

Tema 24. Aminoácidos y proteínas. Biosíntesis proteica. Enzimas y coenzimas. Las vitaminas.

2º Bach. La célula y la base físico-química de la vida

SUMARIO

24.1. Introducción

24.2. Los aminoácidos: Composición química

24.2.1. Propiedades: A) ACTIVIDAD ÓPTICA (Ver tema 23); B) COMPORTAMIENTO QUÍMICO. Carácter anfótero, C) OTRAS PROPIEDADES

24.2.2. Clasificación.

24.3. El enlace peptídico. Las proteínas.

24.3.1. Estructura de las proteínas

24.3.2. Propiedades: SOLUBILIDAD, DESNATURALIZACIÓN, ESPECIFICIDAD

24.3.3. Clasificación.

24.3.4. Funciones de los prótidos:

24.4. Formación de aminoácidos.

24.5. Biosíntesis de proteínas: traducción.

24.5.1. El código genético

24.5.2. Biosíntesis de proteínas en organismos procariontes

24.5.3. Biosíntesis de proteínas en organismos eucariontes

24.6. Los enzimas

24.6.1. Composición

24.6.2. Mecanismos de la acción enzimática

24.6.3. Propiedades de los enzimas

24.6.4. Cinética enzimática

24.6.5. Regulación enzimática

24.6.6. Nomenclatura y clasificación

24.7. Las vitaminas

24.7.1. Clasificación

24.1. Introducción

Las proteínas ocupan un lugar fundamental entre las moléculas presentes en un ser vivo. Éstas representan el 50 % del peso seco de un organismo. A esta abundancia se une otra característica muy importante: son moléculas específicas, es decir, cada especie biológica tiene ciertas proteínas que le son exclusivas, e incluso cada individuo de la misma especie tiene algunas que no poseen los demás.

Son, pues, moléculas que marcan la individualidad del organismo y se puede decir que no existen dos seres vivos que tengan todas sus proteínas idénticas.

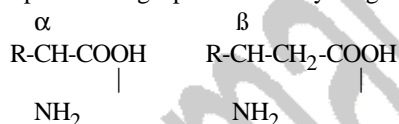
Son compuestos muy activos que intervienen en multitud de procesos biológicos. Participan en las reacciones metabólicas como catalizadores (enzimas); tienen funciones de transporte; de contracción, hormonales; homeostáticas y también son componentes de importantes estructuras celulares. Esta actividad biológica es consecuencia de su estructura espacial; por lo que una alteración de ésta supone la pérdida de su función.

También veremos en este tema como la información genética se traduce en proteínas (traducción), acontecimiento que tiene lugar durante la interfase del núcleo celular.

Dado que el mantenimiento de la vida está condicionado por la existencia de las reacciones metabólicas de forma rápida y coordinada, podemos afirmar que la actividad enzimática es una de las claves de la biología. En la actualidad hay identificados alrededor de dos mil enzimas diferentes, aunque probablemente existan más.

24.2. Los aminoácidos: Composición química

Todas las proteínas son macromoléculas formadas por la unión de unos monómeros llamados aminoácidos. Son moléculas que poseen un grupo carboxilo y un grupo amino en posición α , β , etc.



Todos los aminoácidos(aa) que forman parte de las proteínas (aa proteicos) son α -aminoácidos, y se diferencian en la cadena lateral R. Existen 20 aa proteicos distintos.

Entre los aa no proteicos cabe citar: β -alanina (precursor de vitaminas); citrulina, homoserina, etc. (intermediarios metabólicos); ácido amino butírico, GABA (neurotransmisores); etc.

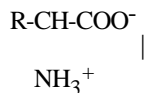
24.2.1. Propiedades:

A) ACTIVIDAD ÓPTICA (Ver tema 23)

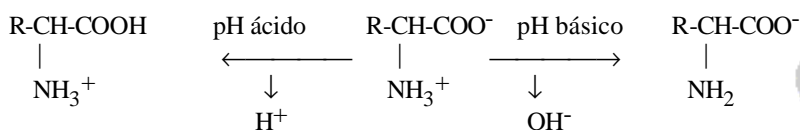
El carbono α es asimétrico (excepto en el aminoácido glicocola), por lo que los aa proteicos son compuestos ópticamente activos con dos estereoisómeros que desvían el plano de la luz polarizada en sentido opuesto. Unos son dextrógiros y otros levógiros. A esta propiedad también se le llama *quiralidad*. Por convenio el isómero D viene determinado por situarse el grupo amino a la derecha y el isómero L lo tiene a la izquierda. Los aa proteicos son L. En algunos antibióticos y en la pared bacteriana aparecen isómeros D.

B) COMPORTAMIENTO QUÍMICO. Carácter anfótero.

Los aa pueden ionizarse si el pH es adecuado, como ocurre en condiciones fisiológicas normales. El grupo carboxilo pierde un protón, y, por tanto se comporta como ácido, mientras que el grupo amino capta un protón y actúa como una base. Están, pues, doblemente ionizados y constituyen un ión dipolar o híbrido (zwitter-ion)



Esta característica les permite actuar como ácidos o como bases (anfóteros), dependiendo del pH del medio. Si éste es ácido, hay un exceso de H^+ que son captados por el grupo COO^- , por lo que actúa como compuesto básico, y el aminoácido queda cargado positivamente. Si el pH es básico, el grupo NH_3^+ libera un H^+ al medio; por ello, el aa se comporta como ácido y queda cargado negativamente



Además, el grupo R puede contener otros grupos ácidos o básicos, que se puede ionizar y contribuyen a la carga neta del aa. Se llama **punto isoeléctrico (pI)** al valor del pH para el cual la carga neta del aa es cero, pues sus cargas eléctricas positivas y negativas se equilibran. Cada aa tiene un pI distinto; esto es útil para separarlos en una disolución en la que se va cambiando el pH, y donde se aplica una corriente eléctrica.

C) OTRAS PROPIEDADES

Debido a su bipolaridad, los aa tienen una solubilidad mayor de la esperada. Y dado que existen enlaces iónicos entre ellos su punto de fusión es elevado.

24.2.2. Clasificación.

Está basada en las características de la cadena lateral R, y existen los siguientes grupos:

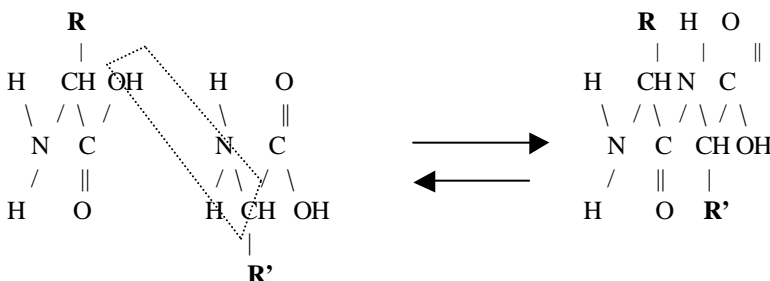
- ❑ **Aminoácido neutros**, sin carga a pH=7. Pueden ser polares (cuando contienen grupos polares capaces de formar puentes de hidrógeno con otras moléculas polares), o apolares (cuando no existen esos grupos y tienen, en cambio, grupos hidrófobos):
 - **Polares (no cargados)**: Glicocola, Serina, Treonina, Cisteína, Tirosina, Asparagina y Glutamina.
 - **No polares**: Alanina, Valina, Leucina, Isoleucina, Prolina (técnicamente se trata de un iminoácido debido a su estructura), Metionina, Fenilalanina y Triptófano.
- ❑ **Aminoácido básicos**. Poseen una carga neta positiva a pH=7, ya que tienen grupos aminos en la cadena lateral R. Son: Lisina, Arginina e Histidina.
- ❑ **Aminoácido ácidos**. Tienen una carga negativa a pH 7 ya que su cadena lateral contiene grupos carboxilo. Son: Ac. glutámico y Ac. aspártico.

NOTA: Conviene formular, al menos, un aminoácido de cada grupo.
--

La mayoría de estos veinte aminoácidos pueden sintetizarse unos a partir de otros (ver apartado 24.4.), pero existen algunos que no pueden hacerlo y deben ser adquiridos con el alimento. Se denominan **aminoácidos esenciales** y su número varía en las diferentes especies. Para algunos autores los aa esenciales son 10: Met, Val, Leu, Ile, Phe, Trp, Thr, Lys, Arg e His. Para otros son los 8 primeros, y los dos últimos lo serían, también, para lactantes y niños de corta edad; para otros son nueve (excluyen la Arginina). Hay unos 150 aa no proteicos con distintas funciones.

24.3. El enlace peptídico. Las proteínas.

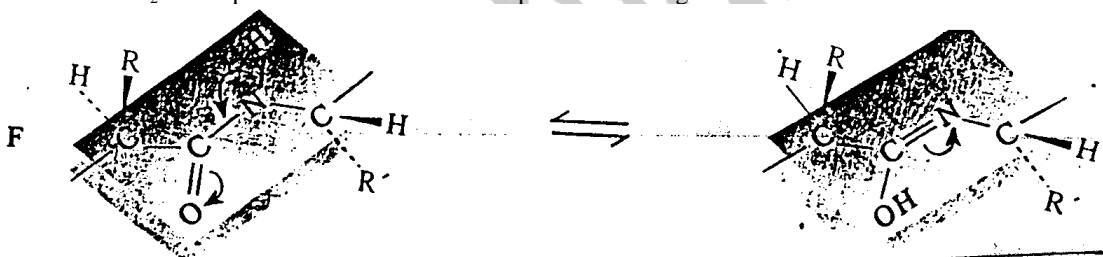
Los aminoácidos se unen entre sí por enlaces tipo amida, denominados enlaces peptídicos. Éstos se producen entre el grupo α -carboxilo de un aa y el grupo α -amino del otro, con liberación de una molécula de agua.



Como se ve, las cadenas laterales no participan en la formación del enlace. La unión de dos aa origina un dipéptido. Éste puede unirse a un nuevo aa y formar un tripéptido con liberación de otra molécula de agua. Así pueden unirse muchos aa, constituyendo los llamados polipéptidos.

