

TEMA 4. AS PROTEÍNAS

4.1. Aminoácidos

4.1.1. Composición química

4.1.2. Propiedades

4.1.3. Clasificación

4.1.4. Aminoácidos esenciais

4.2. Enlace peptídico e péptidos

4.3. Proteínas

4.3.1. Estrutura

4.3.2. Clasificación

4.3.3. Propiedades

4.3.4. Funcións

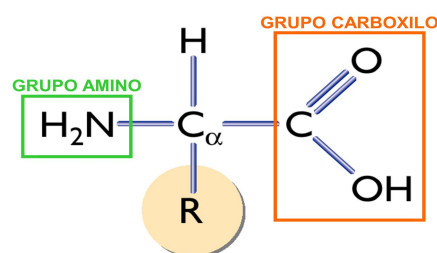
4.4. Métodos de identificación de proteínas

4.1. AMINOÁCIDOS

4.1.1. COMPOSICIÓN QUÍMICA

Son compostos orgánicos que ao unirse entre si forman as proteínas. Químicamente están formados por C, H, O e N. Caracterízanse por posuír na molécula un grupo carboxilo (-COOH), un grupo amino (-NH₂) e unha cadea lateral ou grupo R. Os aa de interese biolóxico son α-aminoácidos, todos os grupos están unidos a un mesmo carbono, denominado C_α.

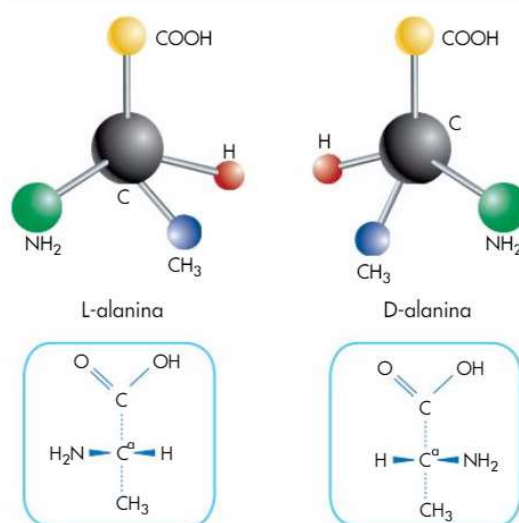
A cadea lateral é diferente en cada un dos 20 aminoácidos que forman as proteínas.



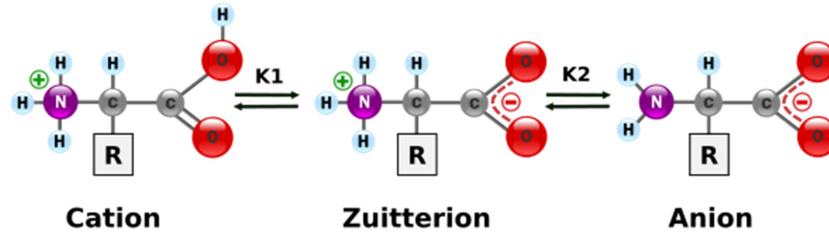
4.1.2. PROPIEDADES

Os aminoácidos son compostos sólidos, cristalinos, de elevado punto de fusión, solubles en auga, con actividade óptica e comportamento químico anfótero.

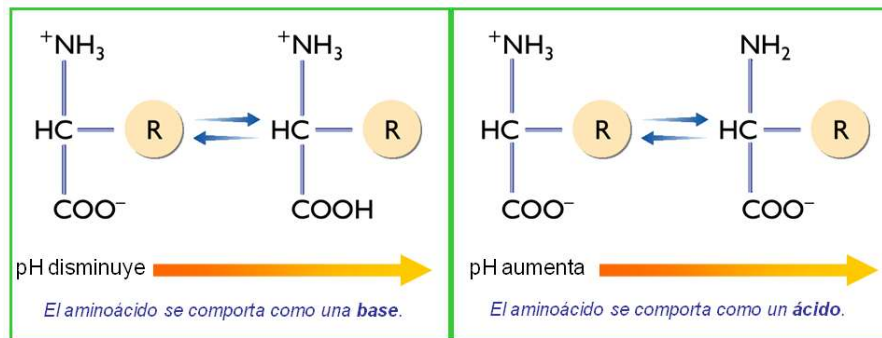
- Actividade óptica. Tódolos aminoácidos, salvo a glicina, teñen polo menos un carbono asimétrico, o C_α. Debido a esta característica os aminoácidos presentan **isomería**: un aminoácido terá unha configuración **D** se o grupo -NH₂ está orientado cara á dereita, e **L** se o está cara á esquerda. Ó ser imaxes especulares, ámbalas dúas formas son estereoisómeros. Todos os aminoácidos proteicos son da serie **L**. Ademais, os aminoácidos teñen actividade óptica, é dicir, son capaces de desviar o plano de luz polarizada que atravesa unha disolución de aminoácidos. Se o aminoácido desvía o plano de luz polarizada cara á dereita denomínase **dextróiro (+)**, e si desvía o cara á esquerda chámase **levóiro (-)**.



