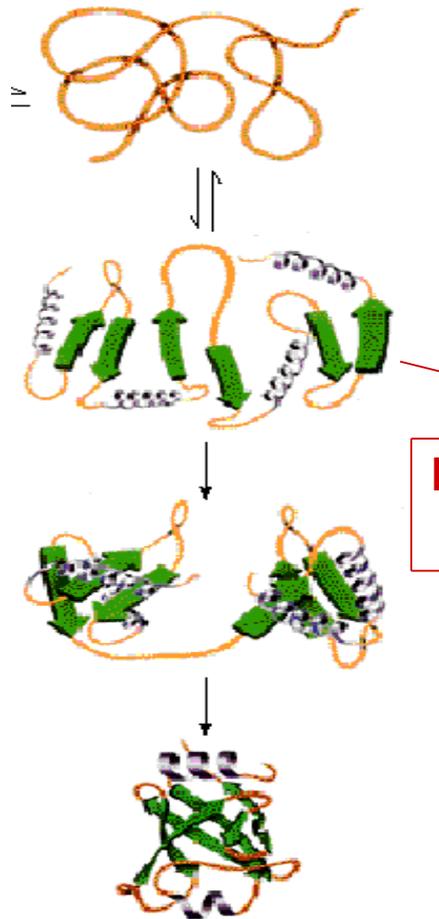


(“Lehninger Principles of Biochemistry” 3th.ed. Nelson, DL and Cox, M.M. Worth Publishers, 2000) 65

## Desnaturalización y renaturalización de la RNasa

## PLEGAMIENTO DE LAS PROTEINAS

- Para que las proteínas funcionen correctamente han de plegarse y alcanzar el **estado nativo**, su conformación más estable.
- En el proceso de plegamiento de algunas proteínas intervienen las **chaperonas** (HSPs, disulfuro-isomerasa), que ayudan a plegarse a otras proteínas.
- Enfermedades por plegamiento anormal de proteínas: Creutzfeldt-Jacob (encefalopatía espongiiforme), Alzheimer, esclerosis lateral amiotrófica, Parkinson.



Formación rápida de estructuras secundarias locales

Formación de dominios a través de la agregación cooperativa de núcleos de plegamiento

Formación de glóbulo fundido

Ajuste de la conformación de los dominios

Proteína plegada final

**Ruta de plegamiento de proteínas**