El enlace peptídico posee cierto carácter de doble enlace (se estabiliza por resonancia) que le impide girar libremente; por ello, los cuatro átomos del enlace están colocados en el mismo plano, lo que limita el nº de conformaciones que puede adquirir una cadena polipeptídica, de ahí su enorme importancia. La posición de las cadenas R se va alternando entre los aa consecutivos.

Al formarse los enlaces peptídicos desaparece el carácter anfótero, ya que dichos enlaces incluyen un grupo cargado de cada aa. Sin embargo, la cadena polipeptídica puede presentar propiedades ácidas o básicas debidas a los grupos presentes en las cadenas laterales de sus aa. Así, cuando se añade ácido a las proteínas en solución, los grupos $-COO^-$ cambian a $-COOH$, y se añade una base, los grupos $-NH_3^+$ cambian a $-NH_2$. En el punto isoelectrónico de cada proteína su carga neta es cero.



Unos pocos péptidos cortos tienen funciones y propiedades interesantes: hormonas (oxitocina, vasopresina), faloidina (veneno de algunas setas), el tripéptido glutatión (transportador de hidrógeno en las reacciones metabólicas), etc.

24.3.1. Estructura de las proteínas

La función de las proteínas está basada en su estructura tridimensional. Por ello, la cadena polipeptídica debe plegarse, disponiéndose en una forma espacial que la haga apta para realizar su actividad biológica. Así, se pueden diferenciar varios niveles de plegamiento, de complejidad creciente, cada uno de los cuales se construye a partir del anterior. Son las denominadas estructuras primaria, secundaria, terciaria y cuaternaria.

ESTRUCTURA PRIMARIA

Está constituida por la secuencia de los aa de la cadena polipeptídica (se incluye la formación de puentes disulfuro entre restos de cisteína). Las distintas proteínas se diferencian en el nº, tipo y orden en que se encuentran los aa, lo cual, es consecuencia del mensaje genético presente en la célula (Ver apartado 24.5.). En cualquier cadena polipeptídica encontramos un extremo amino y un extremo carboxilo libres. Por convenio, al numerar los aa en la estructura primaria, se considera como primer aa al que tiene el grupo amino libre, y como último, al portador del carboxilo terminal.

Una misma secuencia polipeptídica puede, teóricamente, presentar infinitas conformaciones, pues los enlaces, salvo los peptídicos, como ya hemos visto, pueden girar libremente¹. La cadena polipeptídica será, por tanto, semejante a una cadena de planos articulados.

La secuencia de aa de la estructura primaria condiciona los siguientes niveles estructurales y su conformación espacial.

ESTRUCTURA SECUNDARIA

De los posibles plegamientos de la estructura primaria, hay algunos que dan lugar a conformaciones estables. Éstas constituyen la estructura secundaria que puede ser de dos tipos: α y β . En algunas proteínas el plegamiento es espontáneo y en otras es guiado por una proteína diferente (tutores o tutores moleculares) que proporcionan una estructura donde tiene lugar el plegamiento correcto de las proteínas. Algunos tutores estudiados son proteínas que produce la célula en respuesta a un aumento de t^a . Evitan así la desnaturalización y precipitación de proteínas calentadas, o proporcionan un marco en el que las proteínas pueden renaturalizarse a sus formas apropiadas cuando la t^a disminuye.

El estudio de los tutores moleculares puede tener aplicaciones clínicas. Por ejemplo, algunos virus humanos pueden necesitarlos para ser activos y algunas enfermedades humanas pueden ser causadas por mutaciones de tutores que den lugar a un enzima ineficaz.

Estructura α -Hélice

Está formada por el enrollamiento de la cadena polipeptídica sobre sí misma, en forma de espiral. Se forma una hélice en sentido dextro (el de giro de las agujas del reloj). La α -queratina presenta esta estructura.

La estabilización de la α -hélice se consigue por la formación de numerosos puentes de hidrógeno, formados entre el grupo -NH y el grupo -C=O de enlaces peptídicos distintos (concretamente entre el grupo -NH de un aa y el -C=O del cuarto aa que le sigue en la secuencia). Hay una vuelta de hélice por cada 3,6 aa.

Las cadenas laterales R quedan situadas hacia el exterior, y como no participan en los enlaces estabilizadores de la estructura, diferentes secuencias primarias pueden originar esta misma estructura. No obstante algunos aa pueden desestabilizar la α -hélice, como, por ejemplo, la prolina, cuyo grupo amino no puede formar enlaces puente de H con otros aa por carecer de hidrógeno; también los aa de cadena lateral voluminosa, o con cargas eléctricas del mismo signo que se sitúen próximas, también impiden la estabilización de la estructura. De esta forma, en una proteína hay trozos con una configuración en α -hélice y otros con una disposición irregular.

Estructura β o en lámina plegada

La cadena polipeptídica se pliega sobre sí misma hacia delante y hacia atrás, enfrentándose distintos tramos en un sentido y en el contrario.

La estructura se mantienen, como en el caso anterior, por las formaciones de puentes de Hidrógeno entre grupos -NH y -C=O de diferentes enlaces peptídicos de cadenas polipeptídicas que pueden discurrir paralelas.

Se constituye una estructura en forma de lámina plegada en zigzag; los radicales de los aa se disponen alternativamente por encima y por debajo de ella. Ésta es la estructura secundaria de la β -queratina (uñas, pelo).

Normalmente en cualquier tipo de proteína encontramos los dos tipos de estructura secundaria, con diferentes proporciones entre ellas. Algunas combinaciones de estas dos estructuras son muy estables y constituyen los llamados **dominios estructurales**, que pueden ser los mismos en proteínas con estructuras y funciones diferentes.

ESTRUCTURA TERCIARIA

Se debe a un nuevo plegamiento de la cadena polipeptídica. Dado que el medio celular es acuoso, los aa apolares se disponen en el interior de la estructura, protegidos del contacto con el agua. Los polares se colocan en la parte más externa. La conformación más estable, en las condiciones celulares, se denomina

¹son los enlaces $N \rightarrow C\alpha$, $C\alpha \rightarrow C_{\text{carboxilo}}$, el enlace $C_{\text{carboxilo}} \rightarrow N$ es el enlace peptídico

estado nativo y es específica de cada proteína. Las características y las funciones biológicas dependen de ella.

Los plegamientos se producen y mantienen por la existencia de distintos enlaces entre las cadenas laterales de los aa. Por esto, la secuencia de los aa en la estructura primaria es fundamental en la conformación espacial de la proteína. Cualquier cambio en la posición de alguno de ellos puede alterar la estructura terciaria, y, por tanto, la pérdida de su función.

Los enlaces que podemos encontrar son:

- electrostáticos entre radicales con cargas opuestas (aa básicos y ácidos);
- puentes de hidrógeno entre aa polares;
- interacciones hidrofóbicas y fuerzas de Van der Waals entre aa apolares;
- puentes disulfuro entre grupos -SH de dos aa cisteína. Es un enlace covalente, y, por tanto, más fuerte que los anteriores.

Las proteínas globulares suelen ser solubles en agua. Aunque la conformación total de cada proteína es única, algunas combinaciones de hélice α y lámina β , unidas mediante bucles o vueltas, son particularmente estables y aparecen en muchas proteínas diferentes. Se denominan **zonas, campos o dominios**, y son unidades globulares relativamente pequeñas (menos de 150 aa), a partir de las cuales, al parecer, se forman las proteínas globulares. Cada dominio estructural se pliega (y se desnaturaliza) casi independientemente de los demás. Varios dominios distintos suelen estar unidos por tramos más o menos abiertos de cadenas polipeptídicas, formando una proteína globular.

Algunas moléculas proteicas pueden cambiar su conformación de modo reversible (alostéricas). Intervienen en la regulación metabólica, porque generalmente sólo una de las conformaciones tiene alta afinidad por el ligando, y la presencia o ausencia de ésta determina la conformación adoptada por la proteína.

ESTRUCTURA CUATERNARIA

Es la disposición espacial de las distintas subunidades que pueden constituir una proteína. Sólo se da en el caso de grandes proteínas formadas por asociaciones de varias subunidades, que pueden ser iguales o distintas. Los enlaces que se establecen entre las distintas cadenas son del mismo tipo que los que intervienen en la estructura terciaria.

Ejemplos son, los complejos multienzimáticos, la hemoglobina, las proteínas musculares y la cápsida de los virus.

Como hemos visto cada estructura depende de la anterior. Las proteínas de los seres vivos son las que su secuencia de aa permite una configuración tridimensional estable y activa biológicamente. Otras estructuras primarias posibles, con estructuras espaciales no estables o no activas, se habrían eliminado a lo largo de la evolución. Las estructuras supramoleculares, como los complejos enzimáticos, los filamentos proteicos, los ribosomas, las membranas y los virus, se forman como agregados de subunidades ensambladas de forma no covalente.

24.3.2. Propiedades

SOLUBILIDAD

Las proteínas fibrilares suelen ser insolubles. Las globulares, más abundantes, son solubles en medios acuosos, ya que los aa apolares quedan en el interior de la estructura y los polares periféricos interaccionan con las moléculas de agua formando una capa de solvatación. Si en el medio acuoso aparece un exceso de sales, al estar ionizadas, compiten con las cargas de las proteínas y hacen que éstas pierdan su capa de solvatación. De esta forma, las moléculas proteicas se unen unas a otras y precipitan.

En función de su solubilidad podemos separar las distintas proteínas de una disolución. Al ir añadiendo cantidades crecientes de una sal, van precipitando las diferentes proteínas de forma escalonada. Las proteínas que tengan menos cargas en su superficie precipitan antes que las que posean numerosas cargas.

DESNATURALIZACIÓN

Cuando las condiciones ambientales varían, puede perderse la configuración espacial característica, y se produce la pérdida, también, de la función biológica de la proteína (desnaturalización). Durante este

proceso se rompen los enlaces que mantienen la estructura secundaria, la terciaria y la cuaternaria, pero no los enlaces peptídicos.