- **Comportamento químico anfótero.** En disolución acuosa, os aminoácidos amosan un comportamento anfótero, é dicir, poden actuar como ácidos ou como bases dependendo do pH. O grupo carboxilo -COOH actúa como un ácido (libera protóns, quedando como -COO^-) e o grupo amino -NH_2 como unha base (capta protóns, quedando como NH_3^+). Os aminoácidos poden ionizarse dobremente, aparecendo unha forma bipolar iónica chamada **zwitterion**.



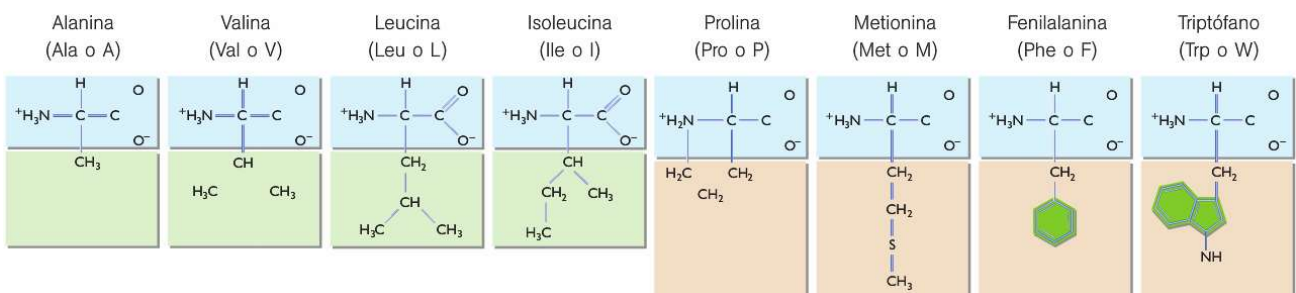
A forma bipolar, no medio ácido, capta protóns e compórtase como unha base, e no medio básico libera protóns e compórtase como un ácido. O pH no cal o aminoácido tende a adoptar unha forma bipolar neutra, con tantas cargas positivas como negativas chámase punto isoeléctrico. En definitiva, o carácter anfótero dos aminoácidos permite a regulación do pH, **efecto amortecedor ou tampón**



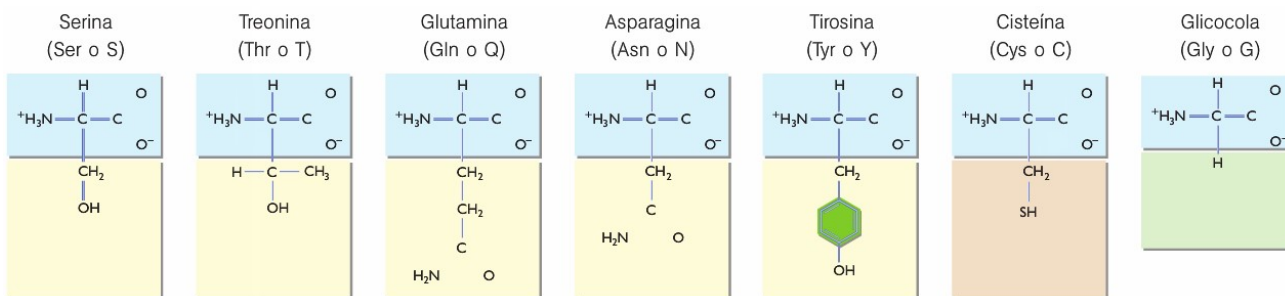
4.1.3. CLASIFICACIÓN

Atendendo á polaridade da cadea lateral (-R), os aminoácidos pódense clasificar en 4 grupos:

- **Apolares** (hidrofóbicos): Os radicais son de natureza hidrocarbonada non polar, polo que son hidrofóbicos. Son Alanina (Ala), Valina (Val), Leucina (Leu), Isoleucina (Ile), Prolina (Pro), Metionina (Met), Fenilalanina (Phe), Triptófano (Trp).

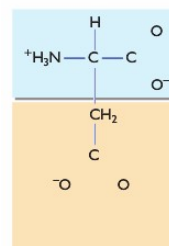


- **Polares sen carga** (hidrofílicos): os grupos R destes aminoácidos favorecen a súa solubilidade en auga. Poden formar pontes de hidróxeno con outras moléculas polares. Son Serina (Ser), Treonina (Thr), Glutamina (Gln), Asparaxina (Asn), Tirosina (Tyr), Cisteína (Cys) e Glicina (Gly).

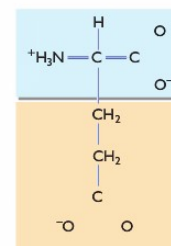


- Polares cargados negativamente (ácidos): presentan un grupo carboxilo no radical R que, en condicións celulares (pH=7) se ioniza negativamente. Son Ácido glutámico (Glu) e Ácido aspártico (Asp).
- Polares cargados positivamente (básicos): presentan un grupo amino no radical R que, en condicións celulares (pH=7) se ioniza positivamente. Son Lisina (Lys), Arginina (Arg) e Histidina (His).