Si los cambios ambientales son poco intensos o de corta duración, la desnaturalización es reversible y, una vez que se recuperan las condiciones iniciales, la proteína vuelve a plegarse hasta adquirir la conformación nativa. Esta **renaturalización** espontánea demuestra que la estructura espacial depende de la estructura primaria, como ya dijimos.

Si los cambios ambientales son intensos o de larga duración, la desnaturalización es irreversible y al proteína no recupera su forma espacial nativa ni sus propiedades biológicas. Se produce una transformación de formas globulares a formas fibrosas, y se desencadena una insolubilización. Este proceso es el que ocurre al freír o cocer un huevo (se coagula la albúmina de la clara por desnaturalización irreversible), la permanente del pelo, cortarse la leche, etc.

Los factores que provocan la desnaturalización son tanto físicos (variaciones de t^a o de presión) como químicos (cambio de pH, presencia de iones o de urea, etc.).

La variaciones de pH, aunque sean mínimas provocan cambios en el estado de ionización de los radicales de los aa ácidos y básicos; por ello se alteran los enlaces electrostáticos que intervienen en el mantenimiento de la estructura terciaria. De ahí la importancia de un pH estable para asegurar la estabilidad proteica.

En las proteínas formadas por varios dominios, cada uno de ellos se desnaturaliza independientemente de los demás, de modo que la estabilidad de una proteína grande está determinada por la del dominio más estable.

ESPECIFICIDAD

Ésta es la propiedad más característica de las proteínas. Las proteínas presentes en una determinada especie son, en muchos casos, exclusivas de ella. En el caso de las proteínas con la misma función, que se encuentran en especies distintas, la conformación tridimensional es común, pero varía algún aa. Por ejemplo, la cadena de la hemoglobina de gorila difiere de la humana en un aa, la de cerdo en 17 y la de caballo en 26. Estas diferencias en las secuencias polipeptídicas entre proteínas de diferentes especies son empleadas en los estudios filogenéticos. A mayor semejanza entre las secuencias proteicas corresponde un mayor grado de parentesco evolutivo.

La especificidad proteica también existe a escala individual, pues cada ser vivo tiene algunas proteínas que no posee ningún otro (excepción hecha de los gemelos univitelinos). Esta "individualidad proteica" es capaz de ser detectada por los organismos vivos, y fenómenos como el rechazo de trasplantes, la defensa contra microorganismos o la alergia son consecuencia de la entrada de proteínas "no propias" en un individuo.

24.3.3. Clasificación.

A) HOLOPROTEÍNAS: GLOBULARES (Albúminas, globulinas, Histonas) y FILAMENTOSAS (Colágeno, Elastina, Queratina)

B) HETEROPROTEÍNAS

GLUCOPROTEÍNAS (Anticuerpos, LH, FSH, etc.)
LIPOPROTEÍNAS (LDL, HDL)
FOSFOPROTEÍNAS (caseína del queso)
CROMOPROTEÍNAS (hemoglobina, citocromos,...)
NUCLEOPROTEÍNAS

A) HOLOPROTEÍNAS

También llamadas proteínas simples. En su hidrólisis se obtienen aa exclusivamente. Entre ellas tenemos:

A₁) GLOBULARES. De forma globosa y solubles en agua; destacamos:

- **Albúminas.** Pm = 30.000-100.000, pueden actuar como reserva de aa o como transportadores de otras moléculas. Entre otras destacan la seroalbúmina (plasma sanguíneo), lactoalbúmina (leche) y ovoalbúmina (clara del huevo).
- **Globulinas.** Pm 100.000-1000.000, forma globular perfecta. Destacan las α -globulinas que forman parte de la hemoglobina.

- **Histonas.** Proteínas básicas que se asocian al ADN en los cromosomas y parecen implicadas en la diferenciación celular y en la regulación génica.
- Otras son las Gluteninas contenidas en las semillas de cereales.

A₂) FILAMENTOSAS. Alargadas e insolubles en agua. Destacamos:

- **Colágeno.** La proteína contiene muchos aa prolina e hidroxiprolina. Su estructura secundaria está constituida por tres cadenas polipeptídicas enrolladas formando una triple hélice, lo que le comunica mucha resistencia a la tracción. Se encuentra en los tejidos conectivos. Por cocción se transforma en gelatina.
- **Elastina.** Se deforma reversiblemente por tracción, de ahí que se encuentre en órganos elásticos como pulmones, arterias, etc.
- **Miosina y actina.** Responsables de la contracción muscular.
- **Fibrina.** Procede del fibrinógeno plasmático e interviene en la coagulación sanguínea.
- **Queratina.** Abunda el aa cisteína. Se encuentra en células epidérmicas y derivados (uñas, pelos, plumas, cuernos, pezuñas, escamas de reptiles y aves, etc.)

B) HETEROPROTEÍNAS

También llamadas proteínas conjugadas. Contienen una parte proteica (grupo proteico) y otra parte no proteica (grupo prostético). Se clasifican según sea éste, en:

B₁) GLUCOPROTEÍNAS. Su grupo prostético es un glúcido. Forman parte de las membranas celulares, con funciones antigénicas. También son glucoproteínas los Anticuerpos, las hormonas LH, FSH, algunos componentes del líquido sinovial de las articulaciones, mucus del aparato digestivo y respiratorio, etc.

B₂) LIPOPROTEÍNAS. Su grupo prostético es un lípido. Hay varios tipos y se encargan del transporte sanguíneo del colesterol, de los triglicéridos y otros lípidos. Su mayor o menor densidad depende de su menor o mayor contenido en lípidos.

Destacan la LDL (lipoproteínas de baja densidad o "mala"), se pueden depositar en las paredes de los vasos sanguíneos.; y la HDL (de alta densidad) que disminuyen la cantidad de colesterol en la sangre llevándolo al hígado para su degradación.

B₃) FOSFOPROTEÍNAS. Tienen como grupo prostético el ácido ortofosfórico. Ejemplos de ellas son, la caseína del queso y la vitelina de la yema del huevo.

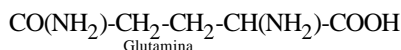
B₄) CROMOPROTEÍNAS. su grupo prostético es un grupo coloreado, por tener dobles enlaces conjugados. Se diferencian en dos grupos:

B_{4.1}) Compuestos profirínicos. Su grupo prostético es una metalporfirina, constituida por cuatro anillos pirrólicos, que forman una estructura que se une a un átomo metálico. De entre estos compuestos destacamos:

- **hemoglobina**, que lleva átomos de Fe^{2+} y de color rojo. Transporta el O_2 en la sangre de los vertebrados. Está constituida por cuatro subunidades;
- **mioglobina**, semejante a la anterior, pero se une al O_2 en los músculos y está constituida por una sola unidad;
- **citocromos**, cuyo Fe es capaz de oxidarse o de reducirse al ceder o captar e^- , fundamentales en la respiración aerobia y en la fotosíntesis;
- **catalasas y peroxidasas**, también contienen Fe;
- **clorofila**, lleva Mg^{2+} y es de color verde. Lleva unido el terpeno fitol y se asocia a complejos proteicos en los cloroplastos. Ojo la clorofila no es una proteína.

B_{4.2}) Compuestos no profirínicos, entre ellos destacamos:

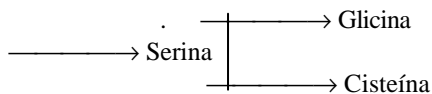
- **hemocianina**, de color azul, contiene un átomo de Cu. transporta O_2 en la sangre de algunos invertebrados;
- **rodopsina**, pigmento presente en la retina, que participa en el proceso visual.



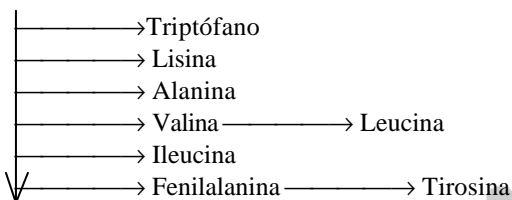
Mediante una transaminasa la glutamina junto con un cetoácido se puede transformar en Ac. Glutámico y otro aminoácido, aportando así el grupo -NH_2

Para la síntesis de aa en el hialoplasma son prácticamente imprescindibles dos moléculas: la glutamina y el ácido glutámico, que, mediante una transaminasa, proporciona el radical amino necesario para la síntesis de los demás aminoácidos. Estas dos moléculas obtienen el grupo amino de la degradación de aa, del ácido nítrico, o bien capta el ión amonio libre. Casi todas las síntesis de aa parten de tres compuestos:

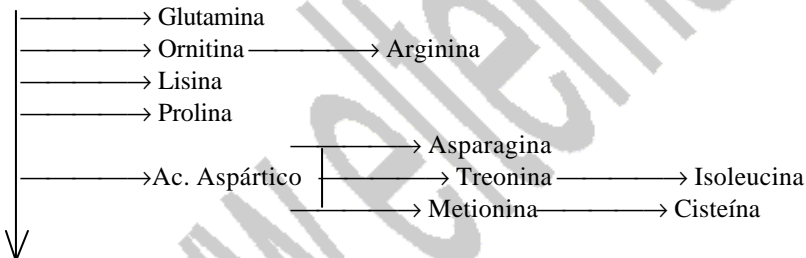
a) Ácido 3-fosfoglicérico: Requiere también ácido glutámico como donador del grupo amino y metionina para aportar los grupos sulfhídrido.



b) Ácido pirúvico: Requieren al ácido glutámico como donador del grupo amino.



c) Ácido glutámico: Se forma a partir del ácido α -cetoglutarico al unirse un grupo amino del NH_4^+



En la mayoría de las rutas metabólicas que conducen a la síntesis de los aminoácidos, el **grupo amino** se introduce en la última etapa, donde el cetoácido correspondiente acepta el grupo amino procedente de la **transaminación** del ácido glutámico o de la glutamina. Estos dos aminoácidos, junto con la asparagina, constituyen la reserva nitrogenada encargada de ceder grupos amino a los metabolitos que participan en la biosíntesis de los aminoácidos y otros compuestos nitrogenados.

24.5. Biosíntesis de proteínas: traducción.

24.5.1. El código genético

Watson y Crick ya señalaron que debería existir una clave por la cual la disposición de los nucleótidos en el ADN y, en consecuencia en el ARNm determinaría la secuencia de aa en las proteínas.

Dado que el nº de aminoácidos diferentes es de 20 y los nucleótidos tan sólo 4, era lógico suponer que se precisaba un triplete de nucleótidos por cada aa codificado, ya que el nº total de combinaciones posible es el $4^3 = 64$, mientras que si en lugar de tres nucleótidos fueran dos o uno, el nº de combinaciones sería, respectivamente, de 16 ó de 4. Crick demuestra experimentalmente que son tripletes las agrupaciones de nucleótidos que codifican un aa. Posteriormente se comprobó la existencia de tan sólo dos tipos de tripletes que no codificaban aa, los indicativos de iniciación (AUG) y terminación (UAG, UAA, UGA), siendo la lectura del proceso lineal.

Crick y colaboradores comprobaron que la adición o delección de un nucleótido produce un desplazamiento en la pauta de lectura que da lugar a que se lea una serie de codones nuevos. Si se combina una adición y

una delección para producir un gen doblemente mutante, el desplazamiento de la pauta afectará solamente a la región entre los dos mutantes. Si es suficientemente pequeña o no contienen información para aa vitales, se puede restaurar la función del gen. Dos delecciones o dos inserciones combinadas no restauran la pauta de lectura. Sin embargo, Crick y sus colegas encontraron que la combinación de tres adiciones o tres delecciones también restauraba la función génica. Este hallazgo les llevó a la conclusión de que el código genético era un código de tripletes.

El código genético se lee como un código no solapado y sin puntuación. Antes de que se demostrara se sugirió que podría ser solapado por una o dos bases o tener bases no codificadoras entre los tripletes (puntuación).

El desciframiento del código genético es uno de los hitos científicos del siglo XX. Se inicia con los trabajos de S. Ochoa, A. Kornberg y M. Nirenberg entre los años 1958 y 1964.

		SEGUNDA POSICIÓN					
1ª POSICIÓN (5')		U	C	A	G	3ª POSICIÓN (3')	
U	Phe	Ser	Tyr	Cys	U	U	C
	Phe	Ser	Tyr	Cys		C	
	Leu	Ser	parada	parada		A	
	Leu	Ser	parada	Trp		G	
C	Leu	Pro	His	Arg	U	U	C
	Leu	Pro	His	Arg		C	
	Leu	Pro	Gln	Arg		A	
	Leu	Pro	Gln	Arg		G	
A	Ile	Thr	Asn	Ser	U	U	C
	Ile	Thr	Asn	Ser		C	
	Ile	Thr	Lys	Arg		A	
	Met (inicio)	Thr	Lys	Arg		G	
G	Val	Ala	Asp	Gly	U	U	C
	Val	Ala	Asp	Gly		C	
	Val	Ala	Glu	Gly		A	
	Val	Ala	Glu	Gly		G	

Algunos aspectos a resaltar del código genético son:

- Su **universalidad**, que nos habla de un precursor común, cuya clave ha sido protegida a lo largo del curso evolutivo. Sin embargo, en los últimos años se ha observado una serie de disparidades en el caso de la síntesis de proteínas en mitocondrias de levaduras y células animales que, probablemente, proporcionarán datos acerca del origen de estos orgánulos e incluso de las propias células eucariontes.
Estas desviaciones de la universalidad se deben, al parecer, a que son precisos menos de 64 ARNt para leer el código genético y a que, hay varios casos en que un codon se interpreta de forma distinta en el sistema mitocondrial que en el resto de la célula; algunos sistemas no mitocondriales leen los codones de parada de manera distinta (un micoplasma y un protozoo ciliado).
La estructura del código tanto en las mitocondrias como en las células parece que las protege a la célula frente a una gran cantidad de mutaciones potenciales.
- Se trata de un **código degenerado** en el sentido matemático del término, que nos indica que un aa dado puede venir determinado por más de un codón. Tan sólo la metionina, que viene codificada precisamente por el triplete indicativo de la iniciación AUG, y el triptófano vienen determinados por un solo triplete.
- **No existe imperfección** dado que ningún triplete codifica dos aa diferentes, lo que si produciría problemas evidentes. La leucina y la serina son las que poseen mayor nº de codones (6).

Hipótesis del tambaleo

Según podemos observar en la tabla del código genético, ocho de las dieciséis celdas contienen sólo un aa por celda. Cada celda viene determinada por la primera y segunda posición, por ejemplo UCX (X es cualquiera de las cuatro bases) en el caso del aa Serina (Ser). Para estos ocho aminoácidos sólo es necesario leer el codon de las dos primeras posiciones porque representará el mismo aa sea cual sea la tercera base. Estos ocho grupos de codones se denominan **familias no compartidas de codones**.

Las **familias compartidas** de codones codifican dos aminoácidos, o señales de parada y uno o dos aminoácidos.. Seis de estas celdas están divididas por la mitad de forma que los codones se diferencian por la presencia de una purina (A, G) o una pirimidina (U, C) en la 3ª base. Sólo dos de las familias de codones están divididas de manera distinta.

La menor importancia de la 3ª posición en el código encaja con dos características de los ARNt. Primera: Sólo hay unos 50 ARNt distintos en E. coli, en lugar de 64; Segunda: Una base rara como la inosina puede aparecer en el anticodon en una posición complementaria a la 3ª del codon (la base nº 1 del codon es complementaria a la base nº 3 del anticodon). Estos dos hechos conducen al concepto de que hay algún tipo de conservación en los ARNt y que en él pueden estar implicadas las bases raras.

Como la primera base del anticodon no está tan determinada como las otras dos posiciones, una base dada en esta posición puede ser capaz de emparejarse con cualquier base 3ª del codon. Crick llamó a esta capacidad **tambaleo**.

Combinaciones de emparejamiento en la 3ª posición del codon

Base nº 1 en el ARNt (Extremo 5')	Base nº 3 en el ARNm (Extremo 3')
G	U o C
C	G
A	U
U	A o G
I	A, U, o C

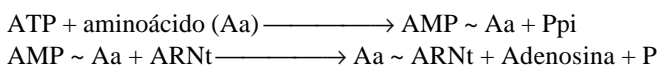
Las familias no compartidas necesitan dos ARNt y las familias compartidas uno, dos o tres dependiendo de la familia. El sistema de codificación mitocondrial de la levadura precisa no más de 24 ARNt (cada familia no compartida es reconocida por un solo ARNt)

24.5.2. Biosíntesis de proteínas en organismos procariontes

La **traducción** es el proceso por el que la secuencia de nucleótidos de una ARNm determina la estructura primaria de una proteína. En la biosíntesis de proteínas se pueden definir tres etapas sucesivas: iniciación, elongación y terminación. Cada una de estas etapas necesita de la unión temporal de ribosoma a proteínas que no están unidas a él normalmente. Estas proteínas o factores, en nº de una decena, codifican el funcionamiento del ribosoma durante la síntesis; se necesita además un aporte energético que proviene de la hidrólisis de la molécula de GTP.

INICIACIÓN

Los aminoácidos, en presencia del enzima aminoácil-ARNt-sintetasa y del ATP, son capaces de asociarse a un ARNt específico y dar lugar a un aminoácil-ARNt, liberándose AMP, PPi y quedando libre el enzima, que vuelve a actuar.



Antes de empezar la síntesis, las subunidades 30S y 50S del ribosoma están separadas. En una primera fase, la subunidad 30S se une al ARNm por su extremidad 5', donde se encuentra el codón de iniciación 5'-AUG-3'; este primer paso necesita de la unión de un factor proteico (IF-3) a la subunidad 30S. A este complejo 30S-ARNm-IF-3 se le une un segundo factor (IF-2), una molécula de GTP y el primer aminoácil-ARNt (formil-metionina en procariontes y metionina en eucariontes).

(OPCIONAL) Hipótesis de Shine-Dalgarno y del rastreo. Aparentemente el ribosoma reconoce la secuencia de complementaridad (AGGAGG) del ARNm procariótico mediante una región del extremo 3' del ARNr 16S. Esta región, llamada de Shine-Dalgarno, falta en eucariotas.

El mecanismo real de reconocimiento del extremo 5' del ARNm eucariótico parece que se basa en el reconocimiento de la caperuza 5' del ARNm por el ribosoma, seguido por el desplazamiento del ribosoma hasta encontrar el codón de iniciación (hipótesis del rastreo).

La formil-metionina se coloca en el lugar P de la subunidad 30S, su anticodón es complementario del codón iniciador 5'-AUG-3'. Finalmente el último factor (IF-1) se une al complejo y es el que permite la unión de la subunidad grande 50S a la 30S. Simultáneamente, el IF-3 se retira y el GTP \longrightarrow GDP + Pi, posteriormente salen IF-1 e IF-2. Para la inserción de la metionina en otro lugar que no sea el de iniciación hay otro ARNt distinto del que forma parte del complejo de iniciación. Éste ARNt del complejo de iniciación puede reconocer hasta tres codones distintos en procariontes, en eucariontes sólo reconoce al triplete de iniciación 5'-AUG-3'.

ELONGACIÓN

Después de la formación del complejo de iniciación 70S empieza la elongación de la cadena polipeptídica por la adición de los aminoácidos, esta etapa comienza por el extremo N terminal de la cadena y avanza hacia el C terminal. La adición de cada aa comporta tres fases sucesivas: la fijación del aa-ARNt, la formación de la unión polipeptídica y la translocación.

Fijación. Se realiza en el lugar A del ribosoma; este paso precisa dos factores de elongación EF-Ts y EF-Tu (T por transferencia, s y u por estable o inestable) y una molécula de GTP que, tras su hidrólisis, provocan el abandono del ribosoma por parte de los factores de elongación.

El factor EF-Tu, unido al GTP, se necesita para la colocación de un ARNt en el locus A del ribosoma. Tras su colocación, se hidroliza el GTP \longrightarrow GDP + Pi y se libera del ribosoma el complejo EF-Tu/GDP. El factor EF-Ts se necesita para regenerar un complejo EF-Tu/GTP, para que se pueda unir de nuevo al ARNt.