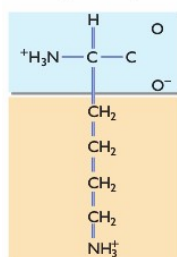
Ácido aspártico
(Asp o D)



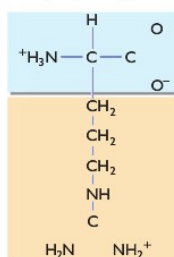
Ácido glutámico
(Glu o E)



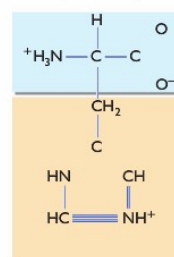
Lisina
(Lys o K)



Arginina
(Arg o R)



Histidina
(His o H)



4.1.4. AMINOÁCIDOS ESENCIAIS

Son aminoácidos esenciais para os heterótrofos pero que non poden sintetizar, polo que deben ser adquiridos co alimento. Son 8 nos seres humanos adultos: fenilalanina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, treonina, triptófano e valina. A estes únese a histidina en nenos lactantes.

4.2. ENLACE PEPTÍDICO E PÉPTIDOS

Os aminoácidos únense entre si mediante enlaces peptídicos, que son enlaces covalentes, de tipo amida, que se forman entre un grupo carboxilo dun aminoácido e o grupo amino doutro, liberándose unha molécula de auga.

O enlace peptídico é un enlace covalente máis curto que a maior parte dos demais enlaces C-N. Posúe certo carácter de dobre enlace, é dicir, presenta unha certa rixidez que inmoviliza nun plano aos átomos que o forman. Pola contra, o carbono a situado a cada lado do enlace peptídico si ten capacidade de rotación.

Os aminoácidos, ao unirse mediante enlaces peptídicos, orixinan **péptidos** cuxa estrutura é a dunha armazón, constituído pola alternancia de N, C carboxilo e Ca, que se repite, adoptando unha disposición en zig-zag no espazo. Os substituyentes deses átomos dispóñense alternativamente cara a un ou outro lado do plano onde eles están situados.

Formación del enlace peptídico

Diagrama que ilustra la formación del enlace peptídico a través de la condensación de dos aminoácidos.

Reacción:

$$\text{H}_2\text{N}-\text{C}(\text{R}_1)-\text{COOH} + \text{H}-\text{N}(\text{R}_2)-\text{COOH} \xrightarrow{-\text{H}_2\text{O}} \text{H}_2\text{N}-\text{C}(\text{R}_1)-\text{C}(=\text{O})-\text{N}(\text{R}_2)-\text{COOH}$$

El producto es un dipeptido con un enlace peptídico formado entre los dos aminoácidos.

Geometría del enlace peptídico:

El diagrama muestra la estructura tridimensional del enlace peptídico, destacando la planitud del grupo amida (C-N-O) y los ángulos de torsión característicos:

- Ángulo de torsión ϕ (C α -C-N): 120,5°
- Ángulo de torsión ψ (C-N-C α): 123,5°
- Ángulo de torsión ω (C-C-N): 116°
- Ángulo de torsión χ (N-C α -C): 122°
- Ángulo de torsión χ' (C α -C-N): 111°
- Ángulo de torsión χ'' (C-N-C α): 119,5°
- Ángulo de torsión χ''' (N-C α -C): 118,5°
- Ángulo de torsión χ'''' (C-C-N): 1,0°
- Ángulo de torsión χ''''' (N-C α -C): 1,46°

Las distancias de enlace mostradas son:

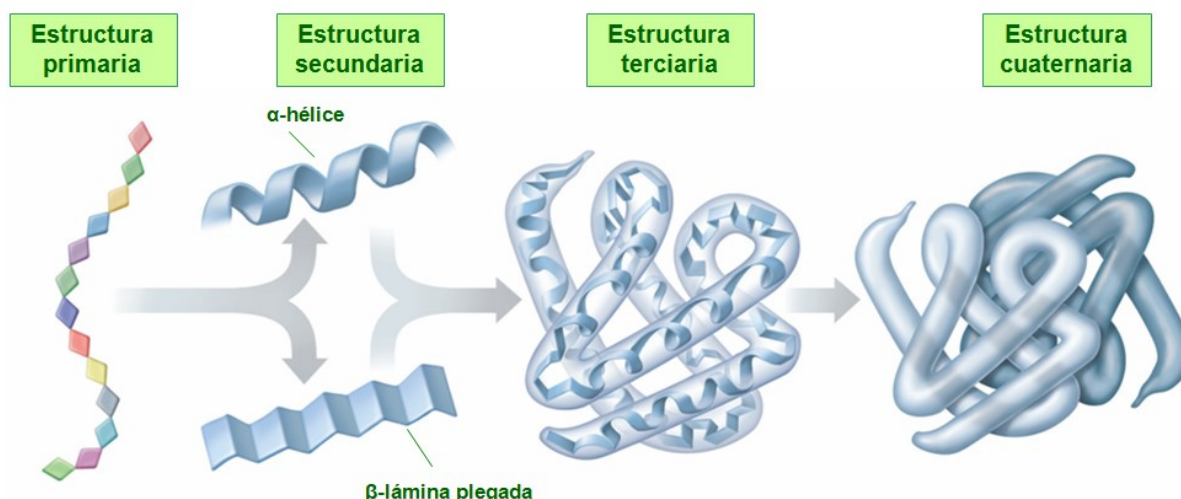
- C α -C: 1,51 Å
- C-N: 1,33 Å
- N-C α : 1,46 Å
- C-C: 1,51 Å
- C-O: 1,24 Å
- N-H: 1,0 Å

El enlace peptídico es un enlace covalente fuerte que estabiliza la estructura secundaria de las proteínas.