La velocidad de incorporación de los aminoácidos es de unos 50 por segundo en procariotas y unos dos por segundo en eucariotas.

Unión peptídica. Se cataliza por la peptidil transferasa (está en la unidad 50S). Se realiza entre el grupo -COOH de la formil-metionina y el -NH₂ correspondiente al segundo aa. Cada enlace peptídico subsiguiente se hace de la misma manera independientemente de los aminoácidos implicados. La energía empleada está contenida en el enlace éster de alta energía entre el ARNt del locus P y su aminoácido.

Tras esta reacción, en el lugar A queda el ARNt correspondiente al segundo aa unido al dipéptido formado, mientras que en la posición P continúa el ARNt correspondiente a la formil-metionina.

Translocación. Seguidamente, un factor de elongación EF-G (translocasa) se asocia al ribosoma junto con una molécula de GTP; esta etapa prepara la translocación que empieza con la salida del ARNt de la For-Met que abandona el ribosoma (pasa por el locus de salida E antes de salir del ribosoma); a continuación, el peptidil-ARNt pasa a la posición A, El ARNm se desplaza un codón, y se desprende el GDP+Pi y el EF-G. Un nuevo ciclo de reacciones puede empezar, y así el ARNm va traduciendo desde su extremidad 5' hasta la 3'.

TERMINACIÓN

La síntesis de la cadena llega a su término cuando el ribosoma alcanza un codón que indica el fin de la elongación. Esta señal viene dada por tres codones, UAA, UAG y UGA, cualquiera de los cuales será el que esté en el extremo 3'. Para que el ribosoma lo reconozca, hace falta que se asocie un factor de terminación RF (releasing), ya sea el RF₁ para los tripletes UAA, UAG, o el RF₂ para los tripletes UAA, UGA. Se hace por última vez el proceso y la peptidil transferasa, mediante la hidrólisis del GTP (probablemente mediante la RF₃) se rompe la unión con el último ARNt, que se desprende al hialoplasma, y se libera el ARNm, se disocian los factores de terminación o liberación y las dos subunidades del ribosoma se separan hasta que se vuelvan a utilizar.

La velocidad de la síntesis es muy elevada. Así, un polipéptido de 150 aa tardaría tan solo 15-20 minutos en ser sintetizado por un colibacilo. Cada ribosoma traduce unos 80 nucleótidos, lo que significa 5 o 6 ribosomas para un ARNm el polipéptido citado. Por síntesis orgánica, el proceso duraría horas

Debido al mecanismo del proceso, la síntesis de un péptido comienza por su extremo amino (N-terminal) y continúa hasta el extremo carboxilo (C-terminal). Durante la etapa repetitiva de la síntesis de proteínas, se hidrolizan dos GTP por cada enlace peptídico: uno en la liberación del EF-Tu del sitio A y otro en la liberación del EF-G durante la translocación del ribosoma tras la formación del enlace peptídico. Además, cada ARNt cargado ha unido un aminoácido a expensas de la hidrólisis de un ATP a AMP + PP. El coste energético, por tanto, es de cuatro enlaces fosfato ricos en energía por cada enlace peptídico o cerca de mil doscientos enlaces ricos en energía por proteína. Este es un coste muy elevado (cerca del 90 % de la producción de energía en *E. coli* va a parar a la síntesis de proteínas).

En procariotas la traducción empieza antes de que haya terminado la transcripción ya que aquella comienza por el extremo 5' del ARNm que es el que se ha sintetizado el primero.

24.5.3. Biosíntesis de proteínas en organismos eucariontes

En eucariontes, el proceso es similar: el primer aminoácido es la metionina, la cual se asocia a la subunidad 40S antes que el ARNm. Los eucariontes necesitan once factores de iniciación (nueve de iniciación y dos proteínas de unión a la caperuza 5' del ARNm) en lugar de los tres de los procariotes.

La elongación comporta, igualmente, tres fases, necesita dos factores, de los cuales uno permite la colocación del aminoácil-ARNt en el lugar A (factor EF-1, equivalente al EF-G en procariotes, pero que se une al GTP).

En la terminación, el reconocimiento del codón de finalización requiere, igualmente, un factor proteico (RF) y la cadena polipeptídica liberada del ribosoma no contiene metionina en su extremidad N-terminal, pues ésta es separada por una enzima específica poco después de empezar la elongación.

TRADUCCIÓN	PROCARIOTAS	EUCARIOTAS
Codon de iniciación	AUG, GUG, UUG	AUG
Aminoácidos de iniciación	N-formilmetionina	Metionina
ARNt de iniciación	ARNt _f ^{met}	ARNt _i ^{met}
ARNt de metionina interior	ARNt _m ^{met}	ARNt _m ^{met}
Factores de iniciación	IF ₁ , IF ₂ , IF ₃	9 eIF + CBP ₁ y CBP ₂
Factores de elongación	EF-Tu, EF-Ts	eEF ₁
Factores de translocación	EF-G	eEF ₂
Fact. de terminación o liberación	RF ₁ , RF ₂	ERF

El papel de los distintos ARN y proteínas del ribosoma en la biosíntesis de proteínas no son del todo conocidos, pero ya se empieza a saber algo especialmente en bacterias.

Hay que entender al ribosoma como una estructura esencialmente dinámica que a lo largo de la biosíntesis cambia de forma y de composición.

(OPCIONAL) Los antibióticos se han revelado como interesantes a propósito de la biosíntesis de proteínas. Por ejemplo, un antibiótico que bloquee el ribosoma 70S bacteriano sin afectar al 80S humano podría resultar excelente.

La puomicina se une al locus A del ribosoma bacteriano, impidiendo una posterior elongación de la proteína (el descubrimiento de los locus A y P del ribosoma se deben a ella).

La estreptomycin inhibe la iniciación de la biosíntesis de proteínas en bacterias al unirse a la subunidad 30S. Si la iniciación ya ha comenzado, provoca lecturas erróneas de los codones al tener alterada la subunidad 30S.

La tetraciclina bloquea la síntesis porque evita la unión del aminoacil-ARNt al locus A.

El cloranfenicol bloquea la reacción de transferencia del enlace peptídico en la subunidad 50S del ribosoma procariótico, no afecta al eucariótico.

Los antibióticos, no obstante, deben usarse con precaución ya que, aunque no afecten al ribosoma eucariótico, si pueden hacerlo a los ribosomas mitocondriales dado su parecido con los de los procariotas.

Las proteínas biológicamente activas presentan una sola conformación, pero desconocemos las reglas que regulan el plegamiento y permiten que aparezca esa conformación a partir de la cadena lineal de aa sintetizada.

Se llama **segunda mitad del código genético** a la transformación de una información lineal (secuencia de aa) en otra tridimensional (estructura de la proteína). Su desciframiento constituye uno de los grandes objetivos de la Biofísica, e incidirá en la Medicina, la economía, etc.

En las células existen catalizadores que aceleran el plegamiento. Hay otros factores que lo impiden (proteínas celadoras) que intervienen, sobre todo, en las proteínas que deben atravesar la membrana celular, ya que sólo pueden hacerlo si la cadena polipeptídica está desplegada.

24.6. Los enzimas

El grupo más numeroso e interesante de proteínas está constituido por las enzimas. Éstas son biocatalizadores que intervienen en la práctica totalidad de las reacciones bioquímicas, aumentando su velocidad. Las enzimas son sintetizadas por los seres vivos; la mayoría de ellas son proteínas globulares, aunque existe ARN con propiedades catalizadoras (ribozimas).

Dado que el mantenimiento de la vida está condicionado por la existencia de estas reacciones en forma rápida y coordinada, podemos concluir que la actividad de las enzimas es una de las claves de la biología.

24.6.1. Composición

Aunque todas las enzimas son proteicas, podemos distinguir dos casos:

- enzimas constituidas únicamente por cadenas polipeptídicas;
- enzimas de tipo heteroproteína, formadas por una parte proteica (**apoenzima**), y por otra parte no proteica (**cofactor**). En este caso, la enzima completa recibe el nombre de holoenzima.

El cofactor puede ser un elemento metálico (Mg, Fe, Zn, etc.) o una molécula orgánica (muy frecuentemente un derivado vitamínico). A esta última molécula se le llama **coenzima**, si su unión con la apoenzima es no covalente, o **grupo prostético**, en el caso en que su unión sea covalente, y, por tanto, difícil de separar de ella.

En general, la coenzima o el cofactor actúan sobre el sustrato, y provocan la reacción (NAD, NADP, FAD, HS-CoA). Los aminoácidos que forman la apoenzima se encargan de: mantener la adecuada estructura tridimensional del enzima; fijar la molécula que va a reaccionar, o realizar la reacción en el caso que no exista cofactor.

24.6.2. Mecanismos de la acción enzimática

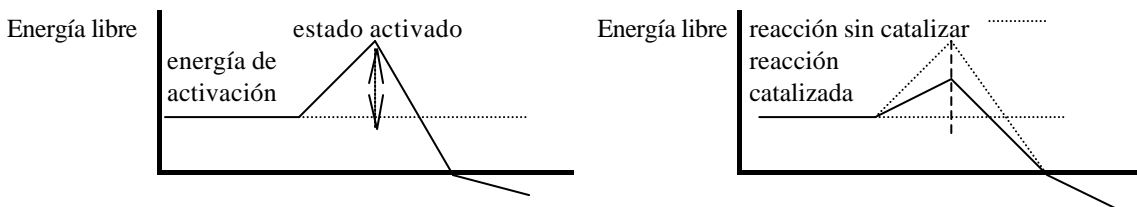
A) ENERGÍA DE ACTIVACIÓN Y COMPLEJO ACTIVADO

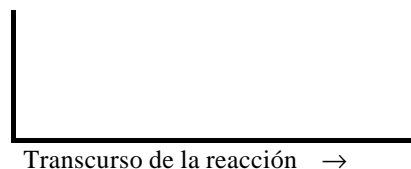
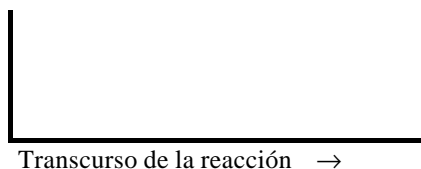
Las reacciones químicas precisan una cierta cantidad de energía (romper y/o crear enlaces para formar productos) para activar los reactivos (**energía de activación**) y es siempre necesaria para comenzar una reacción.

Como consecuencia, las moléculas alcanzan un estado más energético (**estado activado o de transición**), que corresponde a una situación inestable, en la cual los enlaces de las moléculas están a "medio romper" (algunos se han roto, mientras otros permanecen).

A partir de este punto, la reacción transcurre fácilmente y se obtienen los productos, a la vez que se pasa a un estado de menor energía.

A mayor energía de activación, más difícil será alcanzar el estado activado y la velocidad de la reacción será menor. La superación de esta barrera energética puede realizarse aportando la energía de activación o rebajando ésta. Lo primero se puede conseguir calentando, y así, las moléculas aumentan su energía interna, y se consigue llegar al estado de transición.





Sin embargo, esto no es factible en los seres vivos, por lo que es necesario rebajar la energía de activación, lo que consiguen las enzimas al unirse a los reactivos (**sustratos**). Así las enzimas permiten que las reacciones bioquímicas transcurran con rapidez, y a la t^a adecuada para los seres vivos.

B) ETAPAS DE LA ACCIÓN ENZIMÁTICA

En cualquier reacción enzimática, el primer paso consiste en la unión del sustrato con la enzima adecuada; así se forma un complejo enzima-sustrato. Posteriormente se produce el ataque del cofactor y se obtienen el producto final, al mismo tiempo que se libera la enzima intacta.



La unión con el sustrato siempre se realiza por la parte proteica (**centro activo**). Éste tiene una forma espacial determinada, que posibilita su acoplamiento con el sustrato a través de los R de aminoácidos de fijación, que tienen una gran capacidad de unión al sustrato. Así mismo se encuentran los aa catalíticos, cuando los haya. La interacción física entre las moléculas de enzima y de sustrato produce un cambio en la geometría del centro activo, con lo que se origina un ajuste inducido entre ambos mediante la distorsión de las superficies moleculares; este cambio de forma provoca la reacción entre el enzima y el sustrato.

Un defecto en la unión del sustrato con el centro activo se traduce en un descenso o una pérdida de la actividad enzimática. Una vez constituido el complejo E-S se inducen cambios energéticos en el sustrato que le permiten alcanzar el estado de transición, y la actuación de los cofactores será rápida.

C) MECANISMOS PARA AUMENTAR LA ACCIÓN ENZIMÁTICA

Para que un enzima actúe sobre un sustrato, es necesario que ambas moléculas se encuentren. La mayoría de los sustratos, y sobre todo de las enzimas, se encuentra en las células en concentraciones sumamente bajas. Para salvar esta dificultad existen algunos métodos muy efectivos:

- **Existencia de complejos multienzimáticos.** Varias enzimas, que catalizan pasos sucesivos en una secuencia de reacciones metabólicas, se agrupan formando un complejo multienzimático único. Esto permite que el producto de una reacción, que es a la vez sustrato de la siguiente, se pueda unir inmediatamente a la enzima adecuada;
- **Compartimentación celular.** La existencia de diferentes compartimientos celulares permite una agrupación de sustratos y enzimas en un mismo orgánulo, lo que aumenta mucho la eficacia enzimática.

24.6.3. Propiedades de los enzimas

Por el hecho de ser catalizadores químicos no se consumen en las reacciones que catalizan, y la misma molécula enzimática actúa en repetidas ocasiones; por esto se necesitan en cantidades mínimas.

Por otra parte, al ser moléculas proteicas se alteran por el calor, por los cambios de pH y por las disoluciones salinas concentradas, como ya hemos dicho. Su naturaleza proteica también hace que sean moléculas altamente específicas, perdiéndose la actividad enzimática cuando se desnaturalizan.

La especificidad puede ser casi absoluta o abarcar a compuestos químicamente semejantes. Podemos distinguir una especificidad a nivel de acción, pues una enzima realiza sólo un tipo de reacción sobre un sustrato, y una **especificidad a nivel de sustrato**, pues para uno determinado existe sólo una enzima adecuada. Hay casos de especificidad estereoquímica, cuando sólo actúa sobre uno de los isómeros espaciales, aunque en otras ocasiones encontramos enzimas que pueden actuar sobre todo un grupo químico.

Se ha comparado la especificidad entre sustrato y enzima con la relación existente entre una cerradura y su llave: sólo una llave se introduce y acopla exactamente a los huecos existentes en una cerradura determinada. Esta imagen, aunque gráfica, no es muy exacta ya que la unión de la enzima con el sustrato produce cambios en la proteína enzimática para acoplarse más exactamente a ese sustrato (llamado "ajuste inducido" o "de la mano y el guante"). KOSHLAND

24.6.4. Cinética enzimática

Si hacemos un estudio experimental en el que relacionamos la velocidad de una reacción enzimática (moles de sustrato que desaparecen por unidad de tiempo) con la concentración de sustrato presente, manteniendo constante la concentración del enzima, observaremos que la velocidad va aumentando a medida que aumenta la concentración de sustrato. Sin embargo, llega un momento en el que se alcanza una velocidad máxima y, aunque se aumente la concentración de sustrato, no se produce un aumento de la velocidad ya que todos los centros activos de las enzimas están ocupados por moléculas de sustrato (fig. 1).

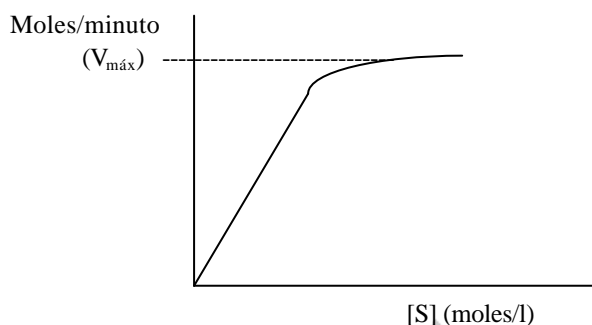
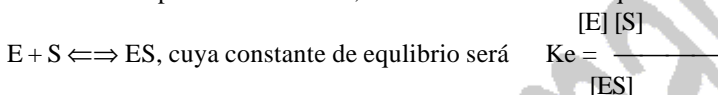


Figura 1

Las diferentes enzimas tienen diferentes velocidades máximas. Una enzima será más activa cuanto mayor velocidad máxima tenga y tarde menos tiempo en alcanzarla. Dado que la formación del complejo enzima-sustrato es un proceso reversible, existiría un estado de equilibrio



Cuando la velocidad de reacción sea la mitad de la máxima (semimáxima), existirá el mismo nº de moléculas enzimáticas libres que las que están formando complejo ES, es decir $[E] = [ES]$, por lo que, en este caso, $K_e = [S]$. La constante de equilibrio es igual a la concentración de sustrato para la cual la velocidad de la reacción es semimáxima. Esta constante se denomina de **Michaelis-Menten (K_M)** y es característica de cada enzima. A menor valor de la K_M , mayor será la actividad enzimática, pues precisaremos de menos cantidad de sustrato para alcanzar la velocidad semimáxima. (Ver fig. 2)

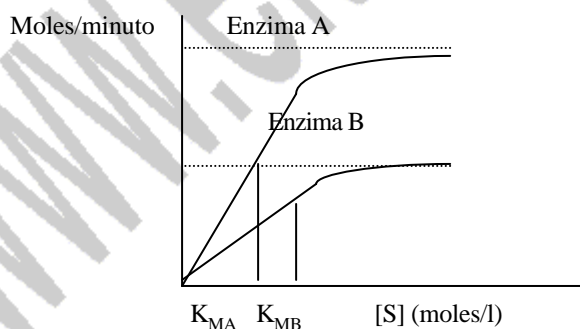


Figura 2

Con el valor de K_M y de la velocidad máxima se puede hallar la velocidad para cualquier concentración de sustrato, aplicando la ecuación de Michaelis-Menten

$$V = V_{\text{máx}} \frac{[S]}{K_M + [S]} \text{ o su inversa } \frac{1}{V} = \frac{1}{V_{\text{máx}}} + \frac{K_M}{V_{\text{máx}} [S]}$$

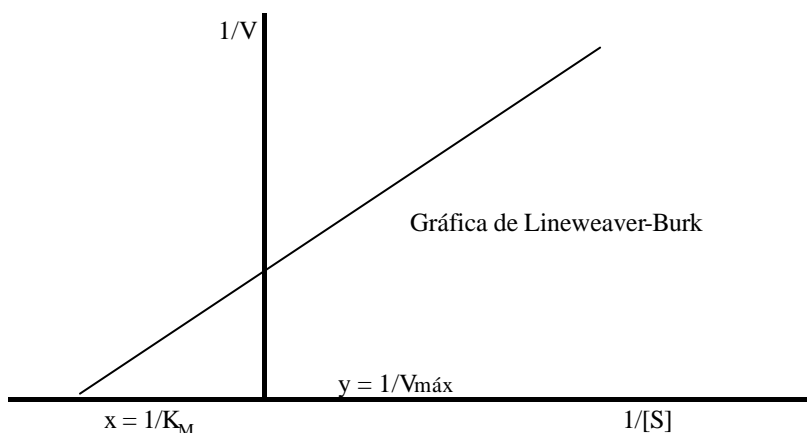


Figura 3

24.6.5. Regulación enzimática

Las necesidades celulares son variables en el tiempo y las reacciones metabólicas deben cambiar para conseguir lo que la célula precisa en cada momento. En consecuencia, las enzimas no actúan siempre con el mismo grado de actividad.

Cuando se necesita un producto, la enzima implicada se hace más activa. Así, el principio de economía celular gobierna todo el metabolismo: sólo se gastan las moléculas necesarias para conseguir los productos que la célula requiere.