Alguns péptidos con importantes funcións no organismo son a insulina e o glicagón, dúas hormonas implicados na regulación da concentración de glicosa en sangue; a oxitocina, que é a hormona que regula a contracción da musculatura lisa no útero...

4.3.1. ESTRUTURA

Diferéncianse varios niveis de pregamento, de crecente complexidade, cada un dos cales se constrúe a partir do anterior. Son as chamadas estrutura primaria, secundaria, terciaria e cuaternaria.

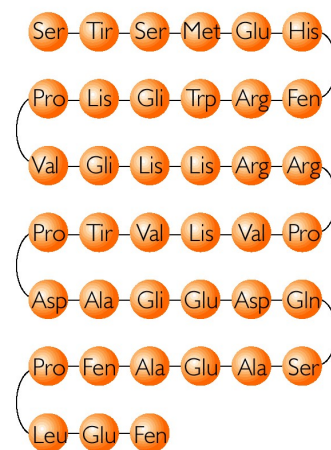


ESTRUTURA PRIMARIA

Está constituída pola secuencia lineal de aminoácidos unidos por enlaces peptídicos. É dicir, indica os aminoácidos que a forman cadea polipeptídica e a orde en que se atopan unidos.

É a estrutura máis sinxela e, con todo, a máis importante, xa que determina o resto das estruturas proteicas con niveis superiores de organización.

Cando se escribe a secuencia de aminoácidos dunha proteína, úsase a convención de poñer á esquerda o residuo N-terminal.



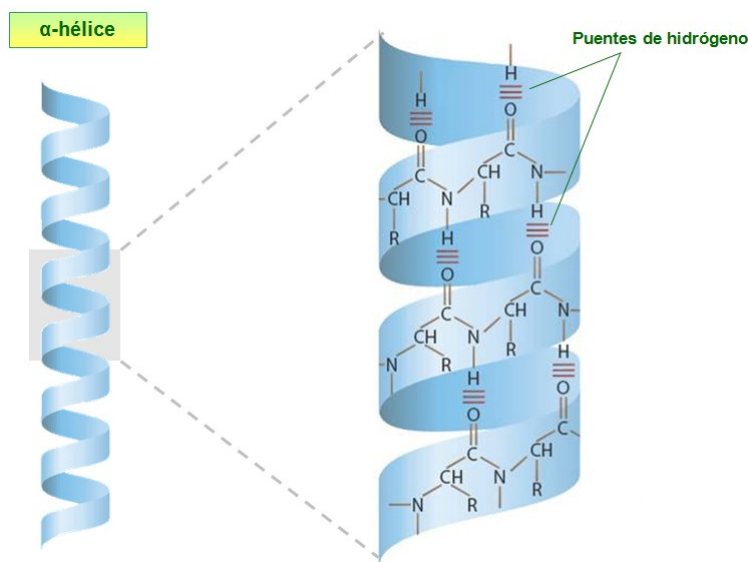
ESTRUTURA SECUNDARIA

A estrutura secundaria é a disposición da secuencia de aminoácidos ou estrutura primaria no espazo.

É consecuencia directa da rixidez do enlace peptídico (queda nun plano), a capacidade de xiro que posúen os enlaces non peptídicos dos aminoácidos e a formación de **pontes de hidróxeno**.

Existen tres modelos:

- **α-hélice**: fórmase ao enrolarse helicoidalmente de forma destróxima a estrutura primaria. Mantense pola formación de pontes de H cada catro aa **entre os grupos que forman o enlace peptídico**. Na α-hélice, os osíxenos de todos os grupos -CO- quedan orientados no mesmo sentido, e os hidróxenos de todos os grupos -NH- quedan orientados xusto en sentido contrario permitindo a formación deses pontes de H. As cadeas laterais, grupos R, quedan orientados cara fora da hélice