A) **VARIACIÓN DE LA Tª.** Cada enzima tiene una tª óptima de actuación (37 °C en humanos). Valores mayores o menores hacen que disminuya su actividad. Hay una tª máxima que, rebasada, provoca la desnaturalización de la enzima y anula su acción.

B) **VARIACIÓN DEL pH.** De la misma forma que en el caso anterior, hay un valor de pH óptimo, y pequeñas variaciones implican descensos acusados de actividad. Por debajo de un pH mínimo y por encima de un pH máximo se anula completamente la actividad, al producirse la desnaturalización. El pH óptimo varía en las diferentes enzimas, pH aunque suele estar próximo a 7, excepto algunas enzimas digestivas.

C) ACTIVACIÓN

Para que una enzima pueda actuar, en muchas ocasiones precisa de ciertas moléculas llamadas activadores. La enzima sola es inactiva, pero tras la unión con el activador se produce un cambio conformacional que la transforma en activa.

La unión del activador con la enzima no sucede en el centro activo. El activador puede ser un catión metálico o una molécula orgánica. Un caso interesante es aquel en el que el activador es el propio sustrato. En ocasiones, el activador es otra enzima, la cual, a su vez, es activada por una nueva enzima, estableciéndose así reacciones en cascada, en las cuales cada enzima cataliza la transformación de una enzima inactiva en la forma activa. Este sistema permite aumentar muchísimo el nº de moléculas de producto final con pocas moléculas de enzima iniciales, pues en cada paso se obtiene un mayor nº de moléculas activas. Se emplea, por ejemplo, en la coagulación de la sangre.

D) INHIBICIÓN

Este mecanismo, junto con el anterior, constituye la forma de control enzimático habitual en los seres vivos. La presencia de ciertas moléculas, llamadas inhibidores, disminuye o puede, incluso, anular la actividad enzimática. Según la duración del efecto inhibitor, podemos diferenciar:

- **Inhibición irreversible:** La unión se realiza por enlaces covalentes, y, por tanto, la disociación es muy lenta o incluso nula. La formación del complejo E-I establece inutiliza el enzima (envenenamiento enzimático). Ej. El Cianuro que se une irreversiblemente al enzima citocromo oxidasa. Algo similar

sucede con algunos insecticidas, que inhiben irreversiblemente a la enzima acetilcolinesterasa y provocan alteraciones graves en el sistema nervioso.

- **Inhibición reversible:** El inhibidor se une a la enzima por enlaces no covalentes, y, por tanto, se puede disociar. Esta forma es la que se emplea en el metabolismo, pues permite que una enzima se inhiba temporalmente y que recupere su actividad después, al separarse el inhibidor.

Según el mecanismo de acción del inhibidor, podemos distinguir:

- **Inhibición competitiva**, en la que el Inhibidor se une al centro activo, por su parecido al sustrato, y puede acoplarse, como éste, a la enzima. Compiten E e I por unirse al centro activo. El complejo E-I impide que se pueda unir S y, por tanto, disminuye la actividad enzimática. Basta elevar la concentración de sustrato para disminuir el efecto inhibidor. Ej. envenenamiento con CO.
- **Inhibición no competitiva**, en la que la unión del inhibidor se realiza en un lugar distinto del centro activo, pero lo modifica e impide el acoplamiento de S. En este caso el aumento de la [S] no disminuye el efecto inhibidor.
- Existen fármacos y sustancias tóxicas que actúan como inhibidores enzimáticos. El ATP es un inhibidor de la transcriptasa inversa del virus del sida.
- Existen fármacos y sustancias tóxicas que actúan como inhibidores enzimáticos. El ATP es un inhibidor de la transcriptasa inversa del virus del sida.

Regulación de la actividad enzimática.

Los enzimas suelen actuar en sistemas multienzimáticos secuenciales. Generalmente muestran una etapa limitante de la velocidad catalizada por una **enzima reguladora** o alostérica. La actividad de la enzima reguladora se puede controlar mediante cambios en su conformación, producidos, por lo general, por la unión de un **modulador**² o, en el caso de enzimas formadas por varios polipéptidos, por la unión del sustrato a la primera subunidad, mediante el efecto de **cooperatividad**. Esta propiedad se manifiesta de dos formas:

Positiva. Si la unión del sustrato con el centro activo de una subunidad de la enzima produce un cambio en la conformación, que hace que la siguiente subunidad se una más rápidamente al sustrato. La actividad de la enzima alcanza altos niveles para concentraciones de sustratos relativamente bajas.

Negativa. Si la unión del sustrato con el centro activo de una subunidad de la enzima produce un cambio en la conformación, que hace menos probable que la siguiente subunidad se una al sustrato. La actividad de la enzima permanece baja para concentraciones de sustratos relativamente bajas.

Los **sistemas multienzimáticos** son asociaciones de enzimas, cada una de las cuales actúa sobre un sustrato, que es el producto de la enzima anterior. Son la base que controla las vías metabólicas. Se pueden encontrar en **suspensión** (no hay asociación física entre los enzimas, como los de la glucólisis), o **asociadas** físicamente y funcionando juntas, de forma que los intermediarios metabólicos permanecen dentro del grupo de enzimas y sólo se libera el producto final (complejo ácido graso sintetasa). Otras están asociadas a estructuras celulares, especialmente en membranas y ribosomas.

24.6.6. Nomenclatura y clasificación

Aunque algunas enzimas digestivas aún llevan una denominación antigua (pepsina, tripsina,...), la forma más común de nombrarlas consiste en un término que consta de un prefijo alusivo al sustrato catalizado, a continuación puede indicarse el tipo de reacción catalizada, y por último se escribe el sufijo **-asa**. Así la glucosa fosfato isomerasa cataliza la isomerización de la G-6-P a F-6-P durante la glucólisis.

Existe otra nomenclatura basada en un código de cuatro cifras y recomendada por la IEC (Comisión Internacional de Enzimas). La primera cifra indica la clase, la segunda la subclase, la tercera la subdivisión

² La unión del modulador se produce en una zona del enzima distinta del centro activo y origina un cambio de conformación. El control de una enzima reguladora mediante modulación alostérica puede ser positivo (activación) o negativo (inhibición). Los moduladores inciden en la conformación del enzima, distorsionándola (inhibidores) o restaurándola (activadores).

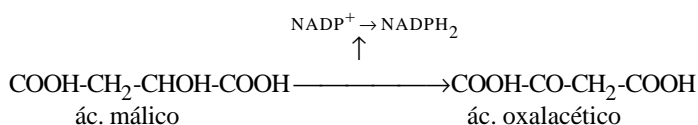
y la cuarta es específica de la enzima concreta. Así, por ejemplo, la enzima EC 2.8.3.3. corresponde a la malonato transferasa. Esta forma de nomenclatura se utiliza sólo en comunicaciones científicas, cuando es imprescindible la identificación exacta de la enzima.

Existen seis clases de enzimas, cada una de las cuales se va subdividiendo sucesivamente.

CLASE I. OXIDO-REDUCTASAS

Catalizan reacciones de oxidación-reducción por pérdida o ganancia de e^- . Generalmente intervienen en reacciones metabólicas cuya finalidad es obtener energía. Ejemplos:

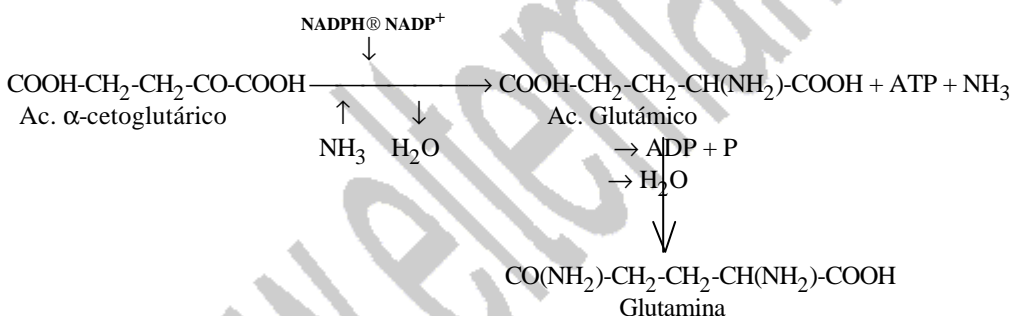
Deshidrogenasas, que separan hidrógeno de un sustrato y que tienen como coenzima FAD, NAD^+ o $NADP^+$. Ej. malato deshidrogenasa (Ciclo Krebs)



Oxidasas, que ceden e^- , tomados de un sustrato, al oxígeno molecular. Ej. $O_2 + 2e^- \longrightarrow 2O^=$.

CLASE II. TRANSFERASAS

Catalizan reacciones de transferencia de grupos funcionales de un sustrato a otro. Según sea el grupo funcional transferido, tenemos transaminasas, transmetilasas, transcarboxilasas, etc. Ej. Transaminasas

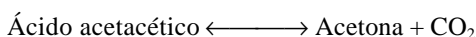


CLASE III. HIDROLASAS

Intervienen en reacciones de hidrólisis. Hay varias subclases según el tipo de enlace hidrolizado: Carbohidrasas (enlaces glucosídicos); Esterasas como las lipasas, fosfatasa, etc. (enlaces éster), o peptidasas (enlaces peptídicos). Ej. Cualquier enzima digestiva.

CLASE IV. LIASAS

Catalizan reacciones de rotura o soldadura de sustratos, sin que intervenga el agua. Actúan sobre los siguientes enlaces: $C=O$, $C=C$ y $C=N$. Ejemplo la acetato-decarboxilasa

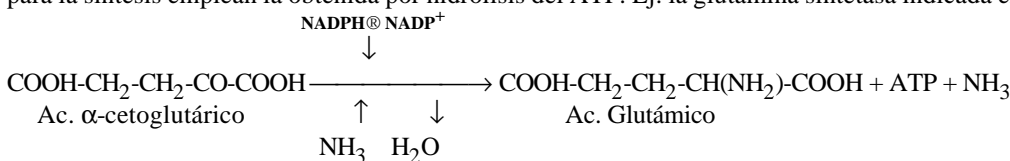


CLASE V. ISOMERASAS

Intervienen en reacciones de isomerización. Es decir cambiar de carbono, dentro de la misma molécula, un grupo unido a un determinado carbono. Ejemplo la glucosa fosfato isomerasa cataliza la isomerización de la G-6-P a F-6-P durante la glucólisis.