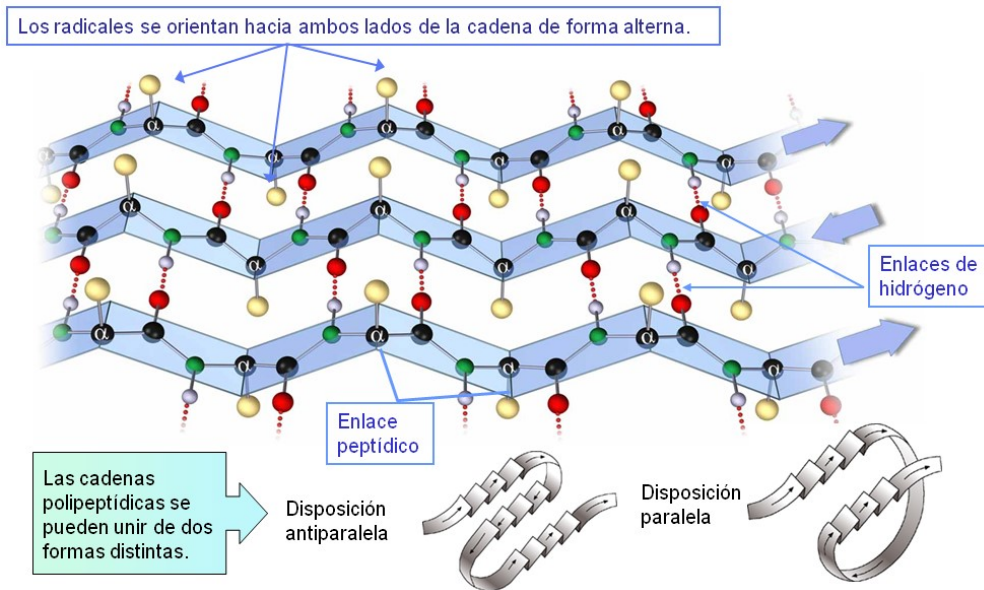


Determinados aminoácidos poden desestabilizar a α-hélice. Este é o caso da prolina que, ao non ter no seu grupo amino ningún hidróxeno dispoñible, tras formar enlaces peptídicos, non pode orixinar pontes de hidróxeno con outros aminoácidos. Aminoácidos de cadea lateral voluminosa, ou con cargas eléctricas do mesmo signo que se sitúen próximos, tamén impiden a estabilización da estrutura. Desta forma, nunha proteína hai anacos con configuración en α-hélice e outros con disposición irregular.

- **Conformación β ou lámina pregada:** nesta disposición os aminoácidos non forman unha hélice senón unha cadea estendida en forma de zigzag. Iso é debido a que non existen pontes de hidróxeno entre os aminoácidos próximos da cadea polipeptídica, se non entre aa máis afastados formando unha estrutura laminar, a cadea se reprega sobre si mesma, e pódense establecer enlaces de hidróxeno intracatenarios entre segmentos, antes distantes, que agora quedaron próximos.

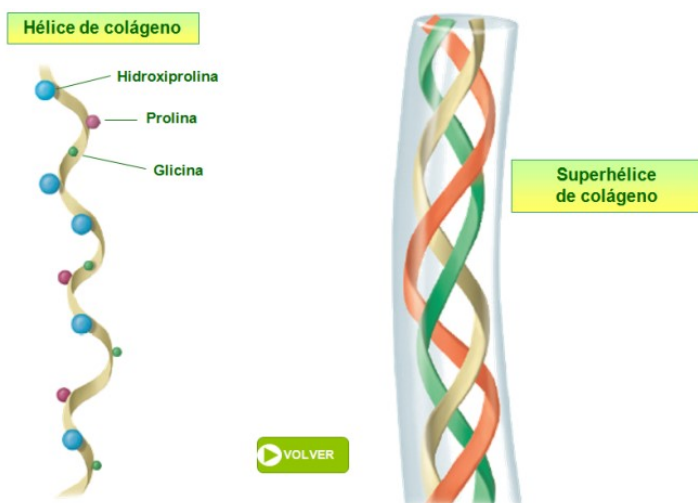
Esta estrutura tamén se pode formar entre dúas ou máis cadeas polipeptídicas diferentes, formándose pontes de hidróxeno intercatenarios.

Todos os **enlaces peptídicos** participan no establecemento de pontes de hidróxeno e os grupos R quedan situados para arriba e para abaixo da folia.



- **Hélice de coláxeno:** o coláxeno posúe unha disposición en hélice especial, algo máis alargada que a α -hélice, debido á abundancia de aa como a prolina. Estes aminoácidos posúen unha

estrutura que dificulta moito a formación de enlaces de hidróxeno, polo que non se forma unha α -hélice senón unha hélice máis distendida, que só presenta tres aminoácidos por volta. A estabilidade da hélice de coláxeno débese á asociación de 3 hélices, que orixinan unha superhélice ou molécula completa de coláxeno. As 3 hélices únense mediante enlaces covalentes e enlaces débiles de tipo ponte de hidróxeno.



Tamén existen secuencias no polipéptido que non alcanzan unha estrutura secundaria ben

definida e dise que forman enroscamientos aleatorios. Por exemplo, os lazos que unen entre si follas plegadas.

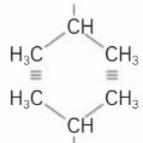
ESTRUTURA TERCIARIA

A estrutura terciaria dunha proteína informa sobre a disposición da estrutura secundaria no espazo, adquirindo unha conformación globular, similar a unha esfera.

Os aminoácidos apolares (hidrófobos) dispóñense no interior da estrutura (protexidos do contacto coa auga) e os aminoácidos polares atópanse na parte externa.

Recorda que é a estrutura primaria a que determina cal será a secundaria e, por tanto, a terciaria.

As conformacións globulares mantéñense estables pola existencia **de enlaces entre os radicais R** dos aminoácidos. Aparecen varios tipos de enlaces: as pontes disulfuro; as interaccións electrostáticas as pontes de hidróxeno, as forzas de Van der Waals, e as interaccións hidrofóbicas.

Enlace forte	Enlace débil			
Enlace disulfuro	Enlace de hidróxeno	Interaccións iónicas	Forzas de Van der Waals	Interaccións hidrofóbicas
				

As proteínas que non chegan a formar estruturas terciarias manteñen a súa estrutura secundaria alongada, dando lugar ás chamadas proteínas **filamentosas** ou fibrosas. Distintas cadeas destas proteínas poden asociarse formando superhélices como xa vimos no coláxeno.

ESTRUTURA CUATERNARIA

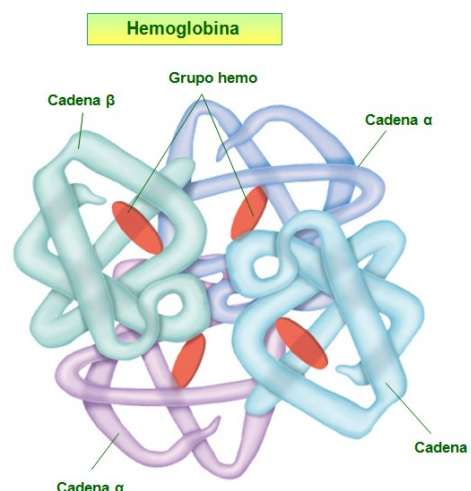
É a estrutura que adoptan as proteínas que constan de máis dunha cadea polipeptídica. Cada cadea, que ten estrutura terciaria é unha **subunidade** ou **protómero**. As subunidades poden ser iguais ou diferentes. Segundo o número de protómeros que se asocian, as proteínas que teñen estrutura cuaternaria denomínanse dímeros, trímeros, tetrameros (como a hemoglobina), pentámeros e polímeros, cando na súa composición interveñen gran número de protómeros.

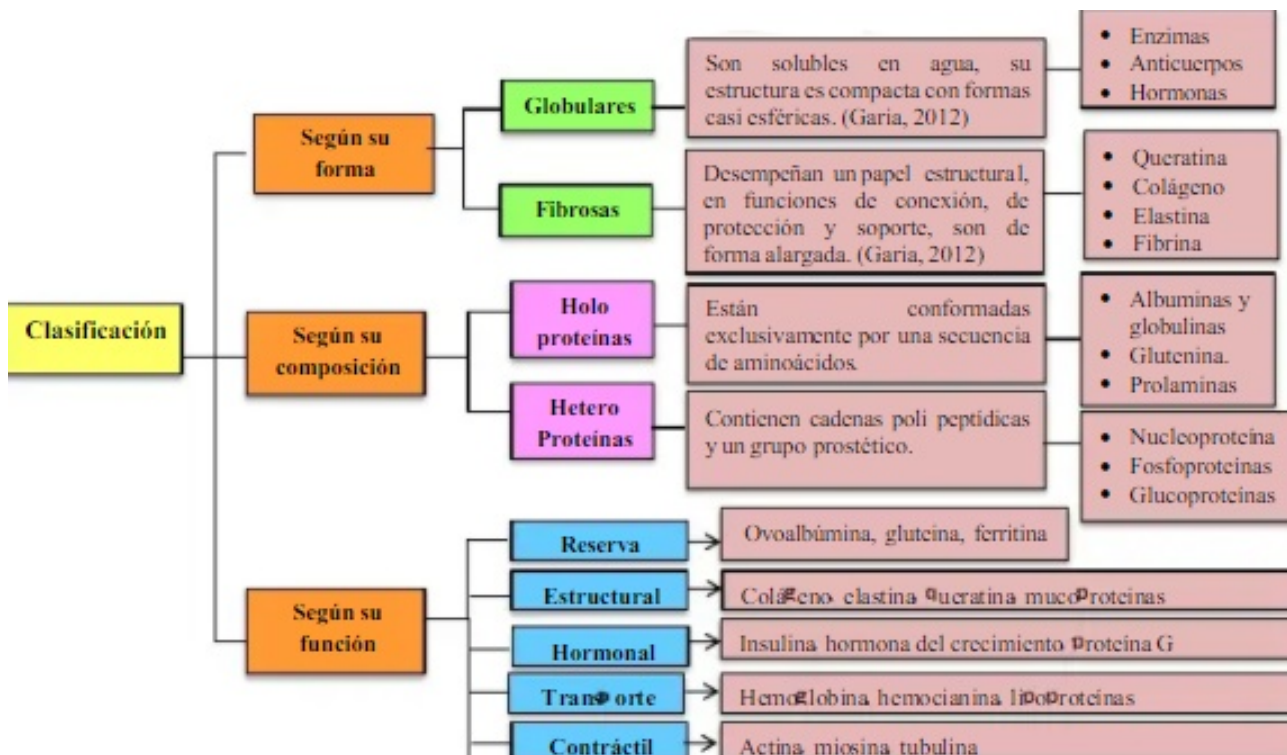
Esta estrutura mantense mediante enlaces similares aos que manteñen a estrutura terciaria; estes enlaces establécense entre as cadeas laterais dos aminoácidos pertencentes a subunidades diferentes.

4.3.2. CLASIFICACIÓN

Segundo a súa composición clasifícanse en:

- **Holoproteínas:** a proteína está constituída exclusivamente por aminoácidos.
- **Heteroproteínas:** a proteína está constituída por un grupo proteico formado por aminoácidos e outra porción non proteica chamada **grupo prostético**.