CLASE VI. LIGASAS O SINTETASAS

Catalizan la unión de un grupo a una molécula o la unión de moléculas entre sí. Como fuente de energía para la síntesis emplean la obtenida por hidrólisis del ATP. Ej. la glutamina sintetasa indicada en la clase II.



24.7. Las vitaminas

Son compuestos biológicamente muy activos, aunque se precisan en cantidades muy bajas. Son imprescindibles para el crecimiento, el desarrollo, el correcto mantenimiento de los tejidos y para multitud de procesos metabólicos y fisiológicos.

Las vitaminas hidrosolubles, por otra parte, o sus derivados, son componentes de coenzimas muy importantes; de ahí su necesidad para la actividad enzimática.

Característica común a todas las vitaminas son las bajas cantidades en las que son necesarias (mg o µg/día). Estas necesidades vitamínicas varían con factores como la especie, la edad, el crecimiento, la actividad diaria, la gestación, la convalecencia de enfermedades, etc. Una alimentación diaria variada, que incluya alimentos frescos, proporciona las vitaminas necesarias.

Las vitaminas son compuestos lábiles, existiendo muchos factores que provocan su destrucción (calor, O₂, pH, luz, etc.). La cocción o fritura de los alimentos destruyen bastante las vitaminas; de aquí la necesidad de consumir alimentos frescos.

Algunas vitaminas se adquieren en forma de **provitamina** y, tras un pequeño cambio químico en el organismo, se transforman en vitamina activa (la A y la D).

En periodos de mayor desgaste metabólico (ciertas enfermedades, crecimiento, senectud,...), o con una dieta defectuosos, pueden aparecer estados carenciales. La carencia grave (**avitaminosis**) no es frecuente, pero acarrea enfermedades importantes que pueden llegar a ser mortales. El déficit moderado (**hipovitaminosis**) causa diferentes alteraciones.

El exceso vitamínico (**hipervitaminosis**) da lugar, también, a diversas enfermedades y alteraciones. Esta situación puede llegar a producirse por acumulación progresiva de vitaminas liposolubles, que no se eliminan fácilmente por la orina. El uso abusivo de preparados vitamínicos concentrados contribuye a este proceso acumulativo.

24.7.1. Clasificación

Hay tres formas de nombrar las vitaminas: con una letra mayúscula, que nos es indicativa ni de su función ni de su composición química; con un nombre alusivo a la enfermedad que provoca la carencia, o con su nombre químico. Esta última es la más correcta y exacta y la que se va imponiendo.

Existe una gran heterogeneidad en la composición química, y por esto, la clasificación se basa en el criterio de solubilidad. Como criterio renunciamos a señalar la fórmula de las distintas vitaminas.

A) HIDROSOLUBLES

Solubles en agua, se eliminan con facilidad por vía renal, por lo que no ocasionan hipervitaminosis, pero tampoco se acumulan, habitualmente, como reserva.

Vitamina B₁, Tiamina, antineurítica

Da lugar al pirofosfato de tiamina (PPT), que es la coenzima de enzimas descarboxilasas, las cuales intervienen en más de 140 reacciones. Su déficit ocasiona trastornos en el sistema nervioso, fundamentalmente la degeneración de las fibras miélicas, lo que puede acarrear la inflamación (polineuritis), y por último la parálisis (beriberi), también aparecen trastornos digestivos y cardíacos.

Las necesidades diarias son de 0.4 mg/1000 kcal alimento, encontrándose en el germen de trigo (en general todos los cereales integrales), levadura de cerveza e hígado.

Vitamina B₂, Riboflavina

Forma parte de dos coenzimas: FMN y FAD, por lo que sus necesidades diarias dependen de la dieta. Se sintetizan parcialmente por las bacterias intestinales. Su déficit produce lesiones en labios y lengua, así como en la piel. Las necesidades diarias son de 0'6 mg/1000 kcal alimento, encontrándose en la leche y carne.

Vitamina PP, ácido nicotínico, antipelagrosa

Forma parte de los coenzimas NAD⁺ y NADP⁺ por lo que, dada su actividad, sus necesidades también dependen de la dieta. Su déficit provoca fatiga y lesiones en la piel. En casos agudos produce la pelagra (dermatitis, diarrea, demencia y deceso o muerte).

Las necesidades diarias son de 6'6 mg/1000 kcal alimento, encontrándose en la carne y pescados. En que se encuentra en el maíz no se puede asimilar salvo que éste sea tratado, previamente, con cal.

Vitamina B₅, ácido pantoténico

Forma parte de la coenzima A. No es frecuente su carencia, cuando se produce provoca fatiga, dolor de cabeza y trastornos de la coordinación motora. Las necesidades diarias son de 10 mg, encontrándose en el hígado, corazón y levadura.

Vitamina B₆, piridoxina

Se transforma en fosfato de piridoxal, que es coenzima de enzimas transaminasas, por lo que es muy importante en el metabolismo proteico. No es frecuente su déficit, en caso de que ocurra se observan alteraciones del sistema nervioso.

Las necesidades diarias son de 2 mg, encontrándose en la leche y derivados, huevos, carnes, vísceras, legumbres. Al consumir grandes cantidades de alcohol, se incrementa la utilización de esta vitamina, pudiendo aparecer cuadros de hipovitaminosis.

Vitamina H, B₈, biotina

Participa como coenzima en reacciones de carboxilación. La sintetizan las bacterias intestinales; por lo que no es fácil que haya carencia. Su déficit provoca anemia y trastornos musculares. Las necesidades diarias son de 0'3 mg, encontrándose en el hígado y cereales.

Vitamina B₉, ácido fólico

En su forma reducida (ácido tetrahidrofólico) interviene en la biosíntesis de las bases nitrogenadas púricas y de Timina. Por esto es imprescindible en células que se reproducen rápidamente (sanguíneas), su déficit provoca anemia. Se sintetiza, en parte, por las bacterias intestinales. Las necesidades diarias son de 0'4 mg, encontrándose en hojas, hígado y huevos.

Vitamina B₁₂, cianocobalamina, antiperniciosa

Está constituida por un anillo porfirínico con un átomo de Co. Forma una coenzima que interviene en la formación de los glóbulos rojos y en el metabolismo de los ácidos nucleicos y de las proteínas. Su déficit ocasiona la anemia perniciosa, muchas veces provocada por no poder absorberla intestinalmente por falta de un transportador adecuado (factor intrínseco). Las necesidades diarias son de 1 µg, encontrándose en el hígado y en la levadura de la cerveza.

Vitamina C, ácido ascórbico, antiescorbútica

Es un potente antioxidante; por ello se está estudiando su posible papel en la prevención de degeneraciones celulares. Interviene en reacciones de hidroxilación y en la absorción intestinal de Fe. También es necesaria para la síntesis de colágeno. Es muy lábil, se elimina con la cocción. Aunque la mayoría de los animales la pueden sintetizar a partir de la glucosa, el hombre no.

El déficit moderado favorece los procesos infecciosos. La carencia grave provoca hemorragias y caída de dientes, así como mala cicatrización de las heridas (escorbuto). No está demostrada que la ingestión de grandes cantidades de vitamina C prevenga tumores, sea antiasmática, etc. Aunque rara, la hipervitaminosis puede provocar un exceso de oxalato (posibles cálculos renales). Las necesidades diarias son de 60 mg, encontrándose en cítricos, verduras, fresas, kiwi.

B) LIPOSOLUBLES

Son insolubles en agua y solubles en compuestos lipídicos. Se acumulan en el hígado. Abundan en los alimentos con alto contenido lipídico.

Vitamina A, retinol, antixeroftálmica

Se forma en los animales a partir de los carotenos, tomados con el alimento. Participa en el proceso de percepción visual, al formar parte de la rodopsina de la retina. También sirve para conservar los epitelios en buen estado. Su déficit provoca engrosamiento y opacidad de la córnea, ceguera nocturna y alteraciones epiteliales.

Las necesidades diarias son de 750 µg, encontrándose en la leche y derivados, yema de huevo, zanahoria (provitamina).

Vitamina D, calciferol, antirraquítica

Se forma por la acción de los rayos UV sobre el ergosterol (D2) o sobre el 7-deshidrocolesterol (D3). Ambas tienen la misma función, favorecer la absorción intestinal del Ca y del P, así como la correcta mineralización ósea. Su déficit en los niños provoca el raquitismo (mala calcificación ósea), en los adultos produce descalcificación (osteomalacia). Algunos consideran que se trata de una hormona (D), ya que su acción no la produce ella misma, sino por otra sustancia sintetizada en el riñón a partir de los precursores indicados obtenidos, del colecalciferol, en el hígado. Las necesidades diarias son de 2'5 µg, encontrándose en la leche y derivados, aceites de hígado de peces, síntesis en la piel.

Vitamina E, tocoferoles

Existen varios tocoferoles con la misma acción. El más activo es el α -tocoferol. Es una vitamina antioxidante (junto con la vitamina C) que evita la oxidación de los ácidos grasos insaturados, presentes en los lípidos de las membranas celulares, oponiéndose a su deterioro.

Se discute su posible papel en la prevención de las lesiones degenerativas celulares, tales como envejecimiento y la aparición de tumores. Las necesidades diarias son de 10 mg, encontrándose en el huevo, germen de trigo, aceites vegetales y mantequilla.

Vitamina K, naftoquinonas, antihemorrágica

Es necesaria para la síntesis de protrombina. No suele haber deficiencia de esta vitamina, pues la sintetizan a nivel intestinal las bacterias del colon. La destrucción de éstas por los antibióticos puede dar lugar a hemorragias.

Las necesidades diarias no están establecidas, quizás son de 1 mg, encontrándose muy repartida en vegetales (espinacas, col, trigo,...) e hígado.