HOLOPROTEÍNAS

- **Proteínas fibrosas ou filamentosas:** son alargadas e insolubles en auga. Pertencen a este grupo:
 - **COLÁXENO:** é a máis abundante das proteínas dos vertebrados superiores. É compoñente do tecido conxuntivo, cartilaxinoso, óseo e epitelial, conferíndolles resistencia ao estiramento.
 - **QUERATINA:** presente nas células da epiderme do pel e en estruturas cutáneas como pelos, plumas, uñas e escamas.
 - **ELASTINAS:** localízanse no tecido conxuntivo de estruturas e órganos que son elásticos, como o pel, pulmóns, arterias...
 - **MIOSINA:** proteína responsable da contracción muscular.
- **Proteínas globulares:** son de forma globosa (máis ou menos esférica) , normalmente forman solución coloidais na auga. Moitas realizan funcións dinámicas.
 - **ALBUMINAS:** son proteínas con funcións de reserva ovoalbumina do ovo, a lactoalbumina do leite ou de transporte seroalbumina do sangue
 - **GLOBULINAS:** son proteínas con forma globular case perfecta e solubles en disolucións salinas. Pertencen a este grupo as inmunoglobulinas, que constitúen os anticorpos.
 - **HISTONAS:** atópanse asociadas ao ADN.
 - **ACTINA:** xunto coa miosina é responsable da contracción muscular.

HETEROPROTEÍNAS

Son moléculas formadas pola unión dun grupo proteico con outro non proteico, chamado **grupo prostético**. Segundo o grupo prostético as heteroproteínas clasifícanse en:

- **CROMOPROTEÍNAS:** presentan como grupo prostético unha **substancia coloreada**, polo que tamén se chaman pigmentos. Atendendo á natureza do pigmento, clasifícanse en:
 - **Cromoproteínas porfirínicas:** teñen como grupo prostético un anel tetrapirrólico ou porfirina. No centro deste anel aparece un catión metálico. Dentro deste grupo destacan as seguintes:

- Hemoglobina e mioglobina: a porfirina únese ao Fe^{+2} , formándose así o **grupo hemo**. A hemoglobina é un pigmento de cor vermella presente no sangue dos vertebrados, e é a encargada de transportar O_2 dende os alvéolos pulmonares ata as células. A mioglobina realiza a mesma función, pero nos músculos.
- Peroxidasas, catalases e citocromos: As dúas primeiras son encimas, mentres que os citocromos son proteínas transportadoras de electróns de células aeróbicas.
- Cromoproteínas non porfirínicas:
 - Rodopsina. Pigmento fotosintético da retina
- GLICOPROTEÍNAS: o seu grupo prostético é un **glícido** unido covalentemente á cadea polipeptídica. Exemplo: algunhas hormonas: FSH, LH...; Glicoproteínas das membranas celulares nmunoglobulinas...
- FOSFOPROTEÍNAS: o grupo prostético é o **ácido fosfórico**. Exemplo: a caseína do leite; a vitelina na xema dos ovos...
- LIPOPROTEÍNAS: o grupo prostético está formado por un **lípido**. Exemplo: lipoproteínas transportadoras de lípidos (LDL, HDL, quilomicróns...).
- NUCLEOPROTEÍNAS: o grupo prostético é un **ácido nucleico**. Exemplo: asociación de histonas ou protaminas cos ácidos nucleicos.

4.3.3. PROPIEDADES DAS PROTEÍNAS

As propiedades das proteínas dependen sobre todo dos radicais R libres e de que estes sobresaian da molécula e, por tanto, teñan posibilidade de reaccionar con outras moléculas.

- Solubilidade: débese a que os grupos -R polares ou hidrófilos áchanse localizados sobre a superficie externa da proteína e establecen pontes de hidróxeno coa auga; así, a proteína rodéase dunha capa de auga que impide a súa unión con outras proteínas e, por tanto, a súa precipitación. En xeral, as proteínas fibrosas son insolubles en auga, mentres que as globulares son hidrosolubles.
- Desnaturalización: Consiste na perda do estado nativo (conformación máis estable da proteína pregada) da molécula debido a rotura de enlaces que manteñen as estruturas secundaria, terciaria e cuaternaria.

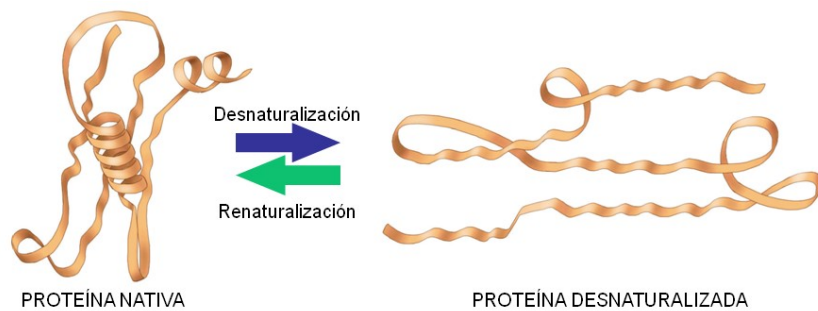
Os enlaces peptídicos permanecen, polo que a proteína **conserva a súa estrutura primaria**.

As proteínas desnaturalizadas perden a súa actividade biolóxica, é dicir, non son funcionáis, xa que a súa función de pende da súa forma. Ademais, a proteína desnaturalizada adoita precipitar. xa que quedan expostos os grupos hidrofóbicos, que na proteína nativa estarían encerrados no interior da molécula, a proteína deixa de estar rodeada de moléculas de auga e tenden a unirse formando agregados.

A desnaturalización pode ser provocada por cambios no pH, na temperatura ou ben polo tratamento con sustancias desnaturalizantes (urea).

Nalgunhas ocasións, a desnaturalización pode ser reversible: as proteínas poden **renaturalizarse**, repregarse e adoptar novamente a súa conformación nativa, recuperando con iso a actividade biolóxica perdida.

Exemplos de desnaturalizacións: o leite cortado debido á desnaturalización da caseína; a precipitación da clara de ovo ao desnaturalizarse a ovoalbumina por efecto da calor; a "permanente" do cabelo por efecto da calor sobre as queratinas do pelo...



- Especificidade: as proteínas son moléculas específicas, é dicir, cada especie biolóxica posúe algunhas proteínas que outros organismos non teñen. Mesmo proteínas que presentan a mesma función e unha estrutura tridimensional moi semellante adoitan ter unha secuencia peptídica diferente en distintos organismos. Este feito permite levar a cabo estudos filoxenéticos e establecer o parentesco evolutivo entre especies. A especificidade proteica tamén se da a escala individual.
- Capacidade amortecedora: as proteínas, ao estar constituídas por aminoácidos, tamén teñen un comportamento anfótero. Tenden a neutralizar as variacións de pH do medio, xa que poden comportarse como un ácido ou como unha base e, por tanto, liberar ou retirar protóns do medio.

4.3.4. FUNCIÓNS

As proteínas son moléculas capaces de adoptar unha gran diversidade estrutural, o que lles confire a capacidade de intervenir en múltiples funcións moi diversas.

- Funcións de reserva. Algunhas proteínas almacenan determinados compostos químicos, como aminoácidos. Este é o caso da **ovoalbumina** da clara de ovo ou a **caseína** do leite.
- Función de transporte. Existen proteínas que se unen a diversas sustancias e transpórtanas. Son proteínas transportadoras as **lipoproteínas** do plasma sanguíneo, que transportan lípidos, ou a **hemoglobina** do sangue dos vertebrados, que leva osíxeno.
- Función contráctil. A **actina** e a **miosina** levan a cabo a contracción muscular e, por tanto, posibilitan o movemento das células, incluíndo o movemento das bacterias e do esperma.
- Función protectora ou defensiva. As **inmunoglobulinas** ou **anticorpos**, que son capaces de defender aos organismos contra as infeccións. A **trombina** e o **fibrinóxeno** son proteínas sanguíneas dos vertebrados que interveñen na coagulación do sangue, impedindo a súa saída do sistema vascular.
- Función hormonal. Algunhas proteínas actúan como hormonas; son proteínas reguladoras que en pequenas concentracións son capaces de controlar importantes funcións celulares, como o metabolismo ou a reprodución. Desta forma, a **insulina** e o **glicagón** son proteínas secretadas polo páncreas, que regulan o metabolismo da glicosa.
- Función estrutural. As proteínas sobre todo as fibrosas, realizan importantes funcións estruturais, proporcionando soporte mecánico ás células animais e vexetais. A nivel histolóxico temos o **coláxeno** dos tecidos conxuntivos, a **queratina** da **pel**. A nivel celular atopamos as **glicoproteínas** da membrana plasmática, as **histonas** que se comportan como elementos estruturais dos cromosomas.

- Función encimática. Os catalizadores bioquímicos coñecidos como encimas son proteínas que catalizan a práctica totalidade das reaccións bioquímicas que teñen lugar nas células vivas, aumentando a velocidade das devanditas reaccións.
- Función homeostática. As proteínas son moléculas capaces de manter o equilibrio do medio interno e, grazas á súa capacidade amortecedora, tamén de colaborar no mantemento do pH.

4.4. MÉTODOS DE IDENTIFICACIÓN DAS PROTEÍNAS

Existen varios métodos para identificar as proteínas. Destacan os seguintes:

- Proba de Biuret. Detecta a presenza de todo composto con dous ou máis enlaces peptídicos e, por tanto, serve para calquera proteína e péptido curto, con excepción dos dipéptidos (1 só enlace peptídico). A proba dá un resultado positivo cando se obtén unha cor violeta ou rosada. Esta proba non se pode empregar para detectar proteínas nos ouriños, posto que a urea que contén dá resultado positivo.
- Reacción xantoproteica. É aplicable aos aminoácidos que conteñen un grupo bencénico na súa cadea lateral (caso da tirosina e a fenilalanina). Obtense un precipitado branco que se volve amarelo ao quentar e laranxa ao alcalinizar con amoníaco.
- Proba de Millon. Tamén detecta fenois. Obtense un precipitado de cor branca que se volve vermello ao quentar.